

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS
DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

RAFAELA GOMES COSTELLO

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ORIUNDOS DOS RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS
DE MAÇÃ E UVA DENTRO DO CONCEITO DE BIORREFINARIA

PONTA GROSSA

2024

RAFAELA GOMES COSTELLO

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ORIUNDOS DOS RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS
DE MAÇÃ E UVA DENTRO DO CONCEITO DE BIORREFINARIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pertencente ao Setor de Engenharias, Ciências Agrárias e de Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa para obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Aline Alberti

PONTA GROSSA

2024

C841 Costello, Rafaela Gomes
Extração de compostos oriundos dos resíduos agroindustriais de maçã e uva dentro do conceito de biorrefinaria / Rafaela Gomes Costello. Ponta Grossa, 2024 .
108 f.
Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Orientadora: Profa. Dra. Aline Aberti.
1. Bagaço. 2. Compostos fenólicos. 3. Bioeconomia. 4. Nanocelulose. I. Aberti, Aline. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. III.T.
CDD: 664

TERMO DE APROVAÇÃO

RAFAELA GOMES COSTELLO

“Extração de compostos oriundos dos resíduos agroindustriais de maçã e uva dentro do conceito de biorrefinaria”

Tese aprovada como requisito para obtenção do grau de Doutor(a) no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador:

Documento assinado digitalmente
 **ALINE ALBERTI**
Data: 26/06/2024 18:09:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Aline Alberti - UEPG-PR - Presidente

Documento assinado digitalmente
 **ACACIO ANTONIO FERREIRA ZIELINSKI**
Data: 15/07/2024 13:39:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Acácio Antonio Ferreira Zielinski - UFSC-SC - Membro Titular

Documento assinado digitalmente
 **MARIA HELENE GIOVANETTI CANTERI**
Data: 27/06/2024 09:09:04-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Maria Helene Giovanetti Canteri - UTFPR-PR - Membro Titular

Documento assinado digitalmente
 **RENATA DINNIES SANTOS SALEM**
Data: 15/07/2024 17:29:46-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Renata Dinnies Santos Salem - UEPG-PR - Membro Titular

Documento assinado digitalmente
 **ALESSANDRO NOGUEIRA**
Data: 16/07/2024 11:02:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Alessandro Nogueira - UEPG-PR - Membro Titular

Ponta Grossa, 26 de junho de 2024.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e pela fé que me guiou a superar todas as adversidades enfrentadas durante esse período.

Ao meu esposo Stephen Costello pela paciência durante o processo, e ao nosso filho Julian Costello.

Aos meus pais, Lamara Souza e Fábio Gomes, minha irmã Gabrielle Gomes e demais familiares pelo suporte durante toda a minha vida acadêmica. Em especial ao meu avô Neri Gonçalves que faz o manejo das videiras em sua propriedade há mais de 20 anos e cedeu as uvas para esse estudo.

Aos professores que me guiaram até aqui, em especial a Prof^a Dr^a Aline Alberti, minha orientadora, ao Prof Dr. Egon Schnitzler e Prof^a Dra. Radla Bisinella, por seu suporte acadêmico, e aos demais professores do PPG-CTA que tanto nos ensinaram durante essa trajetória. Em especial aos professores que participaram das bancas de qualificação e defesa, que contribuíram para a qualidade e refinamento desse trabalho, Prof^a Dr^a Maria Helene Canteri, Prof Dr. Acácio Zielinski, Prof Dr. Alessandro Nogueira, Prof^a Dr^a Renata Dinnies Santos Salem, Prof Dr. Ivo Mottin Demiate, Prof Dr. Luiz Gustavo Lacerda.

Ao Prof Dr. Amit Kumar Jaiswal que me orientou durante o período de doutorado sanduíche na Irlanda, bem como aos colegas do Instituto de Sustentabilidade Ambiental e Saúde (ESHI- TU Dublin).

Aos meus colegas de mestrado, doutorado e iniciação científica do Grupo de Trabalhos sobre Maçã (GTM) e PPG-CTA, em especial a querida Denise Mendes.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio financeiro concedido durante o doutorado e período sanduíche no exterior, à Universidade Estadual de Ponta Grossa, ao Laboratório Multiusuário (LabMu-UEPG) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela infraestrutura, e a todos os funcionários que sempre nos auxiliaram.

À Vinícola Legado que nos forneceu o bagaço de *Cabernet Sauvignon* de sua produção.

Dedico à Lilica e Amora (*in memorian*), que foram meus *pets* de suporte emocional durante os tempos difíceis.

RESUMO

Indústrias de processamento de maçã e uva enfrentam dificuldades no que se refere ao descarte adequado de um coproduto industrial, o bagaço. Esse resíduo lignocelulósico, obtido após a prensagem da maçã ou fermentação da uva, corresponde a cerca de 25-45 % do peso da fruta processada. Esse bagaço mantém em sua composição ácidos orgânicos, açúcares solúveis, compostos fenólicos e pectina, que possuem alto valor agregado quando recuperados. Estudos têm explorado tecnologias para recuperação desses compostos, porém, o material lignocelulósico permanece após o processo, sendo o problema parcialmente resolvido. Assim, essa tese visa investigar e avaliar o potencial do bagaço de maçã e de uva para recuperação de compostos de alto valor agregado, buscando tecnologias inovadoras e sustentáveis, que se adaptem ao conceito de bioeconomia e economia circular e com total aproveitamento do resíduo lignocelulósico. No **Capítulo 1**, uma abordagem teórica sobre os conceitos que envolvem a tese foi elaborada a partir da literatura disponível em bases de artigos científicos e publicações recentes. Este capítulo fornece o embasamento teórico para os demais capítulos. No **Capítulo 2**, o bagaço de maçã foi obtido após prensagem de maçãs cv. Gala em suco integral. Considerando o bagaço como matéria-prima de segunda geração para uma biorrefinaria, foram divididas três fases. A Fase 1 consistiu na extração individual de açúcares solúveis e ácidos orgânicos (*Extrato 1*), compostos fenólicos (*Extrato 2*) e pectina (*Extrato 3*). No Extrato 1, glucose (5 %), frutose (21 %), sacarose (2 %) e ácido málico (5 mg/mL) foram identificados e quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As análises de compostos fenólicos totais (333 mg EAC/L) e atividade antioxidante FRAP (951 μ mol/L) foram realizadas para o Extrato 2 através de métodos espectrofotométricos. A pectina precipitada no Extrato 2 apresentou alto grau de metoxilação, determinado por titulação e espectroscopia do infravermelho médio (IR). A Fase 2 abrangeu a remoção de lignina da fração lignocelulósica remanescente, com o uso de solvente eutético profundo (DES-Cloreto de colina: Ácido láctico, 1:2) com assistência de equipamento de ultrassom. Utilizando planejamento fatorial Box-Behnken (temperatura, razão soluto: solvente e concentração do DES), 62% da lignina pode ser extraída. A Fase 3 finalizou o aproveitamento do bagaço de maçã, através da produção de celulose pelo método oxidativo (persulfato de amônio 1M) e caracterizada por microscopia de eletrônica de varredura (MEV). O **Capítulo 3** abrange o processo de fermentação de duas variedades de uvas nacionais *Vitis labrusca* (BRS Carmem, BRS Violeta) e a exploração do bagaço obtido na vinificação industrial de uma variedade de uva *Vitis vinifera* (*Cabernet Sauvignon*). O suco de uva Violeta obteve 61 % de rendimento, enquanto a cv. Carmem obteve 52 %, por arraste a vapor, e para os fermentados, 67 e 62%, respectivamente. A cv. Violeta apresentou uma diferença significativa para a variedade Carmem em termos de compostos fenólicos (4965 mg EAG/L), antocianinas (780 cianidina-3-glicosídeo (c3g) mg/L) e atividade antioxidante (1709-4729 μ mol TE/L) (valores referentes ao suco). Para uma segunda etapa, o mesmo conceito de biorrefinaria aplicado no capítulo anterior foi utilizado como base para esse capítulo, obtendo-se o Extrato 1 (290 mg EAG/L) e Extrato 2 (1892 mg EAG/L), Extrato 3 com precipitação de pectina de baixa metoxilação e produção de celulose em tamanho micro. Os produtos recuperados e produzidos a partir do bagaço da fermentação de uva apresentam potencial para futuros estudos da sua aplicação na indústria de bebidas de baixa caloria, como saborizantes de água, além do mercado de embalagens inteligentes e hidrogéis. Os resultados obtidos nessa tese de doutorado propõem soluções sustentáveis para recuperação de compostos de alto valor que podem ser aplicadas como matéria-prima de segunda geração para materiais inovadores, através da transferência de tecnologia entre academia e indústria.

Palavras-chave: *Malus domestica*; *Vitis* sp.; bagaço industrial; compostos fenólicos; bioeconomia; celulose.

ABSTRACT

Apple and grape processing industries face difficulties when it comes to the proper disposal of an industrial co-product, pomace. This lignocellulosic residue, obtained after apple pressing or grape fermentation, corresponds to around 25-45% of the weight of the processed fruit. This bagasse contains organic acids, soluble sugars, phenolic compounds and pectin in its composition, which have high added value when recovered. Studies have explored technologies for recovering these compounds, however, the lignocellulosic material remains after the process, and the problem has been partially resolved. Therefore, this thesis aims to investigate and evaluate the potential of apple and grape pomace for recovering high-value compounds, seeking innovative and sustainable technologies that adapt to the concept of bioeconomy and circular economy and with full use of lignocellulosic waste. In Chapter 1, a theoretical approach to the concepts surrounding the thesis was developed based on the available literature based on scientific articles and recent publications. This chapter provides the theoretical basis for the other chapters. In Chapter 2, apple pomace was obtained after pressing apples cv. Gala in full juice. Considering bagasse as a second-generation raw material for a biorefinery, three phases were divided. Phase 1 consisted of the individual extraction of soluble sugars and organic acids (Extract 1), phenolic compounds (Extract 2) and pectin (Extract 3). In Extract 1, glucose (5%), fructose (21%), sucrose (2%) and malic acid (5 mg/mL) were identified and quantified by high-performance liquid chromatography (HPLC). Analysis of total phenolic compounds (333 mg EAC/L) and FRAP antioxidant activity (951 $\mu\text{mol/L}$) were carried out for Extract 2 using spectrophotometric methods. The pectin precipitated in Extract 2 showed a high degree of methoxylation, determined by titration and mid-infrared (IR) spectroscopy. Phase 2 covered the removal of lignin from the remaining lignocellulosic fraction, using a deep eutectic solvent (DES-Choline chloride: Lactic acid, 1:2) with the assistance of ultrasound equipment. Using Box-Behnken factorial design (temperature, solute:solvent ratio and DES concentration), 62% of the lignin can be extracted. Phase 3 completed the use of apple pomace, through the production of cellulose using the oxidative method (1M ammonium persulfate) and characterized by scanning electron microscopy (SEM). Chapter 3 covers the fermentation process of two national grape varieties *Vitis labrusca* (BRS Carmem, BRS Violeta) and the exploitation of pomace obtained in the industrial vinification of a *Vitis vinifera* grape variety (Cabernet Sauvignon). Violeta grape juice obtained a 61% yield, while cv. Carmem obtained 52%, by steam dragging, and for fermented products, 67 and 62%, respectively. The cv. Violeta showed a significant difference to the Carmem variety in terms of phenolic compounds (4965 mg EAG/L), anthocyanins (780 cyanidin-3-glucoside (c3g) mg/L) and antioxidant activity (1709-4729 $\mu\text{mol TE/L}$) (values referring to the juice). For Part 2, the same biorefinery concept applied in the previous chapter was used as a basis for this chapter, obtaining Extract 1 (290 mg EAG/L) and Extract 2 (1892 mg EAG/L), Extract 3 with precipitation of low methoxylation pectin and cellulose production in micro size. The products recovered and produced from grape fermentation pomace have potential for future studies of their application in the low-calorie beverage industry, as water flavorings, in addition to the smart packaging and hydrogels market. The results obtained in this doctoral thesis propose sustainable solutions for the recovery of high-value compounds that can be applied as second-generation raw materials for innovative materials, through technology transfer between academia and industry.

Keywords: *Malus domestica*; *Vitis sp.*; industrial bagasse; phenolic compounds; bioeconomy; cellulose.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma geral de processamento de suco de maçã e sidra	16
Figura 2. Processamento de suco de uva e vinho	18
Figura 3. Imagens do processamento de suco de maçã para obtenção do bagaço.	36
Figura 4. Perspectiva de uma biorrefinaria de bagaço de maçã.	36
Figura 5. Aproveitamento do bagaço de maçã dentro do conceito de biorrefinaria.....	45
Figura 6. Extrações obtidas a partir do bagaço de maçã na Fase 1	46
Figura 7. Espectrograma de infravermelho da amostra de pectina de bagaço de maçã.	48
Figura 8. Análise no infravermelho de celulose de bagaço de maçã.....	52
Figura 9. Imagens de MEV do bagaço de maçã moído sem tratamentos.....	53
Figura 10. Imagens de MEV da celulose obtida após 9 horas de tratamento com persulfato de amônio a 60 °C.	54
Figura 11. Imagens da celulose de bagaço de maçã após 20 horas de tratamento com persulfato de amônio	55
Figura 12 . Suspensão de nanocelulose de bagaço de maçã (antes (A) e após (B) liofilização)	56
Figura 13. Imagem de nanocelulose liofilizada obtida por MEV.....	56
Figura 14. Aproveitamento de bagaço de maçã a partir de 100 g	57
Figura 15. Panorama dos produtos obtidos e potencial aplicações a partir do bagaço de maçã	59
Figura 16. Uvas cv. Carmem (à esquerda), cv. Violeta (direita) em vinhedo localizado em Piraquara-PR.....	64
Figura 17. Proposta de biorrefinaria a partir de bagaço de fermentado de uva e seus produtos obtidos	66
Figura 18. Uva, bagas, suco e fermentado cv. Violeta e cv. Carmem.	71
Figura 19. Fermentadores com o vinho das uvas cv. Carmem (à esquerda) e cv. Violeta (à direita).....	72
Figura 20. Cinética de fermentação para cada uma das variedades através da perda de CO ² durante 11 dias.....	73
Figura 21. Extrato aquoso do bagaço de uva fermentado cv. Carmem (esquerda) e cv. Violeta (direita) e o bagaço remanescente.	74
Figura 22. Suco, fermentado e água das uvas cv. Violeta, cv. Carmem.	77
Figura 23. Fluxograma dos produtos obtidos a partir do bagaço industrial.	80
Figura 24. Extrações a partir do bagaço da fermentação da uva Cabernet Sauvignon (industrial) na Fase 1.	81
Figura 25. Análise FT-IR da pectina de bagaço de vinificação industrial obtida.	83
Figura 26. Espectro no infravermelho de celulose produzida a partir do bagaço da uva	85
Figura 27. Imagens por MEV da celulose de bagaço de fermentado de uva após 20 horas de oxidação.....	86
Figura 28. Suspensão de nanocelulose de bagaço de uva (sem tratamento (A), após ultrassonificação (B)) e após liofilização (C e D).	87
Figura 29. Imagem de nanocelulose liofilizada obtida por MEV.....	88
Figura 30. Produtos obtidos do bagaço de fermentado de uva a partir de 100 g.....	89

INDICE DE EQUAÇÕES

Equação 1- Massa seca	40
Equação 2- Porcentagem de resíduos ácidos insolúveis.....	40
Equação 3- Porcentagem de lignina ácida insolúvel	40
Equação 4- Porcentagem de lignina ácida solúvel	40
Equação 5- Quantidade de massa por mEq (Z).....	43
Equação 6- Percentual de ácidos galacturônico (Fácida)	43
Equação 7- Teor de resíduos galacturônicos (AUA %)	43
Equação 8- Percentual de açúcares neutros (Fneutra)).....	43
Equação 9- Teor de metoxilas (MeO%)	43
Equação 10- Grau de esterificação (DE)	43
Equação 11- Miliequivalente grama NaOH (carboxilas livres)	43
Equação 12- Miliequivalente grama NaOH (carboxilas esterificadas)	43
Equação 13- Grau de esterificação da pectina (DE)	43
Equação 14- Total de antocianinas	69
Equação 15- Chroma (C*)	70
Equação 16- Hue (h*) quando $a > 0$	70
Equação 17- Hue (h*) quando $a < 0$	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exportação e importação de bebidas à base de uva e maçã em 2022 no Brasil.	15
Tabela 2. Revisão de literatura de solventes eutéticos profundos aplicados para extração de compostos de bagaço de frutas	27
Tabela 3. Composição em % de celulose, hemicelulose e lignina da caracterização de bagaços industriais de maçã, uva, laranja, cana-de-açúcar, agave e café.....	30
Tabela 4. Planejamento fatorial Box-Behnken para extração da lignina de bagaço de maçã assistida com ultrassom.	39
Tabela 5. Análises de compostos fenólicos e atividade antioxidante FRAP em bagaço de maçã nos extratos.	47
Tabela 6. Caracterização da pectina de bagaço de maçã por meio de titulometria	48
Tabela 7. Porcentagem de lignina remanescente no bagaço extraído após tratamento com ultrassom e DES.	50
Tabela 8. Sólidos solúveis e glicose da uva, suco, fermentado e água das uvas BRS Violeta e BRS Carmem.....	71
Tabela 9. Análises de compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas e atividade antioxidante para suco, fermentado e água das uvas.....	75
Tabela 10. Coordenadas a^* , b^* e L^* , Chroma e ângulo hue dos fermentados obtidos.	76
Tabela 11. Correlação de antocianinas e compostos fenólicos com parâmetros de cor.....	78
Tabela 12. Análises de compostos fenólicos totais, flavonoides, antocianinas e atividade antioxidante para bagaço de uva fermentado industrial (Cabernet Sauvignon).	82
Tabela 13. Caracterização da pectina de bagaço de fermentado de uva Cabernet Sauvignon.	84

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	11
OBJETIVOS.....	12
 CAPÍTULO 1- RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE MAÇÃ E UVA E RECUPERAÇÃO DE COMPOSTOS DE ALTO VALOR: REVISÃO DA LITERATURA.....	13
1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
1.1.1 Processamento para obtenção de bebidas.....	15
1.1.2 Características do bagaço proveniente do processamento.....	20
1.1.3 Extração da pectina.....	23
1.1.4 Ultrassom como tecnologia emergente para extração de compostos bioativos	24
1.1.5 Solventes eutéticos profundos e apelo ambiental.....	25
1.1.6 Celulose e bioeconomia	29
1.2 CONCLUSÃO.....	32
 CAPÍTULO 2- CONCEITO DE BIORREFINARIA APLICADO PARA RECUPERAÇÃO DE CELULOSE E COMPOSTOS DE ALTO VALOR ORIUNDOS DE BAGAÇO DE MAÇÃ INDUSTRIAL.....	33
2.1 INTRODUÇÃO.....	35
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
2.2.1 Material.....	35
2.2.2 Metodologia.....	36
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
2.3.1 Aproveitamento do bagaço de maçã em uma biorrefinaria.....	44
2.3.2. Análise dos extratos obtidos na Fase 1.....	46
2.3.3. Planejamento fatorial e extração da lignina na Fase 2.....	49
2.3.4 Análises da celulose produzida na Fase 3.....	51
2.3.5 Produtos obtidos a partir de 100 g de bagaço.....	57
2.3.6 Potencial de mercado para os produtos obtidos	58
2.4 CONCLUSÃO.....	61
 CAPÍTULO 3- PROCESSAMENTO DE BEBIDAS A PARTIR DE UVAS VITIS LABRUSCA E VALORIZAÇÃO DO BAGAÇO DE CABERNET SAUVIGNON ORIUNDO DO PROCESSO DE VINIFICAÇÃO DENTRO DO CONCEITO DE BIORREFINARIA.....	62
3.1 INTRODUÇÃO.....	62
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	63
3.2.1 Material.....	63
3.2.2 Metodologia.....	64
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	70
3.3.1 Produtos obtidos a partir das uvas BRS Violeta e BRS Carmem.....	70
3.3.2 Cinética de fermentação do vinho.....	72
3.3.3 “Água de vinho”	73
3.3.4 Análises da parte 1.....	74
3.3.5 Recuperação de compostos de alto valor agregado do bagaço industrial.....	79
3.3.6 Remoção da lignina e produção de celulose.....	84
3.4 CONCLUSÃO.....	90

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	92
REFERÊNCIAS.....	93

INTRODUÇÃO

O conceito de bioeconomia engloba a ideia da utilização de recursos biológicos aliados a tecnologias limpas para produção de biocombustíveis e extração de componentes de alto valor para a indústria. Aliado a ele, entra o conceito de economia circular, que compreende reciclagem e reutilização, em que o resíduo gerado por uma empresa (bagaço de frutas, resíduo cervejeiro, borra de café), que seria descartado e muitas vezes, de forma incorreta, torna-se a matéria-prima de outro processamento. Percebe-se nesse cenário, a necessidade de projetos que explorem as possibilidades de utilização de resíduos agroindustriais no Brasil, bem como a investigação de tecnologias inovadoras, buscando processos industriais mais sustentáveis.

Indústrias de processamento de maçã e uva enfrentam dificuldades no descarte adequado do resíduo lignocelulósico obtido após a prensagem da maçã ou fermentação da uva, que corresponde a cerca de 25-45 % do peso da fruta processada. É um material que preserva compostos fenólicos, ácidos orgânicos e pectina. Tecnologias têm sido aplicadas para recuperação desses compostos, porém, o resíduo celulósico permanece.

Assim, essa tese, composta por 3 capítulos, visa investigar e avaliar o potencial do bagaço de maçã e de uva para recuperação de compostos de alto valor agregado, buscando tecnologias inovadoras e sustentáveis, que se adaptem ao conceito de bioeconomia e economia circular e com total aproveitamento do resíduo lignocelulósico. Dentre essas, o equipamento ultrassônico atrai o interesse dos pesquisadores devido ao seu efeito de cavitação nas células vegetais, com aumento do rendimento da extração de compostos bioativos e redução microbiológica, baixo custo de instalação e apelo *eco-friendly*. Solventes eutéticos profundos estão ganhando espaço como substitutos de solventes orgânicos convencionais, devido a sua baixa toxicidade, apelo de solvente "verde" e possível recuperação.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Extrair compostos do bagaço industrial de maçã e de fermentado de uva dentro do conceito de uma biorrefinaria.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Explorar os bagaços obtidos do processamento de vinho e suco de maçã a fim de recuperar produtos como açúcares solúveis, compostos fenólicos, pectina e celulose;

Avaliar a cinética de fermentação de uvas *Vitis labrusca* BRS Violeta e BRS Carmem;

Delinear os processos de extração de ácidos orgânicos, açúcares solúveis, compostos fenólicos, pectina e produção de celulose dentro do conceito de biorrefinaria;

Caracterizar os compostos fenólicos e atividade antioxidante dos extratos aquosos obtidos do bagaço de maçã e do bagaço de fermentado de uva;

Extrair e quantificar a pectina remanescente na matriz vegetal;

Remover a lignina utilizando equipamento ultrassom e solvente eutético profundo;

Produzir celulose por método oxidativo com persulfato de amônio;

Caracterizar os produtos obtidos em cada fase utilizando análises físico-químicas, espectrofotométricas e instrumentais.

CAPÍTULO 1- RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE MAÇÃ E UVA E RECUPERAÇÃO DE COMPOSTOS DE ALTO VALOR: REVISÃO DA LITERATURA

1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O cultivo de maçã (*Malus domestica*) em 2022 gerou uma produção mundial em torno de 96 milhões de toneladas, sendo o Brasil responsável por 1,05 milhões de toneladas com 33 mil hectares de colheita. A produção nacional predomina na região Sul (mais de 50 %), onde o estado de Santa Catarina figura como maior produtor (FAOStat database, 2024; IBGE¹, 2024). As variedades Gala e Fuji predominam, compreendendo cerca de 65 e 30% da produção nacional, respectivamente (Antoniolli *et al.*, 2024). Nos últimos anos, as pesquisas com novas variedades de maçã para produção no Brasil vêm aumentando, buscando através de melhoramento genético espécies mais resistentes ao clima e a pragas, como as variedades desenvolvidas pela Estação Experimental de Caçador (EPAGRI), entre elas Venice, Luiza e Elenise (Denardi *et al.*, 2020; Denardi *et al.*, 2019; Denardi *et al.*, 2018).

Em 2022, os maiores exportadores de suco de maçã foram China (400.000 t), Polônia (268.000 t), Alemanha (253.000 t), Itália (108.000 t) e Bélgica (53.000 t) (FAOStat database, 2024). O valor estimado de sidra produzida mundialmente em 2019 foi de 26.182 mil hectolitros. A Europa Ocidental predomina, responsável pelo consumo de 52,8 % deste volume, seguida da África (13,7 %), América do Norte (11,3 %), Leste Europeu (8,3 %), Australásia (7,5 %), América Latina (4,9 %) e Ásia (1,4%). Dentre os países europeus, a Irlanda figura entre os cinco maiores mercados consumidores de sidra. Com um consumo anual de 680 mil hectolitros, a sidra corresponde a 13,85 % per capita do país (AICV, 2020).

Para a uva (*Vitis* sp.), a produção mundial em 2022 girou em torno de 75 milhões de toneladas, enquanto a nacional atingiu 1,5 milhões de toneladas em 2022 (FAOStat database, 2024). Dados de 2021 mostram a região Sul como responsável por 73 % da área com viticultura, destinando a maior parte das cultivares ao processamento de vinho de mesa e suco de uva. No Rio Grande do Sul, maior produtor nacional, a produção de suco de uva integral em 2021 chegou a 69 milhões de litros (Mello; Machado, 2022). Para suco de uva, Espanha (220.000 t), Itália (181.000 t), Argentina (75.000 t), Estados Unidos (45.000 t) e Chile (41.000 t) configuram como os 5 maiores produtores (FAOStat database, 2024).

As uvas *Vitis vinífera* são largamente utilizadas na produção de vinhos finos, destacando as cultivares *Shiraz*, *Cabernet Sauvignon*, *Riesling*, *Chardonnay* e *Pinot Gris* (Luo *et al.*, 2019). No Brasil, as uvas *Vitis labrusca*, de origem americana, e suas híbridas, são destinadas para processamento de vinhos de mesa, com destaque para a cv. Isabel, uma híbrida de *Vitis vinífera* e *Vitis labrusca*, cuja produção corresponde a 15 % da área total de uvas destinadas a produção de vinho (OIV, 2017; Nixdorf; Hermosín-Gutiérrez, 2010).

Variedades desenvolvidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) por melhoramento genético, como a BRS Carmem e a BRS Violeta, aparecem como alternativas para obtenção de vinhos e sucos obtidos de *Vitis labrusca* com melhor qualidade sensorial (De Castilhos *et al.*, 2019). No Rio Grande do Sul, cerca de 7 % da produção corresponde a cultivares de melhoramento genético da EMBRAPA, destacando-se as variedades Isabel Precoce, Moscato Embrapa, BRS Lorena, BRS Violeta, BRS Cora, Concord Clone 30, BRS Rúbea e BRS Carmem, indicando que essas cultivares estão ganhando espaço no mercado e entre os produtores, visto que apresentam boa adaptação ao clima e maior resistência a pragas (Fioravanço, 2018).

A variedade BRS Violeta tem sua maturação em janeiro, com alta produtividade (acima de 20 t/ha) e bagas de cor tinta, tendo como finalidade a produção de sucos, enquanto a BRS Carmem amadurece entre fevereiro e março, com uma produtividade muito alta, sendo também uma uva de bagas tintas para produção de sucos (EPAGRI, 2023).

O consumo global de suco e néctar em 2018 alcançou 36,2 bilhões de litros, sendo a União Europeia responsável pelo maior consumo entre as regiões, com 9.187 milhões de litros, enquanto a América Latina consumiu 3.436 milhões de litros. União Europeia, América do Norte e Ásia-Pacífico, juntos, englobam 82 % do consumo mundial de sucos e néctares. Dentro da União Europeia, são cinco os países responsáveis por 70 % do consumo: Alemanha, França, Reino Unido (atualmente fora da UE), Polônia e Espanha, respectivamente (AIJN, 2018). Em 2021, estimativas apontam um consumo médio de 3,8 kg de uva de mesa por habitante e 1,37 L de suco de uva. O consumo *per capita* de vinho, considerando a população maior de 18 anos, atinge 2,84 L (Mello; Machado, 2022). A Itália (2 M t), a Espanha (2 M t) e a França (1,5 M t) são os maiores exportadores de vinho (FAOStat database, 2024). Uma análise do mercado brasileiro de bebidas à base de maçã e uva em 2022 pode ser visualizada na Tabela 1..

Tabela 1. Exportação e importação de bebidas à base de uva e maçã em 2022 no Brasil.

	<i>Importação</i>		<i>Exportação</i>	
	<i>Quantidade (t)</i>	<i>Valor (1000 US\$)</i>	<i>Quantidade (t)</i>	<i>Valor (1000 US\$)</i>
Suco de maçã	25	28	488	565
Suco de maçã concentrado	30	64	21000	26000
Suco de uva	29	24	5000	9000
Vinho	154000	485000	8000	14000

Legenda: t – tonelada.

Fonte: FAOStat database, 2024.

1.1.1 Processamento para obtenção de bebidas

a) Maçã: suco e sidra

A legislação brasileira (Brasil, 2009) define suco como bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, obtido da fruta madura e sã, através de processamento tecnológico que garanta a conservação até o consumo. Para ser considerado integral, o suco não pode ter adição de açúcares e deve estar em sua concentração natural.

O processamento de suco e de fermentado alcoólico de maçã (sidra) envolve as etapas mencionadas na Figura 1. Para obter uma bebida de qualidade, é necessário que a matéria-prima esteja em condições sanitárias adequadas, livre de defeitos patológicos e em estágio de maturação adequado, o que irá contribuir com compostos bioativos para as características sensoriais, como aroma, e nutricionais, como atividade antioxidante (Alberti *et al.*, 2017). A sanitização pode ser realizada mantendo os frutos submersos em solução de hipoclorito de sódio na concentração de 200 mg/L, na temperatura de 10 °C por 10 minutos para evitar volatilização do cloro (Gomes *et al.*, 2014).

Figura 1. Fluxograma geral de processamento de suco de maçã e sidra



Fonte: ALBERTI *et al.*, 2016; NOGUEIRA *et al.*, 2008.

Nota: Imagens de arquivo pessoal

As maçãs devem passar por enxágue para retirar resíduos do sanitizante antes da etapa de cominuição. Nessa etapa, a fruta é desintegrada para aumentar a área de superfície de extração do suco e facilitar o processo. A polpa então é submetida à pressão mecânica. O suco obtido pode ser despectinizado, podendo passar por operações de clarificação e filtração (Nogueira *et al.*, 2003).

As pectinases, em geral, dividem-se em 3 grupos: pectinesterase, poligalacturonase e pectina-transeliminase, sendo esta pouco aplicada em processamento vegetal (Jayani; Saxena; Gupta, 2005). A etapa da despectinização visa diminuir a turbidez dos sucos com a separação da pectina e outros compostos que turvam o meio e, auxiliar no rendimento através da extração de líquido das matrizes celulares. O suco pode então ser envasado, pasteurizado ou concentrado, de acordo com a finalidade. Quanto aos compostos fenólicos encontrados no suco, a principal classe fenólica corresponde aos flavonoides e, dentro desse grupo, 70 % correspondem a flavanóis, 15 % dihidrochalconas e 11 % flavonóis (Silva *et al.*, 2019).

Para a produção de sidra, as mesmas etapas são seguidas, sendo que após a despectinização, o suco passa a ser denominado de mosto, trasfegado para o fermentador, onde será adicionada a levedura. Após o inóculo desta levedura, o mosto passa a ser denominado fermentado, sendo mantido sob temperatura controlada (aproximadamente 20 °C) por todo o período de fermentação (Silva *et al.*, 2019). A carbonatação do fermentado finaliza o processamento.

O processo fermentativo do mosto de maçã pode influenciar no teor de alguns compostos fenólicos, importantes para a manutenção dos aspectos sensoriais de percepção do aroma (Nogueira *et al.*, 2008), com a redução de compostos fenólicos totais e suas classes devido a mudanças químicas ocorridas no processo. Os autores em Silva *et al.* (2019) avaliaram a influência da fermentação nos compostos fenólicos de sidras elaboradas a partir de maçãs Gala, Lis Gala e Fuji Suprema. A fermentação alcoólica promoveu a redução dos compostos fenólicos de 17 a 50 %, possivelmente devido à adsorção dos compostos nas células da levedura ou pela conversão dos ácidos fenólicos em fenóis vinil (voláteis) causada pela *Saccharomyces cerevisiae*. A reincorporação do extrato fenólico do bagaço de maçã aparece como uma alternativa para melhorar a composição fenólica, capacidade antioxidante e aspectos sensoriais da sidra (Benvenuti *et al.*, 2019).

b) Uva: Suco e vinho

O regulamento da lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que rege a produção de vinho e derivados da uva no Brasil, define vinho como a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto simples da uva que deve estar sã, fresca e madura (Brasil, 2014). A Figura 2 apresenta as etapas de processamento de suco de uva por arraste a vapor e do vinho. Após a seleção, sanitização dos cachos (hipoclorito de sódio 200 mg/L), na temperatura de 10 °C por 10 minutos (Gomes *et al.*, 2014) e desengajo, as uvas são acondicionadas no equipamento extrator de pigmentos. A técnica consiste na lixiviação dos compostos solúveis da uva pelo vapor de água gerado no equipamento. O processo por batelada pode ser padronizado controlando a massa de uva adicionada e o tempo da operação. Como o suco sai em alta temperatura (75-85 °C) pode ser envasado diretamente (Mendes Lopes; Miguel; Fialho; Valente-Mesquita, 2016).

Para produção do vinho, após o desengajo (separação dos engaços das bagas), a uva é submetida ao esmagamento, rompendo a película das bagas e liberando o mosto, acondicionado no fermentador. Nessa etapa, podem ser adicionados sulfitos que agem como conservantes

microbiológicos, porém, essa adição prévia à fermentação impede a formação de compostos aromáticos, prejudicando sensorialmente a bebida. Isso ocorre devido a interações entre o hidrogênio sulfeto e o acetaldeído do metabolismo da levedura (Ochando et al., 2020). O inóculo da levedura fermentadora (*Saccharomyces cerevisiae*) inicia o processo de fermentação. Durante a fermentação alcoólica, a movimentação do mosto é necessária para manter o contato entre os sólidos e a fase líquida, para garantir a extração total dos compostos (De Castilhos et al., 2013).

Figura 2. Processamento de suco de uva e vinho



Fonte: Mendes Lopes; Miguel; Fialho E; Valente-Mesquita, 2016; De Castilhos et al, 2013.

Nota: Imagens de arquivo pessoal

A temperatura em que a fermentação é mantida pode influenciar no perfil aromático da bebida final. Os autores Molina *et al.* (2007) avaliaram esse efeito no vinho durante a fermentação de mosto sintético com *Saccharomyces cerevisiae*. Temperaturas mais altas (28 °C) promoveram os aromas mais florais, de banana e abacaxi, enquanto temperaturas mais baixas (15 °C), aumentaram a produção de ésteres associados a aromas frescos e frutados.

A etapa de correção do açúcar, ou chaptalização, processo permitido pela legislação brasileira (Brasil, 2011), consiste em uma prática enológica de adição de sacarose para correção

do mosto, dentro dos limites estabelecidos pela legislação (Brasil, 2023). Essa prática é empregada quando há necessidade de aumentar o teor alcoólico do vinho para fins de conservação microbiológica da bebida, sem a adição de etanol.

A refrigeração auxilia na cristalização do ácido tartárico, presente no vinho após a fermentação e causa instabilidade no armazenamento. As baixas temperaturas auxiliam na formação de cristais, facilmente removidos da bebida e normalmente aderidos ao recipiente. Porém, alguns estudos buscam alternativas mais econômicas e eficientes para essa etapa do processo, como a eletrodialise (Lasanta; Gómez, 2012).

Para o processo de vinificação, após a fermentação alcoólica, ocorre também a fermentação malolática, conduzida pelas bactérias ácido lácticas, que convertem o ácido málico em ácido láctico, suavizando o aspecto sensorial da bebida. Bactérias do gênero *Oenococcus oeni* são as mais conhecidas desse processo (Genisheva *et al.*, 2013). Essa etapa ocorre no período de armazenamento do vinho, e em média, 25 dias após o inóculo dessa cepa são necessários para o consumo total de ácido málico e redução de outros compostos como acetaldeído e ácido pirúvico (Jackowetz; Orduña, 2012). Esse processo ocorre de forma espontânea, porém a adição das cepas isoladas auxilia na otimização do processo industrial.

Durante as etapas de processamento do suco de uva, percebe-se a redução de compostos fenólicos após a prensagem, devido à remoção das cascas e sementes nessa etapa, que mantém uma quantidade significativa desses compostos. Os autores Capanoglu *et al.* (2013) observaram uma redução de 84 a 87 % no suco de uva concentrado comparado ao teor de compostos fenólicos da fruta. Porém, entre a fruta e o bagaço prensado, ocorre um aumento devido a presença das cascas e sementes, indicando o potencial do bagaço a ser explorado.

Comparando com outros métodos mecânicos de extração de suco de uva, o método de arraste a vapor consegue remover em maior quantidade polifenóis solúveis e antocianinas, obtendo um suco com maior atividade antioxidante. Essa maior extração ocorre provavelmente devido ao calor produzido no processamento, quebrando as ligações entre açúcares-fenóis (Mendes Lopes; Miguel; Fialho; Valente-Mesquita, 2016).

Os flavanóis encontrados no suco de uva são a catequina e epicatequina, enquanto entre as antocianinas, destacam-se a malvidina-3-glicosídeo, as petunidíneas, peonidinas e cianidinas. Uma redução significativa desses compostos é observada após processos de pasteurização, clarificação e concentração do suco (Da Silva *et al.*, 2019; Capanoglu *et al.*, 2013). As antocianinas, particularmente, têm pouca estabilidade durante longo período de armazenamento (Mendes Lopes; Miguel; Fialho; Valente-Mesquita, 2016).

Mato, Suárez-Luque e Huidobro (2007) avaliaram os ácidos orgânicos encontrados em suco e vinho de uva. O ácido tartárico aparece como 50 % dos ácidos totais em uvas e vinhos, o ácido málico corresponde a 30 % dos ácidos nos sucos de uva e 10 % nos vinhos. A identificação de ácido cítrico ocorreu na análise das frutas, porém ele tende a desaparecer durante o processamento.

1.1.2 Características do bagaço proveniente do processamento

Dentro desse cenário da agroindústria da maçã, uma das dificuldades encontradas pela indústria é o bagaço oriundo do processamento de suco e sidra. Representando uma quantidade considerável de resíduos de processo, cerca de 25 a 45 % da massa total das frutas, o bagaço apresenta aptidão para ser classificado como coproduto e encaminhado para outros processamentos (Lopez-Rodulfo *et al.*, 2024; Waldbauer; Kopp; McKinnon, 2017). Esse bagaço apresenta compostos cuja recuperação é de interesse para outras indústrias, nos setores alimentícios, químicos e farmacêuticos, como pode ser visto no Quadro 2.

Quadro 1. Revisão da literatura sobre compostos de interesse para a indústria encontrados em bagaço de maçã

Bagaço de maçã	Composição (%)	Referência
Seco Industrial (Brasil)	• Celulose: 32,62; • Hemicelulose: 23,60; • Lignina: 25,38;	Leonel <i>et al.</i> (2020)
Seco industrial (Espanha)	• Carboidratos: 55,86; • Celulose: 21,22; • Hemicelulose: 14,75; • Lignina: 18,5; • Compostos fenólicos totais: 3,5 mg/g;	Hijose-Valsero; Paniagua-García; Díez-Antolínez (2017)
Seco Industrial (Turquia)	• Celulose: 27,5; • Hemicelulose: 24,5; • Lignina: 19,7; • Xilose: 36,11; • Arabinose: 31,65;	Kut <i>et al.</i> (2020)
<i>Golden delicious cv.</i>	• Lignina: 19,8 • Glucose: 22,3; • Arabinose: 12,5;	Gama; Van Dyck; Pletschke (2015)
Seco ao sol (EUA)	• Ácido galacturônico: 14,4; • Frutose: 19,2; • Sacarose: 1; • Lignina insolúvel: 24,7;	Magyar <i>et al.</i> (2016)

Fonte: A autora.

Para a indústria de sidras, por exemplo, pode ser interessante a reincorporação do bagaço no próprio processamento. De acordo com Bortolini *et al.* (2020), a adição de bagaço imobilizado durante a fermentação da sidra aumenta o teor de açúcares e de nitrogênio no mosto, o que melhora a cinética de fermentação e pode evitar que ocorram paradas no processo fermentativo devido à falta desses elementos para o metabolismo da levedura (Alberti *et al.*, 2011).

Além disso, a reincorporação de compostos fenólicos oriundos do bagaço, por meio da dissolução e difusão no meio, faz com que a redução desses compostos seja menor quando comparada ao processo tradicional. A adição de bagaço de maçã imobilizado durante a fermentação consegue manter um rendimento de 32 %, 18 % e 56 % a mais de fenóis totais, flavonoides totais e flavanóis comparado aos valores da sidra controle, além de aumentar em três vezes a concentração de floridzina. Como consequência, a atividade antioxidante aumenta 54,9 % comparada à sidra sem adição de bagaço (Bortolini *et al.*, 2020).

Benvenuti *et al.* (2019) otimizaram o processo de extração de compostos fenólicos de bagaço de maçã, obtendo os melhores resultados com a extração usando solvente etanol 60 %, a 50 °C, na proporção de bagaço/solvente 1: 20 (m/v). Na aplicação dos extratos em sidra, a adição dos extratos não impactou de forma negativa, causando um aumento na percepção de intensidade de cor da bebida, e o tratamento com maior concentração de extrato obteve melhor aceitação sensorial.

Esses extratos também podem apresentar atividade antimicrobiana, como visto pelos autores em Zardo *et al.* (2021), que otimizaram o processo de extração de compostos fenólicos do bagaço de maçã Gala, aplicando os solventes acetona, etanol e metanol. Os maiores rendimentos foram obtidos na extração com acetona, apresentando atividade antimicrobiana com redução de crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* na concentração de 2500 µg de bagaço seco por mL de extrato. O efeito antimicrobiano foi atribuído principalmente à elevadas quantidades de epicatequina, procianidinas e quercetina. Esses compostos pertencem ao grupo dos flavanóis, e se concentram predominantemente no epicarpo das maçãs (Alberti *et al.*, 2017). Da mesma forma, o bagaço de uva, obtido após a fermentação do vinho, mantém uma composição rica em antocianinas, compostos fenólicos e minerais, como visto no Quadro 3.

Quadro 2. Presença de compostos de valor nutricional em bagaço de uva

Bagaço de uva	Compostos detectados	Referência
<i>Vitis vinifera</i> L. cv. Syrah	Petunidina, peonidina, malvidina Compostos fenólicos totais: 65 mg EAG/g.	Pereira <i>et al.</i> (2019)
Bagaço fermentado	Catequina, epicatequina, malvidina, delphinidina, petunidina, peonidina, quercetina, ácido hidroxibenzoico e ácido hidrocinâmico.	Peixoto <i>et al.</i> (2018)
Cabernet Sauvignon	Minerais totais: 36,5 g/kg (Al, Ca, Fe, Mg, P, K, Na, S, Zn); Carboidratos solúveis: 15 %.	Corbin <i>et al.</i> (2015)
Sauvignon Blanc	Minerais totais: 26,7 g/kg (Al, Ca, Fe, Mg, P, K, Na, S, Zn); Carboidratos solúveis: 43 %;	Corbin <i>et al.</i> (2015)

Fonte: A autora

Esse resíduo lignocelulósico apresenta potencial para recuperação de compostos de alto valor. Rondeau *et al.* (2015) avaliou bagaço de uva após vinificação de 8 cultivares francesas. Cerca de 3-6 % de óleo foi recuperado do bagaço, 20-46 % corresponde aos açúcares e 20-51 % de taninos condensados foram detectados. A composição de carboidratos solúveis indica o potencial tecnológico para produção de bioetanol (Corbin *et al.*, 2015). No entanto, a extração

dos compostos fenólicos pode gerar mais resíduos, de acordo com o método e solvente aplicados, sendo que o material lignocelulósico permanece, sem apresentar uma solução adequada para o descarte.

O extrato aquoso de bagaço de uva apresentou efeitos antioxidantes e neuroprotetores em neurônios hipotalâmicos, o que indica seu potencial como suplemento alimentar e agente anti-inflamatório (Chiavaroli *et al.*, 2021). A sintetização de taninos extraídos de bagaço de uva em nanopartículas revestidas com prata apresentou potencial atividade antimicrobiana sobre *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, bem como efeitos antidiabéticos e potenciais antioxidantes (Saratale *et al.*, 2021).

1.1.3 Extração da pectina

Após a extração fenólica, a pectina é o próximo composto de interesse dentro de uma biorrefinaria de resíduos de frutas que permanece no bagaço de maçã e de uva após processamento (Dranca; Vargas; Oroian, 2020; Shivamathi *et al.*, 2019; Spinei; Oroian, 2022; Minjares-Fuentes *et al.*, 2014). O rendimento médio presente nesses bagaços é de 23% e 6%, para bagaço de maçã e uva, respectivamente. Alta temperatura e meio ácido contribuem para a extração de qualidade do composto. Um ácido orgânico como o ácido cítrico pode ser uma opção sustentável para aumentar a acidez do meio aquoso ($\text{pH} \cong 2$) (Spinei; Oroian, 2022), ocorrendo geralmente, nessas condições, de 1 a 3 horas (El Fihry *et al.*, 2022; Dranca; Vargas; Orian, 2020). Spinei e Orian (2022) compararam a extração de pectina do bagaço de uva com os ácidos cítrico, sulfúrico e nítrico, normalmente aplicados para extração de pectina. Não houve diferença significativa no rendimento da pectina. No entanto, o teor de ácido galacturônico e o peso equivalente de pectina aumentaram com ácido cítrico como solvente em comparação com os ácidos minerais (sulfúrico e nítrico), características desejáveis em termos de pectina.

Após o tratamento térmico ácido, a fração sólida (fração lignocelulósica) é separada da pectina dissolvida no meio aquoso. A precipitação da pectina ocorre adicionando 2 volumes de etanol anidro frio, mantendo o processo a 4 °C durante a noite (El Fihry *et al.*, 2022; Chen; Lahaye, 2021). A pectina precipitada é filtrada em gaze e seca a 40 °C em estufa de circulação forçada de ar. Do ponto de vista da indústria de alimentos, a pectina é um ingrediente amplamente incorporado aos produtos alimentícios devido às suas propriedades gelificantes. No entanto, pesquisas recentes têm investigado a aplicação da pectina em biomateriais em diferentes áreas do conhecimento.

Os hidrogéis de pectina têm sido amplamente estudados. O aumento do teor de pectina no hidrogel aumenta as propriedades da estrutura como coesão, resistência à compressão e rigidez (Markov *et al.*, 2017). Um hidrogel pode ser definido como um material polimérico inchado por água, produzido por uma rede polimérica reticulada através da reação de dois ou mais monômeros (Ahmed, 2015). Devido à sua estrutura, este material pode ser um carregador de compostos de interesse, como visto pelos autores em Bostanci *et al.* (2022) em que um hidrogel de pectina/gelatina carregado com curcumina mostrou resultados potenciais como cicatrização de feridas.

A pectina também é encontrada como uma matriz para adesivos transdérmicos de liberação de drogas, como pectina carregada com ibuprofeno/hidrogel de celulose bacteriana (Krathumkhet; Imae; Paradee, 2021). Também tem sido aplicado como biomaterial para impressão 3D com *bioink*. Kanungo *et al.* (2021) apresentaram microesferas de pectina revestidas com gelatina como um material promissor na engenharia de tecidos. Este composto parece aumentar as propriedades estruturais dos biomateriais desenvolvidos, mostrando potencial para aplicações no campo da bioengenharia. Mesmo após a recuperação dos compostos fenólicos e pectina do bagaço, a fração lignocelulósica permanece, permitindo a produção da celulose, elucidada posteriormente.

1.1.4 Ultrassom como tecnologia emergente para extração de compostos bioativos

A vibração das moléculas, emitida por um transmissor a um receptor, que se aproximam e distanciam, causando os efeitos de compressão e rarefação, formam ondas de energia, e a repetição desse movimento faz com que as ondas de som se propaguem pelo ar. Entre 20 Hz e 20 kHz, o som é perceptível ao ouvido humano, sendo que após essa frequência está o ultrassom (O'Brien Jr *et al.*, 2006).

Em um meio líquido, esses ciclos de compressão e rarefação provocam as bolhas de cavitação, que atingem na superfície temperatura acima de 5.000 K e pressão maior que 50.000 kPa, o que faz com que as bolhas rompam, injetando o gás de seu interior que provoca o cisalhamento de células que estejam próximas (Tiwari *et al.*, 2009). Com o rompimento da parede celular da matriz, essa técnica vem sendo aplicada na indústria de alimentos com finalidades como extração de óleo (Khoei; Chekin, 2016) e compostos fenólicos (Nadeem *et al.*, 2018), atuando também na redução de carga microbiológica (Cervantes-Elizarrarás *et al.*, 2017).

O equipamento ultrassônico ou banho de ultrassom são equipamentos que vêm sendo aplicados também em estudos sobre tratamento de resíduos industriais para recuperação de compostos, devido ao efeito extrator das bolhas de cavitação. Ravindran *et al.* (2017) avaliaram o efeito do banho de ultrassom, aliado ao poder oxidativo do permanganato de potássio, na recuperação de celulose, hemicelulose e lignina de resíduo da extração de café. Foi possível remover a fração de lignina, sem interesse para o processo, preservando a fração de hemicelulose, sendo que o tratamento ultrassônico aumentou em 1,7 vezes a quantidade de açúcares redutores após a hidrólise enzimática da amostra tratada de resíduo de café.

Os resíduos gerados pela indústria de alimentos, de origem vegetal, configuram em sua maioria um material lignocelulósico, que pode ser convertido em celulose, hemicelulose e lignina, compostos de interesse para as biorrefinarias. A partir da hidrólise química ou enzimática desses resíduos, açúcares redutores ficam expostos e podem ser metabolizados por microrganismos para produção de biocombustíveis, enzimas e aminoácidos (Ravindran *et al.*, 2017). Já os autores em Hassan *et al.* (2020) estudaram os efeitos do ultrassom e de micro-ondas como pré-tratamento de resíduos de malte da indústria cervejeira, na recuperação de açúcares redutores para a produção de xilanases a partir do fungo *Mucor* sp. Para otimizar o tratamento com ultrassom, a energia e a frequência aplicadas devem ser estudadas para que o menor tempo de exposição seja necessário.

1.1.5 Solventes eutéticos profundos e apelo ambiental

Juntamente com as tecnologias descritas acima, os Solventes Eutéticos Naturais Profundos (NADES) têm sido amplamente estudados como uma alternativa mais ecológica para processos de extração. Um sistema é considerado eutético quando a mistura de duas substâncias tem o mesmo comportamento de uma substância pura. Para o solvente, em uma proporção específica, dois produtos químicos sólidos podem ser misturados em seus pontos de fusão e se tornar um líquido estável à temperatura ambiente (Savi *et al.*, 2019). A estabilidade depende da proporção e da estrutura química dos compostos misturados (Dai *et al.*, 2013). Este solvente é obtido a partir de dois ou mais compostos sólidos estando um aceptor de ligação de hidrogênio (HBA) e os outros doadores de ligação de hidrogênio (HBD).

Cloreto de colina (CC) é o HBA normalmente aplicado enquanto ácido cítrico, ácido málico, ácido oxálico, glicose, frutose e glicerol são os compostos HBD mais encontrados na literatura (Benvenutti *et al.*, 2020; Chen; Lahaye, 2021; Popovic *et al.*, 2022). A afinidade do NADES com os compostos alvo é importante para selecionar os HBA e HBD mais compatíveis

para o solvente e ferramentas como o COSMO-RS podem ser eficientes para elucidar essa ligação (Benvenuti *et al.*, 2020). O pH do solvente também pode afetar a extração dos compostos alvo (Chen; Falourd; Lahaye, 2021), bem como a viscosidade e o teor de água, uma vez que pode ter influência na transferência de massa da parede celular (Chen; Lahaye, 2021). O NADES ácido mostrou maior eficiência para extração de compostos fenólicos, enquanto o NADES neutro pode melhorar a extração de proteínas (Panić *et al.*, 2021; Popovic *et al.*, 2022).

O uso de DES para deslignificação é elucidado pelos autores em Smink *et al.* (2019), especificamente o papel do cloreto de colina e do ácido láctico DES em experimentos com chips de *Eucalyptus globulus*. Os efeitos na solubilidade, reações de lignina e transferência de massa foram investigados. Os resultados mostraram que o ânion cloreto tem um efeito ativo sobre o CC e na lignina da madeira moída parece que a quebra da ligação β -O-4 é aumentada com a adição de DES. A Tabela 2 mostra a aplicação do NADES para extração de bagaço de frutas de compostos de alto valor. É possível concluir que o NADES sozinho ou combinado com outros equipamentos de extração assistida pode ser realmente eficiente para recuperação e seleção de compostos de interesse que permanecem no bagaço de frutas após o processamento industrial.

Tabela 2. Revisão de literatura de solventes eutéticos profundos aplicados para extração de compostos de bagaço de frutas

(continua)

Matriz	Compostos alvos	DES	Extração assistida	Resultados
Bagaço de maçã ¹	Pectina	-HBA: CC; -HBD: ácido láctico, ácido oxálico ou ureia	Pré-tratamento com DES antes da extração com água quente	A temperatura mais amena (40 °C) melhorou o rendimento de extração com DES.
Bagaço de cereja ²	Polifenóis	-HBA: CC; -HBD: ácido málico, ureia ou frutose;	Utilização de micro-ondas na preparação do DES	Ácido málico: maiores níveis de compostos fenólicos extraídos; Frutose: maior capacidade antioxidante dos extratos.
Casca de laranja ³	D-limoneno, Polifenóis e Proteína	Poliálcoois	Nenhum	DES ácido: maior extração de compostos fenólicos DES pH neutro: maior extração de proteína
Bagaço de maçã ⁴	Pectina	CC: ácido láctico(ácido), CC: glicerol(neutro), Carbonato de potássio: Glicerol (alcalino)	Nenhum/ Pré-tratamento sequencial do DES	CC: ácido láctico- Rico em polissacarídeos
Purê de banana ⁵	Açúcares solúveis	Ácido cítrico: beta alanina; Ácido cítrico: CC; Ácido málico: beta alanina; Ácido málico:CC	Micro-ondas; 3g amostra, 30 g DES, abaixo de 25, 50 e 70 °C, durante 5, 15 e 30 min.	Rendimento de açúcares solúveis aumentou proporcionalmente ao tempo de extração; o uso do DES foi mais efetivo quando comparado com etanol e água; DES se mostrou um meio efetivo para extração de matrizes de fruta.
Resíduo de amora ⁶	Compostos fenólicos; Antocianinas	Água acidificada, água pura, etanol absoluto e etanol 50% (v/v)	Extração por líquido pressurizado; 5 g amostra; pré-aquecimento 5 min; 7.5 MPa por 30 min; 60, 80 e 100 °C.	Água acidificada obteve o maior rendimento, entretanto nos parâmetros avaliados, não houve diferença significativa na extração de compostos fenólicos e antocianinas.

(conclusão)

Matriz	Compostos alvos	DES	Extração assistida	Resultados
Bagaço de jaboticaba ⁷	Compostos fenólicos; Antocianinas	-	Extração por líquido pressurizado; 4.5 g amostra, 5 min pré-aquecimento; 40-120 °C; 5-10 MPa; 5-15 min	As condições ótimas para extração de antocianinas e compostos fenólicos foram 50 bar, 80 °C por 9 minutos.
Bagaço de maçã ⁸	Compostos fenólicos	-	Extração por líquido pressurizado; 120 °C com solvente 60% etanol (v/v) foi o ponto ótimo obtido para essa matriz	Ácido clorogênico, flavonóis e glicosídeos de floretina foram identificados; A otimização da extração mostrou que baixas temperaturas são mais adequadas para extração de fenólicos e atividade antioxidante do extrato
Jaboticaba coproduto ⁹	Extrato de antocianina	CC: Propileno Glicol 1:2M; CC: ácido málico 1:1M	Extração por líquido pressurizado; 10MPa; 12 min; 5g amostra; 90 °C; 30 % DES; fluxo 4 mL/min	CC: ácido málico mostrou melhor resultado para recuperar antocianinas e estabilidade térmica

Nota: Referências- ¹Chen e Lahaye (2021); ²Popovic *et al.* (2022); ³Panić *et al.* (2021); ⁴Chen, Falourd e Lahaye (2021); ⁵Gómez *et al.* (2019); ⁶Machado *et al.* (2015); ⁷Santos, Veggi e Meireles (2012); ⁸Wijngaard e Brunton (2009); ⁹Benvenuti *et al.* (2022).

Legenda: CC: Cloreto de colina; DES: solvente eutético profundo; HBD- Doador de hidrogênio; HBA-receptor de hidrogênio.

Além disso, Fan *et al.* (2020) propuseram a recuperação de compostos NADES como forma de reciclar o solvente para outro lote de extração. Para um cloreto de colina: Solvente de ácido láctico, a lavagem com acetato de etila precipita o cloreto e a fase superior com ácido láctico e acetato de etila pode ser separada por destilação. Isso pode elucidar o apelo sustentável dos solventes eutéticos profundos.

1.1.6 Celulose e bioeconomia

Uma biorrefinaria consiste em uma instalação abastecida por matéria-prima residual de outras indústrias, convertidas em compostos de alto valor, buscando otimizar recursos e minimizar efluentes, com objetivo de aproveitamento integral da biomassa, com menor impacto ambiental (Agroenergia, 2011). A busca por sustentabilidade promoveu o fomento do governo europeu em projetos para viabilização da bioeconomia. Esse conceito visa alcançar menor dependência de fontes de energia não renováveis, utilizando fontes de carbono sem causar impacto no meio ambiente, para obtenção de energia ou recuperação compostos de alto valor agregado.

As biorrefinarias surgem a partir da necessidade de concentrar o local de transformação dessa matéria-prima recuperada de outros processos industriais, utilizando tecnologias sustentáveis, para obtenção de energia, biogás e nanocelulose. Em especial, as biomassas lignocelulósicas, provenientes do processamento agroindustrial, aparecem como principal fonte de biomassa de segunda geração, para abastecimento das biorrefinarias (Hassan; Willians; Jaiswal, 2019).

Essa nova demanda mundial requer estudos mais aprofundados a fim de dimensionar os processos dentro de uma biorrefinaria, pois cada fonte de biomassa lignocelulósica apresenta uma composição característica, e demanda um tratamento específico para recuperação de compostos. Esse pré-tratamento é necessário para retirar compostos envoltórios da biomassa, e deixar a celulose e hemicelulose mais expostas durante a ação de enzimas hidrolíticas. Estudos com ultrassom (Hassan *et al.*, 2020) e ozônio (Souza-Corrêa *et al.*, 2013) vem sendo conduzidos para comprovar a importância do pré-processamento da biomassa para o rendimento na obtenção de bioetanol, enzimas e nanocelulose. Para a produção de bioetanol a partir de mosto cervejeiro, é necessária uma etapa de sacarificação enzimática, para liberação de açúcares redutores que serão submetidos à fermentação. O tratamento com equipamento ultrassônico, nesse caso, devido ao processo de cavitação, atua aumentando a exposição de celulose e hemicelulose, aumentando a eficiência de ação das enzimas hidrolíticas e, consequentemente, o rendimento de açúcares fermentescíveis no hidrolisado (Hassan *et al.*, 2020).

A biomassa lignocelulósica proveniente de agroindústria também pode ser aplicada como substrato de microrganismos para produção de enzimas, com alto valor comercial. O resíduo de grão de café, rico em hemicelulose, apresenta potencial para produção de xilanases, a partir da fermentação em estado sólido com *Aspergillus niger*, com posterior aplicação da enzima para clarificação de sucos de fruta (Ravindran; Willians; Jaiswal, 2019).

Celulose, hemicelulose e lignina, por sua estrutura biopolimérica, compõem a estrutura de sustentação das plantas. No organismo humano, atuam como fibras insolúveis, não digeridas, e auxiliam no movimento peristáltico do trato gastrointestinal, enquanto as fibras solúveis apresentam capacidade de reter água e formar gel, atuando como substrato para fermentação no intestino (Qiu; Yadav; Yin, 2017). Em análises de hemicelulose A e B e de fração rica de celulose, extraídas e isoladas de bagaço do sorgo, Qiu *et al.* (2017) observaram que a fração de celulose se mostrou insolúvel e resistente ao tratamento alcalino, sendo que entre 87- 97 % das fibras insolúveis ficaram retidas na fração de celulose. A maior retenção de fibras solúveis foi detectada na fração de hemicelulose obtida, em torno de 63 a 83 %, variando conforme o tratamento aplicado. A hemicelulose B obteve a maior solubilidade em água.

Bagaços oriundos de processamento industrial são fontes lignocelulósicas atualmente pouco aproveitados para recuperação desses compostos. Como visto na Tabela 3, esse resíduo agroindustrial apresenta potencial para recuperação de celulose, hemicelulose e lignina, visando produção de bioetanol ou nanocelulose, por exemplo. Esses resíduos agroindustriais são importantes porque compreendem materiais de segunda geração, não competindo com produção voltada para alimentação, como a cana-de-açúcar, soja, beterraba, milho, entre outros, cultivados tanto para alimentação humana quanto para produção de bioetanol. Por isso vem ganhando destaque como potencial fonte para sustentar biorrefinarias para conversão em bioprodutos de alto valor (Hassan; Willians; Jaiswal, 2019).

Tabela 3. Composição em % de celulose, hemicelulose e lignina da caracterização de bagaços industriais de maçã, uva, laranja, cana-de-açúcar, agave e café

Composição	Maçã¹	Uva²	Laranja ³	Cana-de-açúcar⁴	Agave⁵	Café⁶
<i>Celulose (%)</i>	21,22-32,62	19,30- 20,8	11,85-21,04	36,9	44,5	8,6
<i>Hemicelulose (%)</i>	14,75-23,60	7,20	9,75-15,58	20,6	25,3	33,5
<i>Lignina (%)</i>	18,5-25,38	15,60-32,5	1,67-3,50	38,5	20,1	31,1

Fonte: A autora. Nota: ¹Leonel *et al.* (2020), Hijose-Valsero, Paniagua-García e Díez-Antolínez (2017) e Kut *et al.* (2020); ² Coelho *et al.* (2018) e Corbin *et al.* (2015); ³Mariño, Rezende e Tasic (2018); ⁴Souza-Corrêa (2013); ⁵Hinestroza *et al.* (2019); ⁶Ravindran *et al.* (2017).

De acordo com o método de extração e suas características específicas, a nanocelulose pode ser categorizada em três grupos: celulose nanocristalina, celulose nanofibrilada e nanocelulose bacteriana. Geralmente, pré-tratamentos são necessários para deixar a celulose mais exposta, removendo os componentes envoltórios (hemicelulose e lignina). A celulose nanocristalina (CNC) tem o diâmetro entre 5-10 nm e largura entre 500-1000 nm, normalmente

extraída por hidrólise ácida, como mencionado pelos autores Kian *et al.* (2020) na extração de CNC de haste de oliveira. Após o processo de branqueamento das fibras com clorito de sódio (2 % m/v) e tratamento alcalino com hidróxido de sódio (5 % m/v), as amostras foram submetidas à hidrólise ácida com ácido sulfúrico (35 %) a 40-50 °C em diferentes tempos. O rendimento de CNC da haste de oliveira foi de 15-10 %, e as amostras analisadas apresentaram boa estabilidade térmica e estrutura cristalina, indicando o potencial para aplicações como reforço de estrutura. Esse método convencional de extração, no entanto, utiliza solventes altamente poluentes.

Metodologias ecologicamente corretas têm sido aplicadas para a produção de nanocelulose, principalmente substituindo produtos químicos convencionais por solventes eutéticos profundos devido ao seu apelo natural. Fan *et al.* (2020) utilizaram um ácido láctico: cloreto de colina (2:1) DES para hidrolisar a parte amorfa da celulose extraída do bagaço de uva. O ácido láctico é amplamente utilizado como HBD misturado com cloreto de colina como HBA visando a deslignificação de matrizes lignocelulósicas a fim de expor a celulose (Fan *et al.*, 2020; Alvarez-Vasco *et al.*, 2016). Como o DES pode ser recuperado do processo, ele aparece como um método de deslignificação mais sustentável comparando aos solventes convencionais previamente elucidados.

A oxidação pelo método de persulfato de amônio, um produto químico menos perigoso, parece ser uma opção mais sustentável para remover lignina e hemicelulose da matriz de celulose. Oun e Rhim (2017) obtiveram CNC de forros de algodão com alto potencial para melhorar as propriedades do biopolímero para diversas aplicações.

A celulose nanofibrilada (CNF) tem característica mais alongada e flexível, com diâmetro de 1-100 nm e comprimento 500-2000 nm, sendo obtida geralmente por métodos mecânicos de redução, como a micronização. Os autores Lu *et al.* (2020) submeteram o bagaço de maçã industrial lavado e seco ao moinho de impacto, seguido de moinho úmido de alta energia para obter as nanopartículas. As amostras foram retiradas em diferentes tempos de processamento e a temperatura foi mantida a 25 °C. Esse processo provoca a destruição da fase cristalina, tornando a celulose amorfa. As partículas micronizadas obtidas desse processo apresentaram potencial para serem aplicadas como emulsificantes na indústria alimentícia, obtidas através de um processo simples, sustentável e de baixo custo.

Do ponto de vista nutricional, a nanocelulose fibrilada pode exercer uma ação hipoglicêmica durante a digestão, devido às suas propriedades de reter de glicose na fibra, retardar a liberação de glicose durante o trato gastrointestinal e inibir a ação de enzimas amiláceas no intestino (Liu *et al.*, 2018). Yan *et al.* (2018) analisaram o efeito da nanocelulose

extraída de casca de arroz para absorção de nitrito de sódio e gordura durante o trato gastrointestinal, e os resultados positivos indicaram o potencial do produto como ingrediente para alimentos funcionais, pois a nanocelulose obtida auxiliou na remoção dos compostos mencionados, em simulações de digestão *in vitro*.

A nanocelulose bacteriana (NB) não é extraída de biomassa lignocelulósica, mas produzida por microrganismos do gênero *Gluconacetobacter*. A síntese da celulose em tamanho nanométrico, formando redes, ocorre a partir da fermentação em um meio que forneça uma fonte de carbono, sintético ou a partir de resíduos agroindustriais (Molina-Ramírez *et al.*, 2020). Dentro da indústria de alimentos, a nanocelulose bacteriana pode ser aplicada como cobertura para proteção de prebióticos, adicionados em alimentos funcionais, evitando a sua deterioração e promovendo estabilidade quando submetido a processos de secagem ou condições gastrointestinais (Khorasani; Shojaosadati, 2016).

De acordo com a composição do meio, a fonte de carbono e a concentração, a nanocelulose bacteriana obtida apresentará características e rendimento diferentes. Utilizando cepas de *Komagataeibacter medellinensis*, por exemplo, o rendimento de nanocelulose foi melhor em meio rico em glicose, enquanto as fibras obtidas em meio com frutose apresentaram baixa porosidade e maior cristalinidade (Molina-Ramírez *et al.*, 2017).

1.2 CONCLUSÃO

A partir dessa revisão da literatura, percebe-se o potencial do bagaço de maçã e do bagaço de uva para abastecer uma biorrefinaria. Por serem materiais derivados de um processo industrial, são considerados matéria-prima de segunda geração, e não competem com demais alimentos como milho, soja e produtos agrícolas destinados à alimentação humana. Juntamente com tecnologias de apelo sustentável, parece ser possível a recuperação de compostos fenólicos, pectina e celulose, dentro do conceito de economia circular e bioeconomia. Sendo assim, nos próximos capítulos essa teoria será aplicada em escala de laboratório.

CAPÍTULO 2- CONCEITO DE BIORREFINARIA APLICADO PARA RECUPERAÇÃO DE CELULOSE E COMPOSTOS DE ALTO VALOR ORIUNDOS DE BAGAÇO DE MAÇÃ INDUSTRIAL

RESUMO

O resíduo agroindustrial de bagaço de maçã aparece como o principal resíduo sólido do processamento de sucos e sidras, correspondendo a 25-45% do peso total da fruta processada. Considerando que seu descarte pode ser um desafio para a indústria, podendo ser fonte de compostos fenólicos, pectina e celulose, muitos estudos enfatizam a avaliação da recuperação de fenólicos e pectinas. Porém, mesmo após a extração, a fração lignocelulósica persiste. Assim, este trabalho de pesquisa tem como objetivo investigar o potencial tecnológico do bagaço de maçã dentro de uma perspectiva de biorrefinaria para a recuperação de compostos de alto valor e produção de celulose. Foram obtidos extratos de açúcares solúveis e ácidos orgânicos (Extrato 1), compostos fenólicos (Extrato 2) e pectina (Extrato 3) na Fase 1, utilizando solvente verde. A fração lignocelulósica restante foi submetida a ultrassom combinado com solvente eutético profundo (cloreto de colina: ácido láctico) para atingir a deslignificação na Fase 2, utilizando planejamento fatorial Box-Behnken. Para finalizar, a celulose foi produzida através de método oxidativo com persulfato de amônio na Fase 3. No Extrato 1 foram identificados glucose (5 %), frutose (21 %), sacarose (2 %) e ácido málico (5 mg/mL). O Extrato 2 obtido apresentou 333 mg ácido clorogênico/ L e atividade oxidante de 951 μmol trolox equivalente/L para FRAP. Com relação ao bagaço seco (4 % umidade), houve 3 % de rendimento da pectina seca obtida com grau de esterificação de 92 %. Os parâmetros de 60 °C, concentração do DES 100 % e proporção soluto/solvente de 1:30 m/v foram aplicados para remoção da lignina da fração lignocelulósica da Fase 2. Assim, na Fase 3, foi possível obter celulose em tamanho micro após 20 horas de tratamento, finalizando o ciclo de aproveitamento do bagaço de maçã. O balanço de massa indica que após a Fase 1, a matéria lignocelulósica reduz para 45 % da massa inicial, finalizando com um rendimento de 5 % de celulose. Os resultados demonstram o potencial tecnológico do bagaço de maçã como matéria-prima de segunda geração para abastecimento de uma biorrefinaria, bem como os produtos de alto valor agregado obtidos apresentam possibilidade de serem inseridos em outros processos industriais.

Palavras-chave: *Malus domestica*; cloreto de colina; compostos fenólicos; bioeconomia.

2.1 INTRODUÇÃO

A produção mundial de maçã em 2022 atingiu 96 milhões de toneladas (FAOStat database, 2024). O consumo global de sucos e néctares em 2017 atingiu 36 bilhões de litros, com predominância do consumo da União Europeia (UE), com 9.187 milhões de litros, enquanto a América Latina abrange 3.436 milhões de litros (AIJN, 2018). Dentro desse cenário da agroindústria da maçã, um dos desafios é o escoamento do bagaço do processamento do suco e da sidra. Esse resíduo, que representa cerca de 25 a 45% do peso dos frutos, pode ser

classificado como subproduto e encaminhado para posterior processamento (Lopes-Rodulfo *et al.*, 2024; Waldbauer; Mckinnon; Kopp, 2017).

O bagaço de maçã em geral é composto por 70-75% de epicarpo, 2-3% de sementes e 0,4-0,9% de pedúnculo (Carson; Collins; Penfield, 1994). Porém, também guarda compostos cuja recuperação pode ser interessante para outras indústrias alimentícias, químicas e farmacêuticas (Leonel *et al.*, 2020; Hijosa-Valsero; Paniagua-García; Díez-Antolínez, 2017; Kut *et al.*, 2020; Gama; Van Dyck; Pletschke, 2015; Magyar *et al.*, 2016; Alberti *et al.*, 2017).

Esses compostos apresentam alto valor agregado portanto, o bagaço de maçã surge como um resíduo industrial com potencial para ser explorado por biorrefinarias. Em particular, a biomassa lignocelulósica, proveniente do processamento agroindustrial, surge como a principal fonte de biomassa de segunda geração, para abastecer as biorrefinarias (Hassan; Willians; Jaiswal, 2019). No caso particular do bagaço de maçã, uma potencial biorrefinaria pode ser composta por quatro fases principais: recuperação de açúcares, compostos fenólicos, pectina e obtenção de celulose.

Na literatura, muitos estudos têm explorado o potencial do bagaço de maçã para a recuperação de compostos fenólicos. Porém, a extração dos compostos fenólicos do bagaço não tem impacto significativo no volume do resíduo gerado pela indústria, e o material lignocelulósico permanece sem apresentar solução adequada para sua disposição.

Uma composição industrial geral de bagaço de maçã pode ser encontrada na literatura. A celulose (21-32%), a hemicelulose (15-24%) e a lignina (19-25%) (Leonel *et al.*, 2020; Hijosa-Valsero; Paniagua-García; Díez-Antolínez, 2017; Kut *et al.*, 2020) remanescentes na fração lignocelulósica sugerem o potencial de uso para recuperação de nanocelulose. Pré-tratamentos são necessários para deixar a celulose mais exposta, removendo os componentes do invólucro (hemicelulose e lignina). Tecnologias com apelo *eco-friendly* vem sendo aplicadas para extrair compostos de interesse da matriz vegetal como ultrassom e micro-ondas, juntamente com solventes eutéticos profundos (DES).

O conceito de DES sugere que em uma proporção específica, dois compostos químicos sólidos podem ser misturados em seus pontos de fusão, produzindo um líquido estável à temperatura ambiente. A estabilidade depende da proporção e da estrutura química dos compostos misturados (Dai *et al.*, 2013). Esse solvente é obtido a partir de dois ou mais compostos sólidos estando um aceptor de ligação de hidrogênio (HBA) e os outros doadores de ligação de hidrogênio (HBD). Cloreto de colina é o HBA amplamente aplicado enquanto ácido cítrico, ácido málico, ácido oxálico, glicose, frutose e glicerol são os compostos HBD mais encontrados na literatura (Benvenuti *et al.*, 2020; Chen; Lahaye, 2021; Popovic *et al.*, 2022).

Para este estudo, o DES a partir de cloreto de colina e ácido láctico (CC:LA) foi selecionado para promover a delignificação da biomassa. Francisco, Bruinhorst e Kroon (2012) mostraram que os solventes CC:LA aumentam a remoção de lignina com o aumento da acidez ao mesmo tempo em que a fração de celulose é preservada. O uso de DES para delignificação é elucidado pelos autores em Smink *et al.* (2019), especificamente o papel do cloreto de colina e do ácido láctico DES em experimentos com chips de *Eucalyptus globulus*. Os resultados mostraram que o ânion cloreto tem um efeito ativo sobre o CC e na lignina da madeira moída sugerindo que a quebra da ligação β -O-4 é aumentada com a adição de DES.

Equipamentos de ultrassom ou banhos de ultrassom também têm sido aplicados em estudos de tratamento de resíduos industriais para recuperação de compostos, devido ao efeito de extração de bolhas de cavitação (Ravindran *et al.*, 2017). O equipamento emite ondas que provocam compressão e rarefação das moléculas, gerando bolhas de cavitação, que atingem uma temperatura superficial acima de 5.000 K e uma pressão maior que 50.000 kPa. Isso faz com que as bolhas estourem, expulsando o gás de dentro e causando o cisalhamento das células próximas (Tiwari *et al.*, 2009).

Assim, este capítulo visa a extração sequencial de compostos de alto valor do bagaço de maçã (açúcares solúveis, compostos fenólicos e pectina), remoção da lignina com técnicas verdes como DES/ultrassom e finalmente, a produção de celulose a partir da fração lignocelulósica remanescente.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Material

A maçã Gala foi adquirida no comércio local (Ponta Grossa, Paraná, Brasil). Cloreto de colina e reagentes de Folin-Ciocalteu, Trolox (6 -hidroxi - 2,5,7,8 -tetrametilcromano - 2- ácido carboxílico), DPPH (2,2- difenil-2-picrilhidrazil), ABTS (2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazolil - 6- ácido sulfônico) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (EUA). Reagentes para cromatografia líquida utilizados possuíam grau HPLC (High Performance Liquid Chromatography), e os demais reagentes dos experimentos de grau analítico.

2.2.2 Metodologia

a) Obtenção do bagaço de maçã

O bagaço de maçã foi obtido a partir do processamento do suco (Figura 3) sendo 36 kg de maçã Gala higienizados (200 mg/L de hipoclorito de sódio durante 20 minutos), lavados e processados em triturador-prensa industrial (AGM Máquinas, 70 L/h, RS, Brasil).

Figura 3. Imagens do processamento de suco de maçã para obtenção do bagaço.

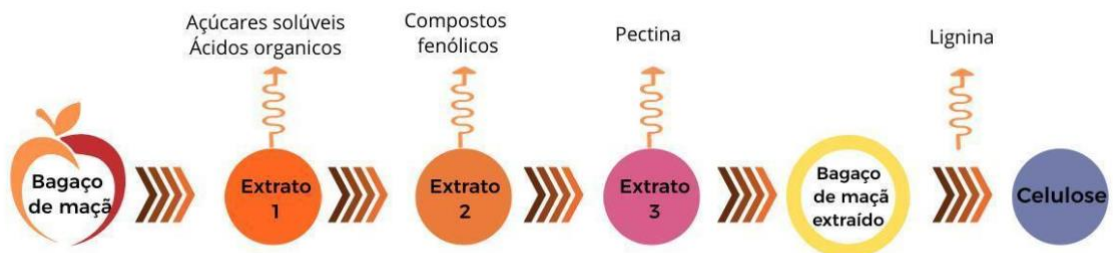


Legenda: A-seleção; B- sanitização; C- enxague; D e E- trituração; F- prensagem; G-despectinização; H- Suco despectinizado (a esquerda).

Fonte: A autora.

O bagaço foi seco em estufa de circulação forçada de ar (60 °C/24h) e moído. O bagaço de maçã moído foi armazenado em sacos plásticos até análise posterior. O processamento seguiu o esquema apresentado na Figura 4.

Figura 4. Perspectiva de uma biorrefinaria de bagaço de maçã.



Fonte: A autora

O bagaço seco prosseguiu para as fases 1, 2 e 3, elucidadas a seguir.

b) Fase 1: Extração de açúcares solúveis, compostos fenólicos e pectina

O primeiro passo dentro do conceito de biorrefinaria de bagaço de maçã consistiu na recuperação de compostos de alto valor antes da remoção da lignina. Três metodologias foram aplicadas com diferentes temperaturas e solventes visando um componente alvo para evitar a extração concomitante.

A primeira metodologia visa a recuperação dos açúcares solúveis (glicose, frutose e sacarose), que permanecem no bagaço após a prensagem do suco, e foi adaptada de Queji *et al.* (2010). O bagaço imobilizado em tecido morim foi inserido em um recipiente de vidro com água destilada (1:5 m/v) e mantido a 40 °C por 15 minutos. A temperatura amena permitiu a extração dos açúcares solúveis sem interferir na posterior recuperação dos compostos fenólicos. A imobilização do bagaço facilita a separação do solvente posteriormente. Os açúcares redutores totais foram quantificados conforme Santos *et al.* (2018) e para identificação dos ácidos orgânicos extraídos foi utilizado o protocolo CLAE descrito na próxima seção. Essa solução aquosa foi denominada **Extrato 1**.

O bagaço imobilizado seguiu para uma solução de etanol (60% v/v) na proporção de 1:5 m/v. O solvente a base de etanol e água foi selecionado devido a sua classificação GRAS (*generally recognised as safe*) e boa eficiência na extração de ácido clorogênico e glicosídeos de quercetina (Benvenuti *et al.*, 2022), sendo um solvente com toxicidade mínima, fácil separação do soluto e baixo impacto ambiental (Hijo *et al.*, 2022). A extração foi adaptada de Pollini *et al.* (2020) em que o sistema bagaço/solvente a 50 °C por 20 minutos foi mantido em banho de ultrassom promove cavitação na célula da matriz vegetal, e ajuda a liberar os compostos fenólicos aglutinados que ficam no bagaço enquanto a temperatura amena aumenta a eficiência da extração. O bagaço imobilizado seguiu para a próxima extração e o **Extrato 2** foi armazenado até posterior análise sendo o perfil fenólico obtido de acordo com Alberti *et al.* (2014) como descrito anteriormente.

Para a extração da pectina, utilizou-se o protocolo proposto pelos autores em Chen e Lahayde (2021). Nessa etapa, o bagaço não foi imobilizado para permitir maior área e contato com o solvente. Visto que a pectina é extraída no processo, o bagaço pode ser filtrado à vácuo com maior facilidade do que aconteceria nas etapas anteriores, em que a pectina provocava o intumescimento do bagaço. O bagaço foi disperso em uma solução de ácido cítrico 10 % (m/v;

pH 2,5), na proporção soluto/solvente de 1:10 e mantido a 80 °C por 180 minutos em banho-maria com temperatura controlada e agitação. A suspensão foi filtrada em tecido morin e o filtrado e armazenado.

A precipitação da pectina ocorreu com a adição de 2 volumes de etanol absoluto a 4 °C, mantida sob refrigeração por 24 horas. A pectina recuperada foi seca em estufa de circulação de ar a 60 °C. O rendimento foi calculado em porcentagem e a pectina analisada através de método titulométrico e análise por equipamento infravermelho (IR). A fração lignocelulósica restante do bagaço foi seca em estufa de ar forçado (60 °C/ 24 h) e armazenada até a próxima etapa.

c) Fase 2: Remoção da lignina

A primeira etapa visou a recuperação de compostos de alto valor do bagaço de maçã antes da remoção da lignina. A segunda etapa consistiu em determinar o ponto ótimo para remover a lignina da fração lignocelulósica remanescente, a fim de facilitar a exposição da celulose para Fase 3. A sonda de ultrassom (Sonics Vibracell, VCX 750, probe 25 mm) combinada com um solvente eutético profundo (DES) foi aplicada nas amostras do planejamento fatorial elaborado.

Para a matriz celulósica avaliada neste estudo, o solvente DES, obtido com cloreto de colina como componente HBA (*hydrogen bond acceptor* ou aceptor de hidrogênio) e ácido láctico como componente HBD (*hydrogen bond donor* ou doador de hidrogênio), aparece na literatura como uma opção mais usual e seletiva para separação de lignina da fração lignocelulósica de resíduos vegetais (Fan *et al.*, 2020; Alvarez-Vasco *et al.*, 2016).

O preparo da solução DES consistiu na mistura de cloreto de colina em ácido láctico na proporção molar de 1:2 (m/v). Em um béquer, os componentes foram pesados e mantidos em uma chapa de aquecimento a 60 °C por 60 minutos, com agitação magnética (Fan *et al.*, 2020; Alvarez-Vasco *et al.*, 2016). Esse solvente foi utilizado para as amostras, variando sua concentração, bem como a temperatura e razão massa/volume, de acordo com o ponto obtido por planejamento fatorial.

Os pontos de tratamento para cada amostra de bagaço extraído foram obtidos analisando 3 fatores de concentração, temperatura e razão soluto/solvente e 3 níveis codificados (-1,0,1) com o software Statística® 13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA). Os níveis reais utilizados foram 50, 75 e 100 para concentração do DES (%), 40, 50 e 60 para temperatura (°C)

e 10, 20 e 30 para razão soluto (m)/solvente (V). A temperatura foi mantida com banho de gelo e aferição contínua do aparelho. Os 15 pontos obtidos estão organizados na Tabela 4.

Tabela 4. Planejamento fatorial Box-Behnken para extração da lignina de bagaço de maçã assistida com ultrassom.

Amostra	Concentração (%)	Temperatura (°C)	Razão (m/V)
1	50 (-1)	40 (-1)	1/20 (0)
2	100 (1)	40 (-1)	1/20 (0)
3	50 (-1)	60 (1)	1/20 (0)
4	100 (1)	60 (1)	1/20 (0)
5	50 (-1)	50 (0)	1/10 (-1)
6	100 (1)	50 (0)	1/10 (-1)
7	50 (-1)	50 (0)	1/30 (1)
8	100 (1)	50 (0)	1/30 (1)
9	75 (0)	40 (-1)	1/10 (-1)
10	75 (0)	60 (1)	1/10 (-1)
11	75 (0)	40 (-1)	1/30 (1)
12	75 (0)	60 (1)	1/30 (1)
13	75 (0)	50 (0)	1/20 (0)
14	75 (0)	50 (0)	1/20 (0)
15	75 (0)	50 (0)	1/20 (0)

Nota: Valores codificados estão entre parênteses.

No equipamento ultrassônico (Sonics Vibra Cell, VCX 750), com probe de 25 mm, a mistura de bagaço extraído e DES (CC: LA) foi submetida à ultrasonicação, com 60 % de amplitude de onda por 15 minutos, de acordo com os parâmetros indicados nos pontos.

Após o tratamento, a reação foi interrompida com adição de água deionizada (25 mL) e filtrada a vácuo. O solvente com a lignina removida foi separado, enquanto a amostra de bagaço submetida à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C durante 12 horas.

Análise do teor de lignina que permaneceu no bagaço

O teor de lignina foi avaliado tanto com o bagaço extraído (obtido na Fase 1), para compreender a porcentagem total de lignina que havia no material, quanto para cada amostra de bagaço após tratamento dos pontos anteriores, a fim de medir a porcentagem de lignina removida em cada ponto.

A metodologia seguida foi a do *National Renewable Energy Laboratory-NREL* (Sluiter *et al.*, 2008), em que 3 mL de solução de ácido sulfúrico (72%) foram adicionados a 0,3 g de bagaço e agitados. A mistura foi mantida em banho-maria a 30 °C, seguido da diluição do ácido a 4% com adição de 84 mL de água. A solução foi autoclavada a 121 °C durante 1 hora e a amostra filtrada sob vácuo com cadinho de filtração calcinado. A fração sólida retida no cadinho corresponde à lignina insolúvel e, na fração líquida, a lignina solúvel (LAS) seguiu para medição da absorbância no comprimento de onda de 420 nm (Mini UV 1240, Shimadzu).

O cadinho com a fração sólida secou durante a noite em estufa de ar forçado a 105 °C e a massa de lignina seca (LAI) foi quantificada usando uma balança analítica. Em seguida, os cadinhos foram alocados em uma mufla a 525 °C por 6 horas para análise do teor de cinzas. As equações utilizadas para quantificar a lignina total presente nas amostras após o tratamento de remoção estão descritas a seguir (Sluiter *et al.*, 2008).

Com a Equação 1, determinamos a massa da amostra seca, para em seguida calcular a porcentagem de sólido ácido residual (Equação 2) e lignina insolúvel ácida (Equação 3).

$$m_{seca} = \frac{m_{seca} \times \%_{\text{solidos totais}}}{100} \quad \text{Equação 1}$$

$$\%_{RIA} = \frac{m_{cad+RIA} - m_{cad}}{m_{seca}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

$$\%_{LAI} = \frac{(m_{cad+RIA} - m_{cad}) - (m_{cad+cinzas} - m_{cad})}{m_{seca}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

A porcentagem de lignina ácida solúvel, obtida através da leitura da absorbância da fração líquida, pode ser calculada através da Equação 4.

$$\%_{LAS} = \frac{UV_{abs} \times V_{filtrado} \times \text{diluição}}{\varepsilon \times m_{seca} \times \text{caminho óptico}} \quad \text{Equação 4}$$

Onde: UV abs= absorbância média em 240 nm (específica para bagaço); ε = absortividade em 240 nm (25 L/ g cm); $V_{filtrado}$ = 86,73 mL; m_{seca} = massa da amostra em mg; caminho óptico = 1 cm.

A partir dos resultados obtidos, a metodologia de superfície de resposta foi aplicada para determinar o ponto ótimo para remoção de lignina.

d) Fase 3: Produção da celulose

A partir do ponto ótimo determinado na Fase 2, o bagaço seco após a extração de lignina seguiu para a última etapa, a produção de celulose por método oxidativo. A produção de celulose seguiu o protocolo sugerido por Leung *et al.*, (2011) com modificações. Uma solução de 1M de persulfato de amônio preparada foi adicionada ao bagaço extraído seco, na proporção de 10 g de amostra para 1 L de solução. A mistura foi mantida em banho maria a 60 °C por 16 h, filtrada a vácuo e submetida à secagem em estufa a 105 °C até massa constante.

Para a redução a tamanho nano das partículas de celulose, a amostra acondicionada em um béquer, foi adicionada de água destilada na proporção de 2 % de celulose seca (m/V) e submetida à sonificação em equipamento ultrassônico (Sonics Vibra-Cell, VCX 750), com 70 % da amplitude, durante 30 minutos. A temperatura final da amostra alcançou 50 °C, sendo mantida em banho de gelo. Para obter a amostra seca de nanocelulose, a suspensão congelada (- 7 °C) passou por liofilização (Solab científica, SL-404, -40 °C, -700 mmHg), durante 48 horas.

e) Análises Fase 1: Açúcares solúveis, ácidos orgânicos, compostos fenólicos e pectina

Determinação de açúcares solúveis

A determinação dos açúcares solúveis (glucose, frutose e sacarose) utilizou o equipamento de CLAE acoplado com sistema de Detector de Índice de Refração, de acordo com a metodologia proposta por Santos *et al.* (2018), em que os resultados foram expressos em g/100g. Essa metodologia utiliza sistema de eluição isocrática, com fase móvel de ácido sulfúrico 0,005 M em solução aquosa, fluxo de 0,5 mL por minuto e injeção de 10 µL de amostra, mantendo a coluna e o detector a 30 °C.

Determinação de ácidos orgânicos por CLAE

A determinação dos ácidos orgânicos utilizou Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC 2695 Alliance, Waters, EUA) de acordo com Santos *et al.* (2018). O extrato foi filtrado em filtro seringa (0,22 µm de nylon) antes das análises. O sistema de HPLC acoplado a um detector de arranjo de fotodiodos PDA 2998 (Waters, Milford, MA, EUA). A quantificação

ocorreu em um sistema de eluição isocrática com uma solução aquosa de ácido sulfúrico 0,005 M em fluxo de 0,5 mL/min. A coluna Aminex HPX-87H (300 x 7,8 mm) foi mantida a 30 °C e a detecção das amostras ocorreu por comparação dos tempos de retenção do padrão de referência de ácido málico.

Compostos fenólicos totais

A determinação de compostos fenólicos totais dos extratos foi realizada de acordo com o método apresentado por Singleton e Rossi (1965), em que a leitura das absorbâncias é efetuada em espectrofotômetro no comprimento de onda a 720 nm. As concentrações foram calculadas a partir de uma curva padrão de ácido clorogênico ($y = 0,000489x - 0,00445$; $R^2: 0,99$) previamente preparada, e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido clorogênico por litro (mg EAC/L).

Atividade antioxidante

A determinação de atividade antioxidante dos extratos foi realizada através do método de FRAP (Benzie; Strain, 1996) baseia-se na redução do íon férrico para íon ferroso, devido ao poder redutor dos antioxidantes presentes nos extratos analisados, gerando a mudança de tonalidade da mistura, que pode ser medida através da absorbância em 595 nm (curva $y = 0,00116x - 0,0444$; $R^2: 0,98$). Os resultados foram obtidos por meio de curva de calibração previamente preparada e expressos em equivalente de Trolox por litro de amostra ($\mu\text{mol TE/L}$).

Caracterização da Pectina

Para a caracterização titulométrica da pectina, uma titulação da pectina umedecida em etanol absoluto e solubilizada em água deionizada em duas etapas permitiu caracterizar o grau de esterificação. O pH inicial da solução foi medido ($\text{pH}_{\text{inicial}}$). A titulação com NaOH 0,1 mol/L neutralizou os ácidos anidrogacturônicos presentes na amostra (volume gasto = V_1). A saponificação foi realizada com a adição de 10 mL de NaOH 0,25 mol/L, mantido por 30 minutos em temperatura ambiente e neutralizada com 10 mL de solução HCl 0,25 mol/L. Uma segunda titulação foi conduzida com NaOH 0,1 mol/L, onde o volume gasto corresponde à V_2 , e mediu-se o pH final da solução de pectina (pH_{final}) (Fertonani *et al.*, 2006).

A partir desses valores, através das equações a seguir (Quadro 4), houve a caracterização da amostra de pectina.

Quadro 3. Equações para caracterização da pectina.

	Equação		Equação
Quantidade de massa por mEq (Z)	$\frac{m_{\text{pectina}}}{mEq_{\text{total}}}$ (Equação 5)	Percentual de ácidos galacturônico ($F_{\text{ácida}}$)	$AUA_{\%} + MeO_{\%}$ (Equação 6)
Teor de resíduos galacturônicos (AUA %)	$\frac{17600}{Z}$ (Equação 7)	Percentual de açúcares neutros (F_{neutra})	$100 - F_{\text{ácida}}$ (Equação 8)
Teor de metoxilas (MeO%)	$\frac{(mEq'' \times 31 \times 100)}{m_{\text{pectina}}}$ (Equação 9)	Grau de esterificação (DE)	$\frac{176}{31} + \frac{MeO}{AUA}$ (Equação 10)
Miliequivalente grama NaOH (carboxilas livres)	$mEq' = V_1 \times f$ (Equação 11)	Miliequivalente grama NaOH (carboxilas esterificadas)	$mEq'' = V_2 \times f$ (Equação 12)

Legenda: AUA- ácidos galacturônicos; MeO- metoxilas; F- fração; DE- grau de esterificação.; V-volume.

Fonte: Fertoni *et al.* (2006).

f) Análises instrumentais: pectina e celulose

Espectroscopia na região do infravermelho médio (IR)

Foi realizada varredura em espectrofotômetro (Shimadzu / IRPrestige-21), na faixa de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} , com amostra previamente macerada e prensada em pastilhas de KBr (1 % m/m). O grau de esterificação da pectina (DE) pode ser calculado a partir da área do pico dos grupos de carboxilas livres (1630 cm^{-1}) e dos grupos esterificados (1750 cm^{-1}), utilizando as equações a seguir (Naqash *et al.*, 2021; Güzel; Akpınar, 2019).

$$DE = 124,7 \times R + 2,2013 \text{ sendo } R = A_{1740} \div (A_{1740} + A_{1630}) \times 100 \quad (\text{Equação 13})$$

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Utilizando equipamento de microscopia eletrônica de varredura (MIRA3, TESCAN), foram obtidas imagens para análise da morfologia da celulose produzida.

g) Métodos estatísticos

Todos os resultados obtidos neste trabalho foram expressos como média seguida do desvio padrão amostral, em que as diferenças significativas dos valores médios entre os tratamentos passaram por análise de variância (ANOVA), seguido de *post hoc* Tukey (Jamovi cloud). O planejamento fatorial obtido por Box-Behnken (tópico 2.2.2.c) e a superfície de resposta foram obtidos pelo software Statistica® 13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA). As imagens foram criadas e desenhadas no programa Canva.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Aproveitamento do bagaço de maçã em uma biorrefinaria

O bagaço úmido (4,5 %) de maçã utilizado para o experimento correspondeu a 21 % do rendimento das maçãs utilizadas para o processamento de suco. Esse valor demonstra a quantidade significativa de bagaço produzido em escala industrial capaz de ser reaproveitado. Como visto na Figura 5, uma solução de ácidos orgânicos e açúcares solúveis pode ser extraída com água a 40 °C, bem como, um extrato de composto fenólicos pode ser obtido em uma segunda extração, a 50 °C com solvente etanol 60% (v/v). A quantificação de açúcares solúveis e ácidos orgânicos do Extrato 1, e a composição fenólica e atividade antioxidante do Extrato 2 podem ser observados na Tabela 5 e serão discutidos no próximo tópico.

Figura 5. Aproveitamento do bagaço de maçã dentro do conceito de biorrefinaria



Fonte: A autora

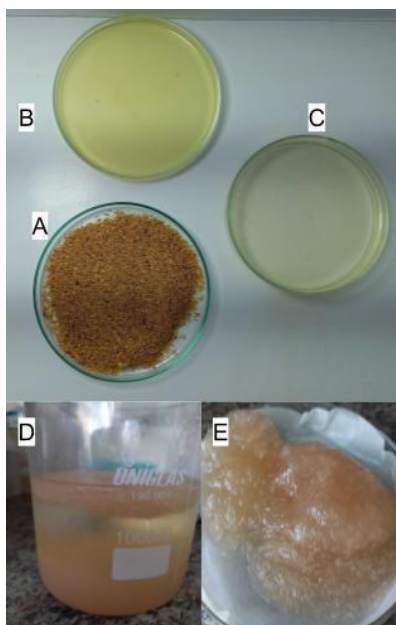
O rendimento do bagaço extraído seco foi de 47 % com relação à massa de bagaço seco inicial. Nessa primeira etapa, destaca-se que o etanol utilizado para precipitação de pectina pode ser recuperado através de destilação dentro da própria unidade de processamento e reutilizado novamente como solvente. Seguindo para a Fase 2, os resultados serão analisados no próximo tópico, porém analisando dentro da perspectiva de uma biorrefinaria, o uso de solvente eutético profundo assistido de equipamento ultrassom para remoção da lignina mostrou-se eficiente e condizente com o apelo mais ecológico. Comparado aos solventes convencionais, esses são menos tóxicos, e neste caso, a precipitação da lignina é possível com adição de etanol, sendo possível a separação das fases.

Finalizando com a Fase 3, a produção de celulose por meio do método oxidativo de persulfato de amônio, comparada aos métodos convencionais, mostra-se menos agressiva e com maior apelo *eco-friendly*. O rendimento final de celulose correspondeu a 10 % com relação à massa da amostra utilizada para a oxidação. Assim, foi possível, em escala laboratorial, reproduzir uma perspectiva de biorrefinaria abastecida com bagaço de maçã oriundo de processamento de suco.

2.3.2. Análise dos extratos obtidos na Fase 1

Na Figura 6 podem ser observados os produtos obtidos na Fase 1. Os extratos 1 e 2 apresentam coloração mais amarelada, enquanto a pectina extraída, uma coloração de tonalidade marrom, que condiz com as características encontradas na literatura.

Figura 6. Extrações obtidas a partir do bagaço de maçã na Fase 1.



Legenda: A- Bagaço de maçã seco e moído; B- Extrato 1 (açúcares solúveis e ácidos orgânicos); C- Extrato 2 (compostos fenólicos); D- Precipitação da pectina no extrato 3 e; E- pectina precipitada.

Os açúcares solúveis presentes no Extrato 1 identificados por cromatografia líquida correspondem a glucose (5,2 %), frutose (20,7 %) e sacarose (2,0 %), referente ao bagaço seco (4 % umidade). Em Eblaghi *et al.* (2021), esses açúcares também corresponderam a aproximadamente 20% do bagaço, sendo 736, 274 e 66 $\mu\text{mol/L}$ para frutose, glucose e sacarose, respectivamente. O ácido málico pode ser identificado e quantificado por CLAE no Extrato 1, com 55 mg/ 100 mL. Na Tabela 5 estão dispostos os resultados das análises espectrofotométricas com relação aos compostos fenólicos e atividade antioxidante do Extrato 2, assim como os extratos obtidos com metanol e acetona, a fim de comparação.

Tabela 5. Análises de compostos fenólicos e atividade antioxidante FRAP em bagaço de maçã nos extratos.

	CF totais	FRAP
Extrato 2 (etanol)	333 ^c ± 14	951 ^b ± 5
Extrato metanol	372 ^b ± 40	1418 ^b ± 113
Extrato acetona	436 ^a ± 92	2376 ^a ± 132

Legenda: Compostos fenólicos (CF) totais: expressos em mg ácido clorogênico /L; FRAP: expresso em $\mu\text{mol TE/L}$.

Cossignani *et al.* (2023) encontraram valores entre 0,33 e 1,24 mg TE/g para FRAP, analisando bagaço de maçã Royal Gala com diferentes formas de secagem e tamanho de partícula, fatores que demonstraram uma influência significativa para os resultados de análise antioxidante. Benvenuti *et al.* (2022) quantificaram 212 mg/ kg de ácido clorogênico em bagaço de maçã Fuji, com extração em solução de etanol 60 % a 50 °C, durante 20 minutos, na proporção 1/20 (m/v). O tamanho da partícula também influencia na extração dos compostos (Cossignani *et al.*, 2023). Apesar do solvente acetona promover maior extração, acetona e metanol são solventes orgânicos tóxicos, tanto para o manipulador quanto em caso de ingestão ou inalação acidental (Joshi; Adhikari, 2019).

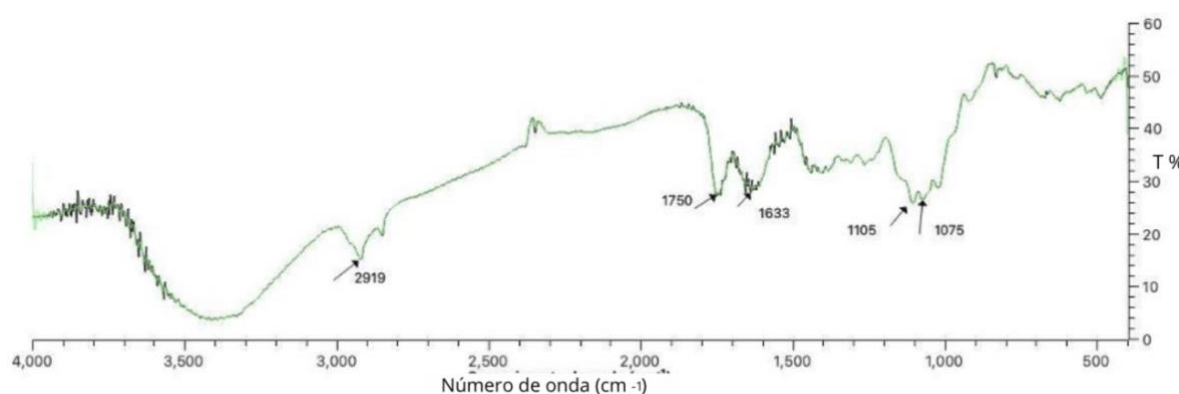
Pensando em escala industrial, onde altas quantidades de solvente seriam necessárias, o impacto ambiental gerado, bem como a segurança alimentar e de manipuladores pode estar comprometida utilizando esses solventes. Com etanol e temperatura amena (50 °C), o extrato 2 recuperou compostos fenólicos que contribuíram para a atividade antioxidante do produto. Com relação a atividade antioxidante, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre o extrato etanólico e metanólico.

Com ressalvas, pode-se dizer que a ingestão de etanol é mais segura, enquanto o metanol apresenta efeitos tóxicos e de envenenamento no corpo humano, fator adicional para a escolha de etanol como solvente para a extração de compostos fenólicos. Cabe ressaltar que o solvente geralmente é retirado do extrato, por rotaevaporação, antes desse ser utilizado como aditivo alimentar.

Com relação ao Extrato 3, a caracterização da pectina precipitada e seca em equipamento de espectroscopia infravermelho gerou o espectrograma da Figura 7. Ao analisar a figura, o espectrograma apresenta picos em 2919, 1750, 1633, 1105 e 1075 cm^{-1} referentes aos grupos funcionais presentes na pectina. Na literatura, essas bandas de refração são atribuídas a

presença de estiramento do grupo -CH, grupos carboxílicos esterificados, grupos carboxílicos não esterificados (vibração do estiramento do grupo COO-), e grupos -COC- (segmento do ácido galacturônico), respectivamente. Grupos O-H podem estar presentes na banda larga entre 3400-3300 (Naqash *et al.*, 2021; Kumar; Chauhan, 2010). Costa e Carneiro (2023) identificaram picos semelhantes para suas amostras de pectina extraídas do bagaço de maçã industrial, sendo as bandas de refração 3400, 2930, 1740, 1630, 1101 e 1018 cm^{-1} .

Figura 7. Espectrograma de infravermelho da amostra de pectina de bagaço de maçã.



O grau de esterificação (DE), obtido através do cálculo da área dos picos em 1750 e 1630 cm^{-1} , atingiu o valor de 46 %. Os resultados da análise titulométrica para cálculo do grau DE foram organizados na Tabela 6.

Tabela 6. Caracterização da pectina de bagaço de maçã por meio de titulometria

	AUA%	MeO%	F _{ácida} %	F _{neutra} %	DE%
Pectina bagaço de maçã	22	3,5	25	75	92

Legenda: AUA- ácidos galacturônicos; MeO- metoxilas; F- fração; DE- grau de esterificação.

Através da metodologia utilizada, 3 % de pectina seca com relação ao bagaço extraído pode ser recuperada. Güzel e Akpinar (2019) obtiveram 13 % de rendimento com cascas de maçã com extração em ácido cítrico 1 %, com grau de esterificação de 77 %, enquanto Costa e Carneiro (2023) utilizaram extração com líquido pressurizado e, dentro dos parâmetros

avaliados, as pectinas obtidas tiveram seu DE variando entre 68 a 85 % DE. Kumar e Chauhan (2010) encontraram valores entre 5 e 6 % para metoxilas, e em torno de 50 a 52 % de DE para pectina extraída de duas variedades de maçãs em solução de ácido cítrico pH 2,5.

A extração de pectina de bagaço de maçã com diferentes parâmetros resultou em pectina de alto DE (66 %), com 10 % de rendimento quando a temperatura era mais amena (70 °C) e de baixo DE (43 %) com 16 % de rendimento em temperaturas mais altas (90 °C) (Naqash *et al.*, 2021). Vaez *et al.* (2023) também obtiveram um grau de esterificação menor (41 %) quando aplicada uma temperatura mais alta (140 °C), comparando com a pectina extraída a 97 °C (71 % DE), com cerca de 16 % de rendimento.

Utilizar temperatura em torno de 100 °C parece aumentar a velocidade de solubilização da pectina em meio aquoso, possivelmente porque a temperatura mais alta pode amolecer os tecidos vegetais, melhorando a penetração nessa matriz (Eblaghi *et al.*, 2021). Pectinas com DE maior que 50 % são classificadas como alto grau de esterificação, que na presença de açúcar diminuem o grau de solvatação da molécula, promovendo associações moleculares que formam o gel, largamente aplicada em indústrias de geleia, por exemplo (Gemechu *et al.*, 2024).

2.3.3. Planejamento fatorial e extração da lignina na Fase 2

Foram analisados os 15 pontos do planejamento fatorial. Após o tratamento com ultrassom e DES, as amostras seguiram para a análise de lignina remanescente no bagaço. Os resultados encontram-se na Tabela 7. Os valores de lignina total correspondem à lignina remanescente na amostra lignocelulósica do bagaço de maçã após o tratamento com DES assistido com equipamento ultrassônico. A partir da redução do valor da lignina nos pontos avaliados, nota-se que a utilização do DES combinado ao ultrassom removeu parcialmente a lignina presente nas amostras.

Tabela 7. Porcentagem de lignina remanescente no bagaço extraído após tratamento com ultrassom e DES.

<i>Ponto</i>	<i>Concentração</i>	<i>Temperatura</i>	<i>Razão</i>	<i>LAS (%)</i>	<i>LAI (%)</i>	<i>Lignina total (%)</i>	<i>Redução (%)</i>
Controle	0	0	0	7,29	2,17	28,9	-
1	50	40	1/20	4,83	2,15	26,2	9
2	100	40	1/20	4,05	0,78	10,9	62
3	50	60	1/20	4,48	2,38	28,3	2
4	100	60	1/20	3,65	2,1	24,6	15
5	50	50	1/10	3,08	1,05	13,6	53
6	100	50	1/10	3,02	1,05	15,9	45
7	50	50	1/30	5,47	1,62	20,7	28
8	100	50	1/30	3,15	2,42	27,3	5
9	75	40	1/10	4,28	1,49	19,3	33
10	75	60	1/10	3,77	2,14	25,3	12
11	75	40	1/30	4,39	2,15	25,3	12
12	75	60	1/30	3,79	1,42	21,6	25
13	75	50	1/20	6,73	1,34	17,5	40
14	75	50	1/20	6,73	1,34	17,5	40
15	75	50	1/20	6,73	1,34	17,5	40

Legenda: LAS: lignina ácida solúvel; LAI: lignina ácida insolúvel.

A fração de lignina ácida solúvel (LAS) corresponde à lignina solúvel em ácido sulfúrico 4 %, obtida pela medição da absorbância no espectro UV. A fração de lignina ácida insolúvel (LAI) corresponde ao resíduo que permaneceu no cadinho poroso após a hidrólise ácida de duas etapas. Nesse caso, dependendo da amostra, pode ser descontado o conteúdo de cinzas, que foi igual a zero para todas as amostras, portanto não interferindo no cálculo (Sluiter *et al.*, 2008).

A remoção da lignina facilita a etapa de oxidação com persulfato de amônio, aumentando a exposição da celulose ao tratamento oxidativo, por isso o interesse em sua redução aplicando um pré-tratamento de deslignificação. O bagaço de maçã cv. Gala seco apresentou 28,9 % de lignina total, valor acima do encontrado na literatura para bagaço de maçã industrial seco, que varia de 18,3 a 25,38 % (Vaez *et al.*, 2023; Leonel *et al.*, 2020; Kut *et al.*, 2020; Hijose-Valsero; Paniagua-García; Díez-Antolínez, 2017; Gama; Van Dyk; Burton; Pletschke, 2015).

Analisando os resultados obtidos, foi possível reduzir a lignina em mais de 62 % do seu conteúdo inicial. Os experimentos 2, 5 e 6 atingiram maior porcentagem de redução de lignina nas amostras. Observa-se que a temperatura amena (40-50 °C) pode ter colaborado para o resultado, indicando que podem afetar positivamente a extração do componente lignina na matriz bagaço de maçã. A concentração mais alta do solvente (100-75 %) proporcionou os melhores resultados na remoção da lignina. De acordo com os resultados, os parâmetros isoladamente não demonstraram uma tendência de efeito positivo ou negativo nas amostras, o que pode indicar que um efeito sinérgico entre temperatura, razão massa/volume e concentração do solvente promove a remoção da lignina da matriz.

De um ponto de vista mais sustentável, mesmo sem a degradação do DES cloreto de colina e ácido láctico em temperaturas até 80 °C (Savi *et al.*, 2019), se não houver efeito aparente da temperatura, o ideal deve ser a utilização da menor temperatura aplicada (40 °C), o que reduz gastos com energia para mantê-la durante o tratamento. Ao serem analisados os pontos com menor redução de lignina, percebe-se que a temperatura de 60 °C foi utilizada em uma grande parte desses pontos, o que pode indicar que a alta temperatura pode ter prejudicado a remoção da lignina pelo solvente.

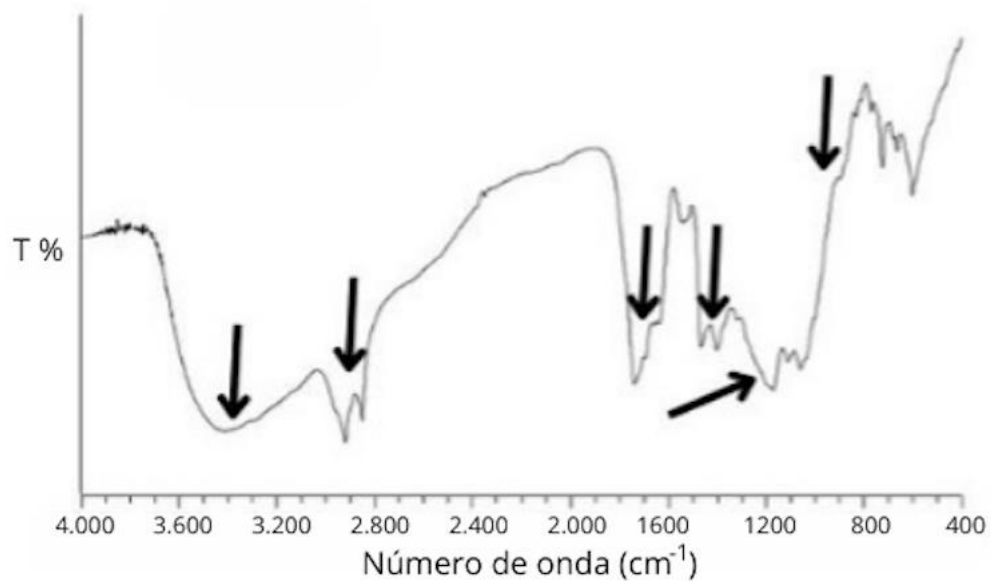
A amostra de bagaço extraído, após redução da lignina (DES + US) e oxidação da fração celulósica, seguiu para as análises instrumentais para caracterizar o material produzido.

2.3.4 Análises da celulose produzida na Fase 3

Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier- FTIR;

A amostra de celulose produzida foi submetida à espectroscopia no infravermelho para identificação dos grupos funcionais, como se indica na Figura 8.

Figura 8. Análise no infravermelho de celulose de bagaço de maçã

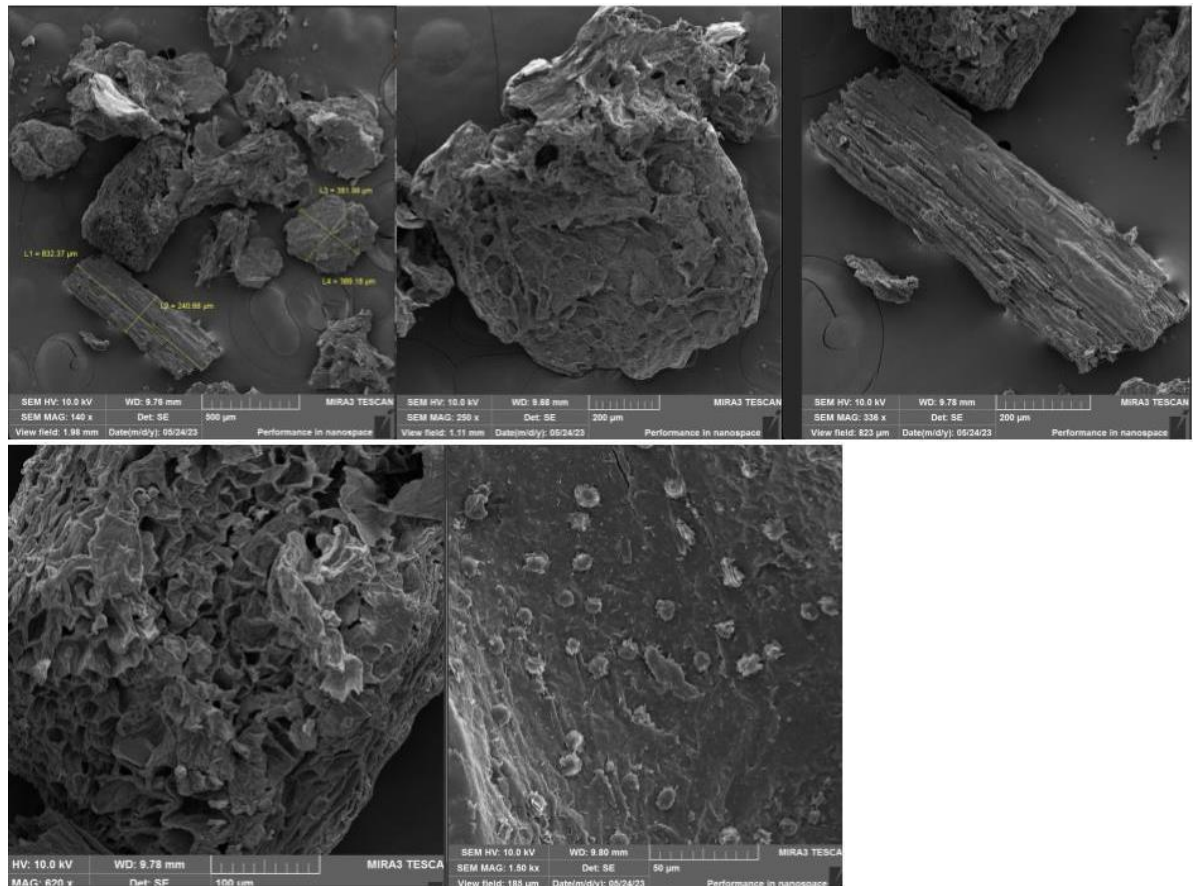


Através da detecção de picos de grupos funcionais relacionados com a celulose, é possível a comprovação do isolamento desta na amostra. Com a análise FT-IR, o grupo funcional -OH pode ser identificado próximo a 3340 cm^{-1} , C-H próximo de 2895 cm^{-1} , C-H entre 1238 e 1430 cm^{-1} e C-O-C em torno de 1000 cm^{-1} (Marakana *et al.*, 2021). O grupo funcional estiramento O-H encontra-se próximo ao pico 3369 cm^{-1} , estiramento C-H está identificado entre 2922 e 2870 cm^{-1} . A ligação de água O-H aparece em 1650 cm^{-1} , a banda éter glicoideo C-O-C em 1161 cm^{-1} e a C-H aromática e 912 cm^{-1} . Esses picos também foram identificados como relacionados ao isolamento da celulose por Melikoğlu, Bilek e Cesur (2019).

Microscopia Eletrônica de varredura-MEV

O bagaço moído sem nenhum tratamento ou extrações pode ser analisado através da microscopia de varredura eletrônica, como mostram as imagens da Figura 9.

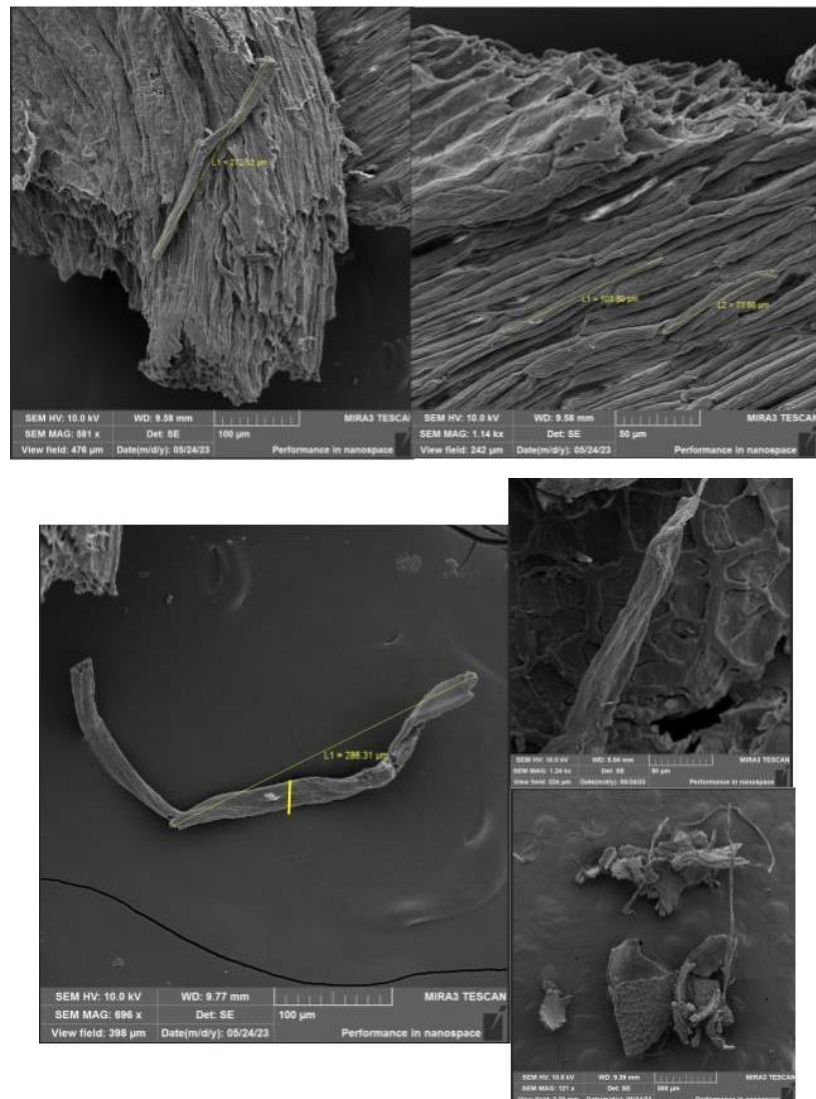
Figura 9. Imagens de MEV do bagaço de maçã moído sem tratamentos



Observa-se nas imagens do bagaço a superfície heterogênea, devido a presença de diversas estruturas da matriz vegetal, pois a composição do bagaço engloba epicarpo, endocarpo e sementes. Os grânulos medidos em ampliação de 140 x apresentam formatos e tamanhos diferentes, como na primeira imagem, uma partícula mais arredondada com diâmetros de 370 e 382 µm e outra mais alongada e fibrosa, com comprimento 832 µm e largura de 240 µm, com fibras lisas e compactas referentes a celulose e hemicelulose da matriz vegetal (Melikoğlu; Bilek; Cesur, 2019).

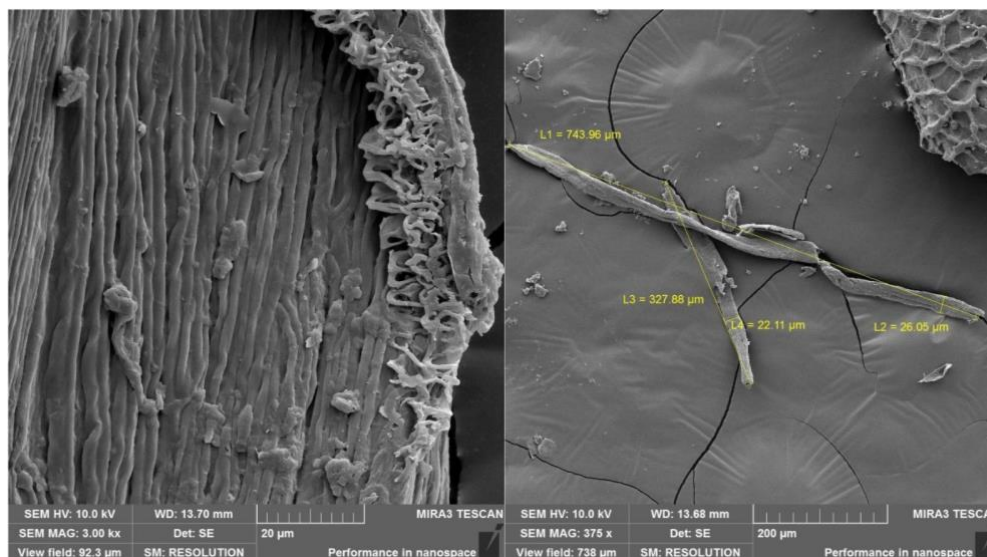
As imagens obtidas por MEV, após a amostra passar por 9 horas de tratamento com persulfato de amônio a 60 °C, podem ser analisadas na Figura 10.

Figura 10. Imagens de MEV da celulose obtida após 9 horas de tratamento com persulfato de amônio a 60 °C.



Após 9 horas de tratamento a estrutura celulósica aparece mais exposta, com as superfícies mais homogêneas. Como a oxidação ainda não foi finalizada, na segunda imagem podem ser observadas duas texturas, uma com a abertura de canais na matriz e a outra com a exposição mais nítida de feixes de celulose alongados. As imagens de microscopia permitiram medir o tamanho dos feixes de celulose, indicando que o tratamento atingiu a escala micro (Melikoğlu; Bilek; Cesur, 2019). O encerramento do tratamento com persulfato de amônio ocorreu após 20 horas. Os resultados obtidos após 20 horas de oxidação podem ser observados na Figura 11.

Figura 11. Imagens da celulose de bagaço de maçã após 20 horas de tratamento com persulfato de amônio

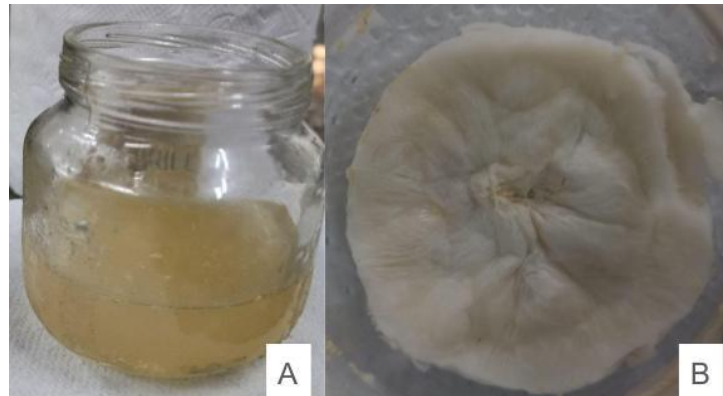


Após as 20 horas de tratamento, as fibras de celulose estão homogêneas e aparecem expostas na estrutura, de tamanho alongado e formato de agulha, da mesma forma que após as 9 horas de tratamento. Como cerca de 5 % da massa inicial de bagaço de maçã foi obtida em celulose, valor abaixo do encontrado na literatura, entre 22 e 32 % (Leonel *et al.*, 2020; Hijose-Valsero; Paniagua-García; Díez-Antolínez, 2017; Kut *et al.*, 2020), pode ser que o tempo de processamento tenha se prolongado a ponto de interferir no rendimento. Visto que a partir de 9 horas as fibras de celulose já estavam expostas, um tratamento mecânico para redução de tamanho das fibras poderia ser suficiente para finalizar o processo após esse tempo.

Celulose em escala nano

A celulose submetida ao tratamento mecânico com equipamento ultrassom produziu uma suspensão homogênea e viscosa, como pode ser observado na Figura 12A, e após a liofilização adquiriu um aspecto de espuma devido a maneira em que as fibras de celulose se organizaram após a secagem, observado na Figura 12B.

Figura 12 . Suspensão de nanocelulose de bagaço de maçã (antes (A) e após (B) liofilização)

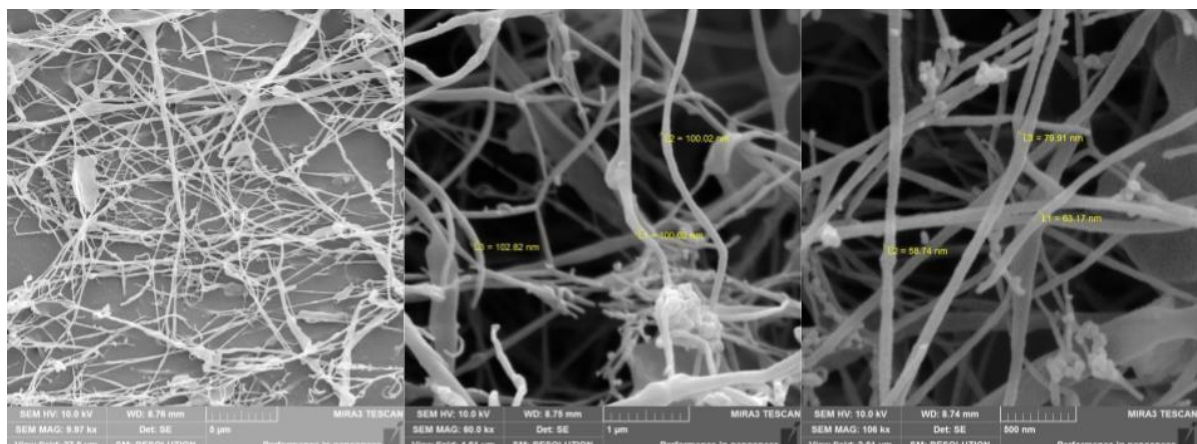


Essa suspensão viscosa pode ser aplicada para produção de biofilmes, melhorando as características de resistência e barreira ao vapor d' água (Fernandez-Santos *et al.*, 2024). A partir da liofilização, a nanocelulose pode apresentar características diferentes da suspensão, ampliando sua gama de aplicações.

A concentração de sólidos na suspensão influencia de forma direta a densidade da espuma formada, e influencia de forma inversamente proporcional a área de superfície porosa formada. Fatores como temperatura e tempo de congelamento, bem como os parâmetros utilizados para a sublimação da água podem influenciar na capacidade de absorção de água da espuma formada (Mendonza *et al.*, 2019).

A confirmação da estrutura em escala nano pode ser observada nas imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (Figura 13).

Figura 13. Imagem de nanocelulose liofilizada obtida por MEV.



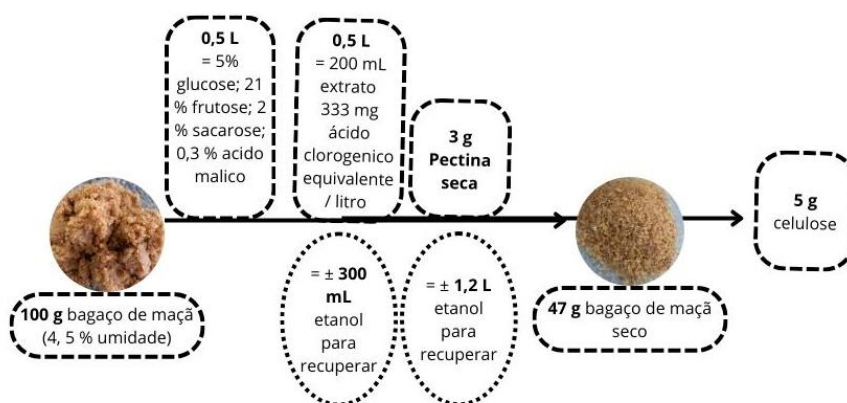
Nota: Aproximação de 9.000, 60.000 e 100.000 vezes, da esquerda para direita.

É possível observar que após a liofilização, a estrutura de nanocelulose se aglomerou, o que possivelmente resultou na estrutura compacta e esbranquiçada observada na figura anterior. Ampliando 60 e 100 mil vezes, as fibras de celulose apresentam tamanho de espessura nano (58 a 100 nm nas medições realizadas), indicando que foi possível obter a nanocelulose após o processamento oxidativo e mecânico aplicados.

2.3.5 Produtos obtidos a partir de 100 g de bagaço

O fluxograma indicando os produtos obtidos a partir de 100 g de bagaço para os resultados obtidos neste trabalho está descrito a Figura 14. O balanço foi baseado em 100 g de bagaço de maçã (4,5 % umidade), de acordo com os experimentos que foram realizados em escala de laboratório.

Figura 14. Aproveitamento de bagaço de maçã a partir de 100 g



Fonte: A autora

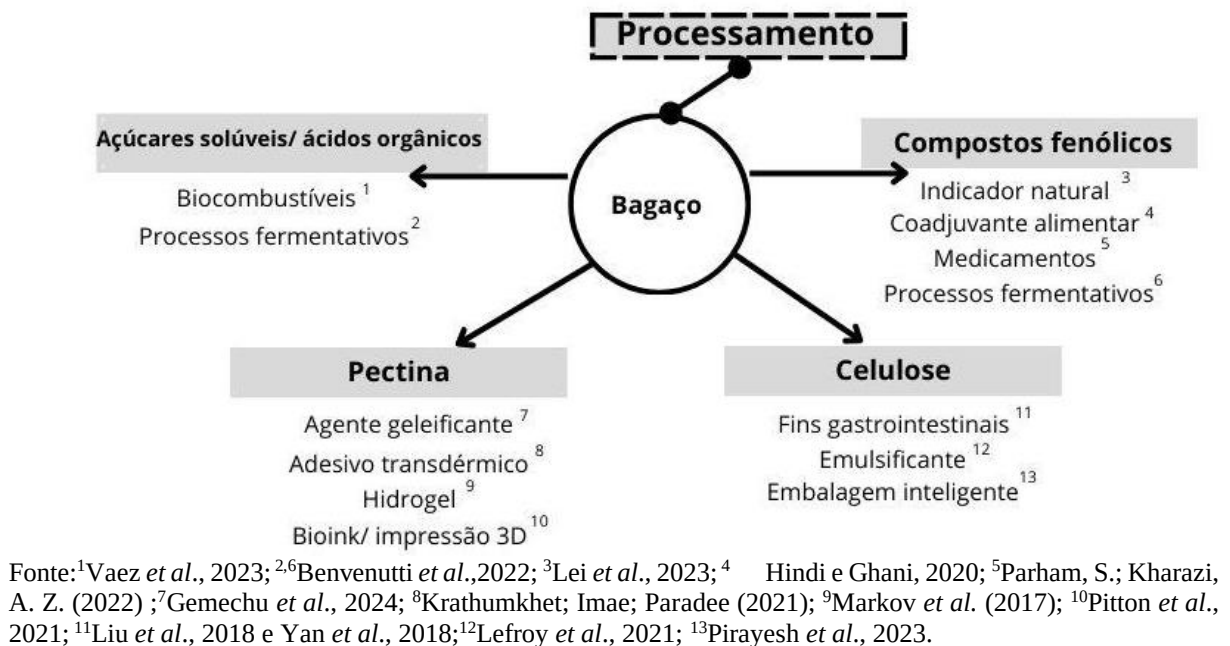
O balanço foca nos principais produtos obtidos, os extratos sendo: 0,5 L de Extrato 1, 0,5 L de Extrato 2 (onde 60 % equivalem ao etanol da solução que pode ser recuperado) e Extrato 3, que se divide na solução utilizada para precipitar a pectina, da qual o etanol pode ser reciclado no processo. Após as extrações, a quantidade de matéria lignocelulósica remanescente compreende 47 % da massa inicial de bagaço, indicando que além dos produtos extraídos, pode também ter ocorrido perdas de matéria seca durante as operações. A partir desse bagaço, a celulose produzida por oxidação com persulfato de amônio (1M) equivale a 5 % do bagaço inicial, finalizando o total aproveitamento da matéria-prima.

2.3.6 Potencial de mercado para os produtos obtidos

A Figura 15 aborda um olhar geral do projeto de biorrefinaria com bagaço de maçã, a partir dos produtos obtidos nesse capítulo, indicando suas potenciais aplicações. Na busca por materiais inovadores, deve-se também pensar em matérias-primas obtidas de maneira sustentável. Cada vez mais, essa é uma exigência de mercado, e como discutido nessa tese, o bagaço de maçã é um subproduto de processo gerado em grandes quantidades pela indústria de bebidas, podendo ser utilizado como matéria-prima de segunda geração, sem a necessidade de gerar mais resíduos ou competir com a produção de alimentos para consumo humano.

O bagaço de maçã, devido a sua composição de carboidratos fermentescíveis como glucose e frutose, fornece condições para produção de biocombustíveis por meio de fermentação do mosto, como bioetanol e biometano. A partir de 1000 kg de bagaço de maçã, após tratamento ácido sob alta temperatura (90-140 °C), pode-se obter em biocombustíveis, teoricamente, o equivalente a 124 a 175 L de gasolina (Vaez *et al.*, 2023). Benvenuti *et al.* (2022) utilizaram o extrato de bagaço de maçã (rotaevaporado para retirada do solvente) para melhoramento da fermentação de sidra. O extrato promoveu uma suplementação da bebida em termos de atividade antioxidante, elevação do teor alcoólico final e intensificação da cor, amargor e adstringência. A utilização do Extrato 1 como fonte de açúcares fermentescíveis para elevar a produção de álcool na bebida parece ser uma opção viável. A suplementação de bebidas a partir do Extrato 2 também aparece como uma aplicação interessante. A forma como esse extrato é apresentado pode variar, seja rotaevaporado, como no artigo citado, assim como em pó (liofilizado ou secagem em spray-dryer) (López-Belchí *et al.*, 2021).

Figura 15. Panorama dos produtos obtidos e potencial aplicações a partir do bagaço de maçã



Na indústria de alimentos, a ampla aplicação de pectina visa obter nos produtos propriedades específicas de gelificação, emulsificação e textura (Gemechu *et al.*, 2024). Diferentes fontes de obtenção da pectina proporcionam uma maior gama de aplicação na indústria. A pectina extraída do bagaço de maçã, variando os parâmetros de acidez do meio, tempo e temperatura, pode ser de alta ou baixa metoxilação, com propriedades distintas, indicando que pode ser extraída uma mesma fonte pectina que atenda a diferentes necessidades industriais (Naqash *et al.*, 2021).

Em outras indústrias, como a farmacêutica, estudos tem demonstrado o potencial da pectina aplicada em hidrogéis. Essa matriz apresenta aptidão como condutora de compostos de interesse, por exemplo, incorporando e transferindo compostos que auxiliam a cicatrização da pele (Bostanci *et al.*, 2022). Dentro dessa área, sua aplicação como matriz para adesivos transdérmicos, bem como microencapsulamento de compostos farmacêuticos, para liberação de medicamentos na pele, demonstra melhorar as propriedades estruturais dos produtos obtidos (Krathumkhet; Imae; Paradee, 2021; Kanungo *et al.*, 2021). Assim, a pectina pode ser um produto chave no campo da bioengenharia e inovação.

O nicho de mercado brasileiro apresentado pela celulose demonstra a necessidade de investimento tanto acadêmico, por meio da ciência e tecnologia, quanto industrial, como as *startups*, onde os testes laboratoriais podem ser escalonados para planta-piloto (EMBRAPA, 2023). Nanocelulose e microcelulose vem sendo aplicadas em produtos na área de cosméticos,

veterinário, agrícola e bioaditivos (Nanoscopying, 2023; Borregaard, 2023). Com relação ao mercado de nanocelulose, a projeção global indica um crescimento de 0,4 bilhões de dólares em 2022 para 2 bilhões em 2030 (MArketsandmarkets, 2023).

Uma limitação que ainda persiste está relacionada à maneira de ofertar a celulose ao cliente. Como exemplo, um fabricante oferece a oportunidade de enviar uma amostra grátis para testes, além de guia para uso e incorporação do produto (Borregaard, 2023). São necessários mais estudos sobre como viabilizar esse processo em escala industrial.

Essa demanda por esses produtos de alto valor também demonstra como podem ser complementares para o enriquecimento de materiais inovadores. A pectina largamente aplicada em hidrogéis, tem a resistência e rigidez melhorada pela incorporação de celulose (Pitton *et al.*, 2021). Adesivos transdérmicos e microcápsulas à base de celulose ou pectina podem carregar ou transferir compostos fenólicos e antioxidantes (Da Rocha; Noreña, 2020; Oliveira *et al.*, 2017).

Embalagens inteligentes utilizam hidrogéis a base de pectina e celulose, que indicam a qualidade do alimento através da mudança de cor, utilizando marcadores de antocianina, cuja cor varia conforme a mudança do pH do meio, indicando que o alimento não está mais apto para consumo (Lei *et al.*, 2023). Aqui, a importância de que com uma única fonte, de segunda geração, descartada na indústria, é possível obter materiais que são uma nova demanda do mercado de inovações.

Especificamente, os custos de equipamentos industriais são difíceis de serem levantados a partir de base de dados disponíveis ao público. Uma maneira para dimensionar custos pode ser através de estruturas semelhantes em atividade em alguns lugares do mundo. Um centro de inovação e desenvolvimento de alimentos funcionais na Espanha recebeu 480.000 euros em 2017 para equipamentos e projetos desenvolvidos (UGR, 2017). Essa instituição funciona com o apoio de empresas privadas e parceria com universidades e financiamentos do governo espanhol e europeu. A estrutura conta com 400 m², com equipamentos para secagem e encapsulação, filtração, tratamento térmico, homogeneização, fermentação e formulação e de envase (Cidaf, 2024).

Custos de implantação de biorrefinarias possivelmente serão elevados em um primeiro momento. Porém, como mencionado anteriormente, novas demandas para materiais inovadores estão surgindo, e a necessidade de matérias-primas de fontes sustentáveis cresce a cada ano. Surge então uma necessidade de investimento em indústrias que fazem esse reaproveitamento e resgate de produtos de alto valor, dentro de um conceito mais sustentável e de economia circular. Na Europa, há muito investimento nesse sentido, pois os governos já estão se

preparando para essa nova realidade, não distante, de indústrias que trabalhem dentro desse conceito circular, não mais linear (produzir-usar- descartar).

2.4 CONCLUSÃO

A partir do bagaço de maçã seco após processamento de suco, apresentado como matéria-prima de segunda geração para abastecimento de uma biorrefinaria, foi possível obter o Extrato 1, composto por açúcares solúveis (glucose, frutose e sacarose) e ácido málico, e o Extrato 2, extrato alcoólico de compostos fenólicos e com potencial antioxidante, através da metodologia proposta. A pectina do bagaço de maçã apresentou coloração de tonalidade marrom e, quando desidratada, apresentou rendimento de 3 % com relação ao bagaço seco, com alto grau de esterificação. A solução de ácido cítrico, aliada à alta temperatura, apresentou um processamento considerado “verde”, com menor impacto ambiental. Os resultados demonstraram a viabilidade da Fase 1 de extrações propostas dentro do conceito de biorrefinaria.

Para o tratamento da fração lignocelulósica remanescente, o uso de solvente eutético profundo (Cloreto de colina: ácido láctico, 1:2) com assistência de equipamento ultrassom reduziu a quantidade de lignina total do bagaço extraído, o que beneficia o processo seguinte de oxidação da fração celulósica com persulfato de amônio (1M, 1:100), para produção de nanocelulose. Dessa forma, o bagaço de maçã obteve total aproveitamento dentro da proposta, em escala de laboratório.

Os produtos obtidos em cada etapa possuem aptidão para aplicação em uma gama de processamentos, como indústria de alimentos, farmacêuticas e de materiais, atuando como aditivos de processo. Assim, a proposta de biorrefinaria de bagaço de maçã mostrou potencial para ser escalonada para uma planta-piloto, com total aproveitamento das frações da biomassa, além de utilização de solventes e tecnologias com menor impacto ambiental quando comparadas aos métodos convencionais para obtenção desses produtos.

CAPÍTULO 3- PROCESSAMENTO DE BEBIDAS A PARTIR DE UVAS *VITIS LABRUSCA* E VALORIZAÇÃO DO BAGAÇO DE CABERNET SAUVIGNON ORIUNDO DO PROCESSO DE VINIFICAÇÃO DENTRO DO CONCEITO DE BIORREFINARIA

RESUMO

O processamento industrial de uva, seja para produção de sucos ou vinho, movimenta grande parte do setor de bebidas. Variedades convencionais *Vitis vinifera* são amplamente utilizadas para vinificação. Enquanto isso, novas variedades vêm sendo desenvolvidas para estarem mais adaptadas ao clima brasileiro e atender determinadas demandas da indústria de processamento de uva nacional. Desse processo, o bagaço de uva produzido como coproduto ou como resíduo industrial, apresenta dificuldade de destinação adequada para descarte ou reaproveitamento. O bagaço mantém produtos de alto valor agregado em sua composição, que quando devidamente extraídos, podem ser aplicados em novos setores e processos. Ácido tartárico, pectina, compostos fenólicos e fração lignocelulósica (lignina e celulose) são frações do bagaço que possuem aplicações industriais de interesse comercial. Neste capítulo, o processamento de suco e a fermentação de uvas nacionais BRS Carmem e BRS Violeta foram investigados, bem como reaplicação do bagaço gerado para produzir um extrato aquoso com atividade antioxidante. Além disso, a partir de bagaço industrial da fermentação de uva *Cabernet Sauvignon*, foi elaborado em escala laboratorial uma proposta de biorrefinaria com recuperação de compostos fenólicos, ácido tartárico, pectina e produção de celulose, o que demonstrou o potencial dessa matriz para recuperação de uma ampla gama de compostos de alto valor agregado. Os três produtos obtidos a partir da uva BRS Violeta apresentaram maior teor de compostos fenólicos (4965 e 4184 mg EAG/L), antocianinas (780 e 1313 c3g mg/L) e atividade antioxidante (1709-4729 e 4783-30234 $\mu\text{mol TE/L}$) para o suco e fermentado. O extrato aquoso, chamado nesse trabalho de água do vinho, obtido do bagaço da fermentação das uvas BRS Violeta e BRS Carmem, manteve compostos fenólicos e potencial antioxidante de interesse. O suco e fermentado da cv. Violeta apresentaram coloração em tons roxos e azulados, enquanto cv. Carmem produziu essas bebidas em tons alaranjados, assim como a água do vinho resultou em um extrato de tons avermelhados e rosados, para Violeta e Carmem, respectivamente. Com relação ao bagaço de fermentado de uva *Cabernet Sauvignon*, a extração sequencial gerou produtos: extrato aquoso de ácidos orgânicos (água do vinho/Extrato 1); extrato alcoólico de compostos fenólicos (Extrato 2), ácido tartárico precipitado, pectina (Extrato 3) e celulose. Com rendimento de 20 % de celulose e 3 % de pectina seca, o resíduo teve completo aproveitamento, recuperando compostos e promovendo o mínimo de impacto durante o processo. Os materiais obtidos apresentam potencial para suprir a demanda por matéria-prima celulósica.

Palavras-chave: *Vitis vinifera*, *Vitis labrusca*, pectina, antocianinas, nanocelulose, bioeconomia.

3.1 INTRODUÇÃO

A produção nacional de uva em 2022 atingiu 1,5 milhões de toneladas e 75 mil hectares de área de colheita. A região Sul contribui com 73% da área vinícola, responsável por 53,5 % da produção nacional, sendo seguida da Região Sudeste, com 12 % e Nordeste, 14 %. A maior parte das cultivares são destinadas ao processamento de vinho de mesa e suco de uva (FAOStat

database, 2024; Mello; Machado, 2020). Vinhos finos, como o *Cabernet Sauvignon*, são elaborados a partir de uvas *Vitis vinifera* (Luo *et al.*, 2019) enquanto no Brasil, as uvas *Vitis labrusca*, de origem americana, e suas híbridas, são destinadas para processamento de vinhos de mesa, com destaque para a cv. Isabel, uma híbrida de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* (Nixdorf; Hermosín-Gutiérrez, 2010).

Visando variedades nacionais que estejam mais adaptadas ao clima brasileiro e ao mesmo tempo, com melhores características para produção de suco e vinho, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), por melhoramento genético, desenvolveu variedades como a BRS Carmem e a BRS Violeta, uvas *Vitis labrusca* com melhor qualidade sensorial para processamento (De Castilhos *et al.*, 2019). Estas variedades já estão presentes no Rio Grande do Sul, cerca de 7 % da produção, destacando-se as variedades Isabel Precoce, Moscato Embrapa, BRS Lorena, BRS Violeta, BRS Cora, Concord Clone 30, BRS Rúbea e BRS Carmem (Fioravanço, 2018). A cultivar BRS Carmem possui sabor e aroma de *Vitis labrusca*, com 19 °Brix de açúcares, coloração violácea intensa e sua produtividade gira em torno de 25 a 30 t/ha. Produz suco equilibrado em açúcar e acidez, com aroma e sabor com notas de framboesa (Camargo *et al.*, 2008). A cultivar BRS Violeta atinge 25 a 30 t/ha, com uvas de 19 a 21 ° Brix, sendo capaz de ser inserida na produção de vinhos e sucos elaborados com uvas tradicionais, para agregar mais cor ao produto (Camargo *et al.*, 2005).

Com a intensificação do processamento de uva, aumenta também o resíduo industrial descartado, o bagaço, obtido após a etapa de prensagem do suco ou após a fermentação do mosto, no caso do vinho. Esse resíduo ainda mantém em sua composição produtos de interesse, como a pectina, o ácido tartárico, os compostos fenólicos com atividade antioxidante e a fração lignocelulósica (Corbin *et al.*, 2015, Peixoto *et al.*, 2018, Pereira *et al.*, 2019). Assim, este capítulo teve como objetivo investigar o processo fermentativo de variedades *Vitis labrusca* (BRS Violeta, e BRS Carmem) e explorar o reaproveitamento do bagaço de uva *Vitis vinifera* (*Cabernet Sauvignon*) após o processo de fermentação do vinho.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Material

As uvas e bagaço para esse trabalho foram obtidos de produtores locais (Campo Largo e Piraquara-PR), durante o período de safra (janeiro e fevereiro/ 2020), sendo duas variedades

brasileiras (cv. Carmem e cv. Violeta) e uma variedade *Vitis vinifera* (cv. *Cabernet Sauvignon*) de processamento industrial. Uma vinícola da região de Campo Largo-PR concedeu o bagaço industrial retirado da vinificação.

3.2.2 Metodologia

a) Suco de uva integral por arraste a vapor

Para obtenção do suco integral de uva com as variedades Carmem e Violeta (16), um equipamento extrator de pigmentos promoveu o arraste a vapor de uvas esmagadas promovendo a lixiviação dos compostos e assim, obtendo-se o suco de uva. Após a sanitização das uvas (hipoclorito de sódio 200 mg/L por 10 min) e enxágue, as uvas esmagadas manualmente foram colocadas na parte superior do equipamento, no recipiente com fundo perfurado. O fundo do equipamento é preenchido com água para evaporação. Após o início da extração, o processo foi mantido por 20 minutos. A temperatura de saída do suco registrada foi 42 °C.

Figura 16. Uvas cv. Carmem (à esquerda), cv. Violeta (direita) em vinhedo localizado em Piraquara-PR.



Fonte: A autora

O suco obtido foi congelado (-7 °C) para uso posterior, enquanto o bagaço do processamento passou por secagem em estufa de circulação de ar, mantido sobre uma tela de poliestireno perfurado (1 mm), a 40 °C, até a massa constante. Após a secagem, o bagaço embalado a vácuo seguiu para armazenamento sob congelamento (-7° C).

b) Cinética de fermentação do vinho

Para realizar a fermentação das variedades *Vitis labrusca*, os cachos de uva foram sanitizados (hipoclorito de sódio 200 mg/L por 10 min), seguido de enxágue e desengace das bagas. Após prensagem manual, as bagas foram alocadas nos fermentadores e a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (*Fermol Reims Champagne*) na forma seca ativa, adicionada a uma proporção de 0,2 g por litro de mosto. A fermentação foi mantida a aproximadamente 20 °C durante 10 dias, sendo os fermentadores pesados em balança analítica 2 vezes ao dia para cálculo da cinética de fermentação através da massa de CO₂ liberado. Os valores de perda de CO₂ durante o monitoramento nos fermentadores foram utilizados na plotagem dos gráficos da cinética de fermentação.

A correção do grau alcóolico com adição de sacarose para aumentar o teor de sólidos solúveis (°Brix) do mosto ocorreu em duas etapas, no terceiro dia de fermentação e no sexto dia, na retirada do bagaço fermentado. Para cada 1 °GL aumentado, adiciona-se 18 g/L de sacarose. Nesse caso, o interesse era obter um fermentado final com 15 °GL.

Ao final da fermentação, os mostos foram submetidos à centrifugação (4302 *g*) por 10 min e congelados a -7 °C para análises posteriores.

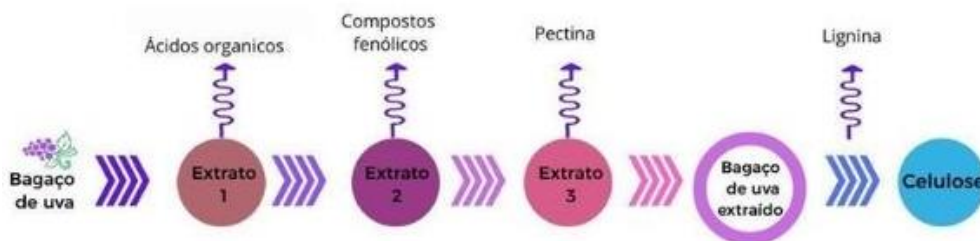
c) “Água de vinho”

A água de vinho consiste em uma extração aquosa do bagaço de uva fermentado, visando uma possível bebida não alcoólica com valor nutricional. Até o momento, um produto similar esteve disponível no mercado. Não está disponível o processamento da bebida, mas a definição da marca anuncia que se trata de uma bebida não alcoólica, infusionada com casca de uva e sementes recicladas da fermentação do vinho (NUTRIPR, 2023).

Em escala de laboratório, 50 g de bagaço fermentado úmido homogeneizado em 500 mL de água deionizada (proporção 1/10 m/V) foram acondicionados em banho-maria a 60 °C por 20 minutos. Como visto no Capítulo 2, essa temperatura promove extração de compostos fenólicos que conferem atividade antioxidante ao produto. A água de vinho extraída seguiu para armazenamento em temperatura de congelamento (- 7 °C) até posterior análises.

A Figura 17 ilustra a proposta de biorrefinaria para o bagaço obtido de processamento de vinho da uva *Cabernet Sauvignon*.

Figura 17. Proposta de biorrefinaria a partir de bagaço de fermentado de uva e seus produtos obtidos



Fonte: A autora

d) Recuperação de ácido tartárico e pectina do bagaço industrial

A partir dessa etapa, visando inserir as etapas em um conceito de biorrefinaria, o bagaço aplicado nos experimentos se trata do bagaço de uva fermentado *Vitis vinifera*, concedido por uma vinícola de Campo Largo-PR. Após recebimento do produto, este foi submetido à secagem em estufa de circulação de ar forçada, a 60 °C por 24 horas.

Na Fase 1, visando a remoção aquosa de ácidos orgânicos e compostos fenólicos, o bagaço seco e moído (granulometria $20 < mesh < 80$) imobilizado em pacote de tecido morim fechado, foi mantido em banho-maria dentro de um béquer com água deionizada, na proporção de 1:5 m/v, na temperatura de 40 °C por 20 min (Queji *et al.*, 2010). A fração líquida foi denominada **Extrato 1** (água de vinho).

O bagaço imobilizado seguiu para a fase 2, etapa de extração de compostos fenólicos. Após resfriamento do Extrato 1 obtido, o ácido tartárico precipitado foi separado através de filtração à vácuo, seco em estufa de circulação de ar forçado a 40°C.

Para a Fase 2, o bagaço imobilizado mergulhado em solvente etanol 60 % (v/v), na proporção 1:5 m/v, foi mantido em banho de ultrassom a 50 °C por 20 minutos. O **Extrato 2** obtido consiste no extrato de compostos fenólicos recuperados e seguiu para análises espectrofotométricas.

Para a Fase 3, o bagaço foi retirado do pacote de tecido morim e homogeneizado em solução de ácido cítrico corrigido para pH 2,5 seguindo a proporção de 1:6 (m/v). Esse conjunto seguiu para banho-maria com agitação, a 80 °C por 180 minutos. Após filtração à vácuo, o bagaço de uva extraído foi seco em estufa a 60 °C durante 2 horas, enquanto o filtrado contendo a pectina solubilizada (**Extrato 3**), refrigerado. Ao Extrato 3 refrigerado, adicionou-se 2 volumes de etanol absoluto e o conjunto mantido em temperatura de 4 °C durante 24 horas para promover a precipitação da pectina. Através de filtração com tecido morim, a pectina precipitada ficou retida no filtro enquanto o extrato alcoólico separado seguiu para recuperação

do solvente etanol. A pectina seguiu para estufa de circulação de ar forçado a 60 °C e armazenada para posterior análises (Chen; Lahayde, 2021).

e) Remoção da lignina e produção de celulose

O bagaço extraído seco necessita passar pela remoção da fração de lignina antes de seguir para a produção de celulose. O bagaço homogeneizado em DES (Cloreto de colina: Ácido láctico; 1:2 m/m) passou por tratamento em equipamento ultrassônico (Sonics Vibra-Cell, VCX 750), seguindo os parâmetros: Concentração DES 100 %, temperatura 60 °C e razão bagaço/ solvente de 1/30. Após o tratamento, a amostra seguiu para secagem em estufa a 60 °C.

A produção de celulose seguiu o protocolo sugerido por Leung *et al.* (2011). Uma solução 1M de persulfato de amônio preparada foi adicionada ao bagaço extraído seco, na proporção de 10 g de amostra para 1 L de solução. A mistura foi mantida em banho maria a 60 °C por 20 horas e a suspensão foi filtrada a vácuo, seguido de secagem em estufa de circulação de ar forçada, a 105 °C até massa constante. As partículas foram reduzidas a tamanho nano adicionando a amostra em um béquer, com água destilada na proporção de 2 % de celulose seca (m/V) e submetendo a mistura à sonificação em equipamento ultrassônico (Sonics Vibra-Cell, VCX 750), com 70 % da amplitude, durante 30 minutos, com temperatura final de 50 °C, mantida em banho de gelo. A suspensão congelada (- 7 °C) passou por liofilização (Solab científica, SL-404, -40 °C, -700 mmHg), durante 48 horas para remoção de água da celulose.

f) Análises físico-químicas e espectrofotométricas: Compostos fenólicos, ácidos orgânicos, atividade antioxidante, pectina e lignina

Análises físico-químicas

Para a determinação de sólidos solúveis totais (SST) nas uvas, no suco e na água do vinho, o refratômetro portátil (2AWJ Biobrix, Ribeirão Preto, Brasil) utilizado indicou a concentração indiretamente em °Brix. Para estimar o teor alcoólico final das bebidas fermentadas, as amostras foram submetidas ao aquecimento até ebulição, num ebulliometro, no qual a temperatura medida pode ser comparada com uma escala (temperatura de ebulição °C para °GL). A glucose foi quantificada através da metodologia de Somogy e Nelson adaptada (Maldonade *et al.*, 2013; Nelson, 1944; Somogy, 1945). A caracterização da pectina seguiu a metodologia de titulação elucidada no item 2.2. e dessa tese.

Determinação de ácidos orgânicos por CLAE

A quantificação dos ácidos orgânicos para o extrato 1 do bagaço industrial foi determinada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC 2695 Alliance, Waters, EUA). O extrato foi filtrado em filtro seringa (0,22 µm de nylon) antes das análises. O sistema de HPLC acoplado a um detector de arranjo de fotodiodos PDA 2998 (Waters, Milford, MA, EUA). A quantificação ocorreu em um sistema de eluição isocrático com uma solução aquosa de ácido sulfúrico 0,005 M em fluxo de 0,5 mL/min. A coluna Aminex HPX-87H (300 x 7,8 mm) foi mantida a 30 °C e a detecção das amostras ocorreu por comparação dos tempos de retenção dos padrões de referência.

Compostos fenólicos totais

A determinação de compostos fenólicos totais dos extratos (suco, fermentado, água do vinho e extrato 2) foi realizada de acordo com o método apresentado por Singleton e Rossi (1965), em que a leitura das absorbâncias foi efetuada em espectrofotômetro no comprimento de onda a 720 nm. As concentrações foram calculadas a partir de uma curva padrão de ácido gálico ($y = 0,000616x - 0,000626$; $R^2: 0,99$) previamente preparada, e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por litro (mg EAG/L).

Flavonoides totais

A quantificação dos flavonoides totais para suco, fermentado, água do vinho e extrato 2, seguiu a metodologia de Zhishen, Mengcheng e Jianming (1999). 250 µL de amostra foram adicionados em 2 mL de água, com agitação e seguida de repouso por 5 min. Em seguida, foi adicionado NaOH 1 mol/L (800 µL) e a leitura em microplaca (300 µL) foi realizada no comprimento de onda de 510 nm. Para quantificação, as absorbâncias foram comparadas a uma curva de calibração com catequina ($y = 0,0028x - 0,0041$; $R^2: 0,98$) como padrão e os resultados expressos em mg de catequina/ L.

Atividade antioxidante

A determinação de atividade antioxidante dos extratos foi realizada através de três métodos. O método proposto por Brand-Williams *et al.* (1995) se baseia na captura do radical DPPH por antioxidantes presentes na amostra, produzindo decréscimo na absorbância com leitura a 515 nm (curva $y = 0,0909x + 0,0856$; $R^2 = 0,995$). O método de FRAP baseia-se na redução do íon férrico para íon ferroso, devido ao poder redutor dos antioxidantes presentes nos extratos analisados, gerando a mudança de tonalidade da mistura, que pode ser medida através da absorbância em 595 nm (Benzie; Strain, 1996) (curva $y = 0,00116x - 0,0444$; $R^2: 0,98$). O método de descoloração do cátion ABTS (Re *et al.*, 1999), passa por redução na presença de antioxidantes da amostra, com leitura de absorbância em 734 nm (curva: $y = 0,1804x + 4,9415$; $R^2=0,99$). Todos os resultados são expressos em equivalente de Trolox por litro de amostra ($\mu\text{mol TE/L}$).

Antocianinas

Para a quantificação de antocianinas, 290 μL de solução de cloreto de potássio 0,025 M (pH 1) foram adicionados a 10 μL de amostra, em microplaca. Em seguida, a leitura se deu no comprimento de onda de 510 nm e 700 nm em leitor de microplaca (Epoch Microplate Spectrophotometer, SynergyBIOTEK, Winooski, VT, USA), seguindo metodologia proposta por Giusti e Wrolstad (2001). Da mesma forma, para a solução tampão de acetato de sódio 0,4 M (pH 4,5), quando 290 μL desta solução foram adicionados em 10 μL de amostra.

O total de antocianinas foi calculado e expresso em mg de cianidina-3-glicosídeo (c3g)/L, conforme a Equação 14.

$$mg/L = [(ABS_{510} - ABS_{700})] pH_1 - [ABS_{510} - ABS_{700}] pH_{4,5} \times MM \times D \times 1000 / (\epsilon \times L)$$

(Equação 14)

Em que: ABS_{510} = Leitura da absorbância no comprimento de onda de 510 nm; ABS_{700} = leitura da absorbância no comprimento de onda de 700 nm; MM = massa molecular da cianidina-3-glicosídeo (449,2 g/mol); D = fator de diluição da amostra x fator de diluição da análise; ϵ = Absortividade molar (26900); L = caminho óptico (1 cm)

Análise de cor

De acordo com o espaço CIE-Lab (*Commission Internationale de l'Eclairage*), as coordenadas L^* , a^* e b^* foram obtidas por colorímetro digital (marca Konica Minolta, Modelo CM-5, Japão), determinando também os valores de Chroma (C^*) e ângulo Hue (h^*) através das equações 15, 16 e 17 (Robertson, 1977):

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{Equação 15}$$

$$h^* = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \text{ quando } a^* > 0 \quad \text{Equação 16}$$

$$h^* = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) + 180 \text{ quando } a^* < 0 \quad \text{Equação 17.}$$

g) Análises instrumentais: pectina e celulose

As análises instrumentais seguiram o mesmo método elucidado no item 2.2.f desta tese.

h) Métodos estatísticos

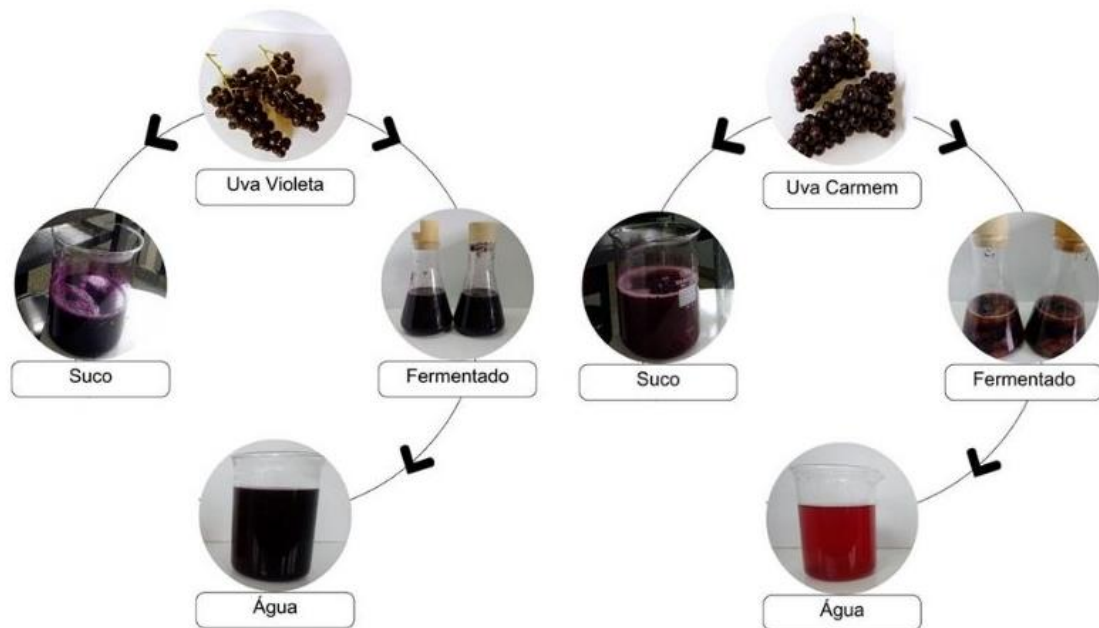
Todos os resultados obtidos neste trabalho foram expressos como média seguida do desvio padrão amostral, em que as diferenças significativas dos valores médios entre os tratamentos passaram por análise de variância (ANOVA), seguido de teste de Fisher LSD ($p < 0,05$).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Produtos obtidos a partir das uvas BRS Violeta e BRS Carmem

O suco produzido a partir da variedade Carmem (Figura 18) obteve um rendimento de 52% com relação ao peso das bagas (sem engaço) utilizadas no processo. Para a variedade Violeta, o rendimento foi maior, cerca de 61 % com relação a massa da uva após desengace.

Figura 18. Uva, bagas, suco e fermentado cv. Violeta e cv. Carmem.



Fonte: A autora

Os valores para sólidos solúveis analisados nos produtos estão dispostos na Tabela 8. Após o processamento de suco, os sólidos solúveis permaneceram iguais ao da fruta, enquanto para o fermentado, o valor diminuiu para quase a metade. Para ambas as águas, cerca de 1 % dos sólidos solúveis foram extraídos do bagaço de fermentado de uva.

Tabela 8. Sólidos solúveis e glicose da uva, suco, fermentado e água das uvas BRS Violeta e BRS Carmem

	Violeta				Carmem			
	Uva	Suco	Fermentado	Água	Uva	Suco	Fermentado	Água
SS	18 ± 0	18 ± 0	8 ± 0	1 ± 0	12 ± 0	12 ± 0	6 ± 0	0,8 ± 0,0
Glucose	-	16 ± 0	0,5 ± 0,0	0,1 ± 0,0	-	10,5 ± 0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0

Nota: Valores de sólidos solúveis expressos em graus Brix (1 °B= 1g/100mL) e concentração de glicose expressa em g/100 mL.

Comparando os sólidos solúveis com a quantidade glucose encontrada, o consumo da glucose durante a fermentação foi praticamente total, por isso também não houve extração de glucose do bagaço pós fermentação para a água do vinho. Os sólidos solúveis analisados

possivelmente compreendem os compostos fenólicos e antocianinas presentes na amostra. Correspondendo ao Extrato 1, esse produto pode ter o apelo de bebida de baixa caloria, visto ser naturalmente livre de açúcares, em que as propriedades antioxidantes serão elucidadas no item 3.3.3 desta tese.

3.3.2 Cinética de fermentação do vinho

Na Figura 19 estão dispostos os fermentadores com as variedades Carmem e Violeta, os quais obtiveram rendimento do fermentado final em torno de 62% e 67 %, com relação a massa das uvas.

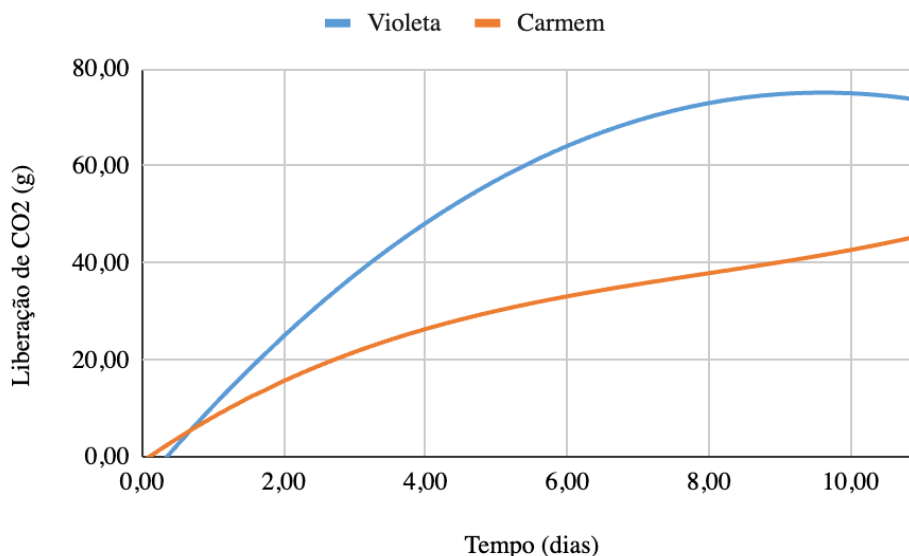
Figura 19. Fermentadores com o vinho das uvas cv. Carmem (à esquerda) e cv. Violeta (à direita).



Fonte: A autora.

O processo de chaptalização (correção do nível de açúcar com sacarose) para obter um fermentado com 15° GL foi realizado para duas variedades no sexto dia de fermentação, quando há uma diminuição da velocidade fermentação, para garantir que o mosto tivesse açúcar necessário para levar a fermentação até o final do processo. Com a hidrólise de sacarose no meio ácido, a levedura passa a consumir o açúcar na forma de glicose e frutose. A partir dos dados coletados no monitoramento da liberação de CO₂ foi construído o gráfico da cinética de fermentação (Figura 20).

Figura 20. Cinética de fermentação para cada uma das variedades através da perda de CO² durante 11 dias.



Fonte: A autora

Para a variedade Violeta o gráfico sugere que o pico de fermentação ocorreu entre os dias 8 e 10. A variedade Carmem resultou em menor produção de CO₂. Outros fatores como percentual de nitrogênio e nutrientes necessários para a ação da levedura podem ter influenciado na cinética. O teor alcoólico para cada fermentado alcançou 10 e 9,5 °GL para as variedades Violeta e Carmem, respectivamente. De Castilho *et al.* (2016) obtiveram 13,4 % para o vinho Violeta e 12,81 % para vinho Carmem. A legislação brasileira prevê que os vinhos de mesa devem ter a graduação alcoólica entre 8,6 e 14 % (BRASIL, 2018). Assim, nesse experimento, os fermentados de uva Carmem e Violeta estariam dentro da conformidade.

3.3.3 “Água de vinho”

O produto obtido da extração aquosa do bagaço a 40 °C por 20 minutos, denominado como “água do vinho”, pode ser visualizado na Figura 21.

Figura 21. Extrato aquoso do bagaço de uva fermentado cv. Carmem (esquerda) e cv. Violeta (direita) e o bagaço remanescente.



Fonte: A autora

Os extratos apresentaram em torno de 1° brix após resfriamento. É possível notar pela Figura 21 o bagaço remanescente do processo. Nessa fração permanecem os produtos de alto valor agregado, discutidos nos próximos tópicos. A partir da metodologia utilizada, foi possível obter 1L de extrato a partir de 100g de bagaço. A caracterização desse extrato será discutida no item 3.3.4.

3.3.4 Análises da obtenção de bebidas a partir de uvas *Vitis labrusca* nacionais

a) Compostos fenólicos, açúcares solúveis, ácidos orgânicos e atividade antioxidante

BRS Violeta e BRS Carmem são variedades mais recentes desenvolvidas pela EMBRAPA, portanto a literatura disponível para comparação dessas variedades ainda é escassa. De Castilhos *et al.* (2019) identificaram uma maior quantidade de acetatos e ésteres etil e metil em vinhos que intensificam o aroma frutado e floral de vinhos tintos à base de *Vitis labrusca*. A variedade Carmem foi descrita como frutada, enquanto a variedade Violeta, vegetal. Na Tabela 9, estão organizados os resultados encontrados para análises de compostos fenólicos, antocianinas, flavonoides e atividade antioxidante para os fermentados avaliados.

Tabela 9. Análises de compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas e atividade antioxidante para suco, fermentado e água das uvas.

		<i>CFT</i>	<i>FD</i>	<i>C-3G</i>	<i>FRAP</i>	<i>DPPH</i>	<i>ABTS</i>
Suco	V	4965 ^a ± 155	780 ^a ± 50	1062 ^a ± 99	27476 ^a ± 814	17509 ^a ± 663	10436 ^a ± 159
	C	767 ^b ± 38	95 ^b ± 8	29 ^b ± 7	2206 ^b ± 81	589 ^b ± 44	896 ^b ± 29
Fermentado	V	4184 ^c ± 309	778 ^a ± 87	1313 ^c ± 77	30234 ^c ± 960	15405 ^a ± 582	4783 ^a ± 115
	C	622 ^b ± 26	126 ^b ± 5	49 ^b ± 3	2753 ^b ± 150	2452 ^c ± 529	1360 ^c ± 29
Água	V	681 ^b ± 12	161 ^b ± 7	198 ^d ± 18	5822 ^d ± 189	4579 ^d ± 174	4729 ^d ± 94
	C	201 ^d ± 11	58 ^b ± 1	13 ^b ± 1	2184 ^b ± 50	2182 ^c ± 398	1131 ^b ± 7

Nota: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($p < 0,001$)

Legenda: V: Violeta, C: Carmem; compostos fenólicos totais (CFT): expressos em mg ácido gálico (EAG)/L; Flavonoides (FD) totais: expresso em mg Catequina/L; Antocianinas: Cianidina-3-glicosídeo (c3g) mg/L; FRAP, DPPH e ABTS: expressos em $\mu\text{mol TE/L}$.

Os três produtos da variedade Violeta demonstram maior teor de compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas e atividade antioxidante, seguida da variedade Carmem com valores intermediários. De Castilhos *et al.* (2016) obtiveram resultados de 1702,7 mg EAG /L de fenóis totais para o vinho Violeta e 1515,9 mg/L para a variedade Carmem. Gomez *et al.* (2020) encontraram valores de 472 e 232 mg EAG/L para suco de uva Violeta e Carmem, e 827 e 344 mg EAG/L para vinho, Violeta e Carmem, respectivamente. Neste trabalho, o fermentado Violeta apresentou maior valor de compostos fenólicos, quase o dobro do que o valor da literatura, enquanto o fermentado Carmem apresentou valores intermediários, porém mais baixos quando comparados a cv. Violeta. Comparando esse estudo com outras publicações nota-se que mesmo sendo da mesma variedade, características como plantio, região do cultivo e safra, parecem influenciar no teor de compostos fenólicos.

A água do vinho das variedades Carmem e Violeta manteve uma quantidade significativa de compostos fenólicos e antocianinas, bem como uma atividade antioxidante significativa. Isso demonstra o potencial desse extrato para produção de bebidas de baixa caloria com esse apelo funcional. Esse extrato representa um produto, nesse caso, uma possível bebida,

a partir de um resíduo de processo que seria descartado do processo, agregando um valor de apelo ecologicamente correto.

b) Análise colorimétrica

Com a medição das coordenadas a^* , b^* e L^* , foi construída a Tabela 10, indicando as diferentes colorações de fermentados. O aspecto visual do fermentado pode agregar mais valor à bebida devido ao apelo sensorial na hora da compra.

Tabela 10. Coordenadas a^* , b^* e L^* , Chroma e ângulo hue dos fermentados obtidos.

	Suco		Fermentado		Água	
	<i>Violeta</i>	<i>Carmem</i>	<i>Violeta</i>	<i>Carmem</i>	<i>Violeta</i>	<i>Carmem</i>
L^*	$3,4^a \pm 0,1$	$21,6^b \pm 0,1$	$3,4^a \pm 0,3$	$29,6^c \pm 0,6$	$35,3^d \pm 0,3$	$83,0^e \pm 0,3$
a^*	$20,7^a \pm 0,5$	$48,3^b \pm 0,0$	$4,4^c \pm 0,3$	$46,1^d \pm 0,4$	$58,0^e \pm 0,2$	$22,8^f \pm 0,1$
b^*	$5,2^a \pm 0,1$	$39,5^b \pm 0,4$	$-0,9^a \pm 0,1$	$39,5^b \pm 0,4$	$10,9^a \pm 0,1$	$0,8^a \pm 0,0$
h^*	$14,2^a \pm 0,0$	$40,6^b \pm 0,1$	$348,1^c \pm 0,7$	$39,3^b \pm 0,2$	$10,7^d \pm 0,0$	$2,0^e \pm 0,1$
C^*	$21,4^a \pm 0,5$	$62,4^b \pm 0,3$	$4,5^c \pm 0,3$	$60,7^d \pm 0,5$	$59,0^e \pm 0,2$	$22,8^a \pm 0,1$

Nota: Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p < 0,001$)

A coordenada L^* indica a variação da luminosidade, de 0 (preto) a 100 (branco). As amostras de suco e fermentado Violeta são amostras mais escuras, com valores mais próximos a zero. O suco e fermentado Carmem apresentaram resultados intermediários, mas também com uma tendência mais próxima ao preto. A água de vinho Violeta manteve a tendência aos tons escuros, enquanto a água de vinho Carmem apresenta maior luminosidade.

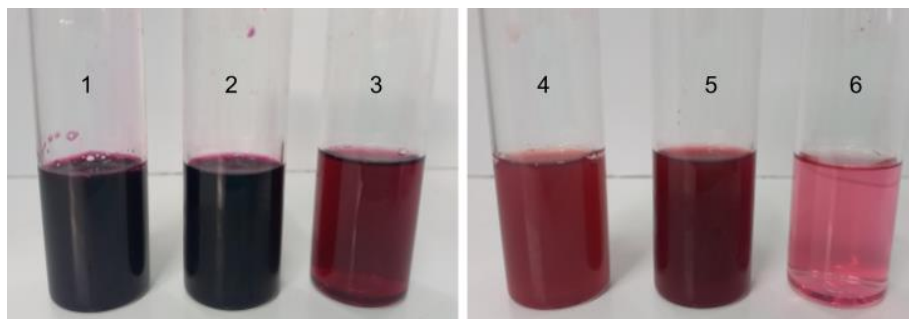
A coordenada a^* indica o quanto a amostra tende ao tom vermelho. O contrário ($a^* < 0$), demonstra o pertencimento aos tons esverdeados. Nesse caso, todas as amostras apresentaram a característica de tons avermelhados, com maior ou menor intensidade. No caso da coordenada b^* , o valor positivo indica o pertencimento aos tons amarelados, enquanto o valor negativo, aos

azulados. Apenas a amostra de suco Violeta apresentou $b^* < 0$. De acordo com as coordenadas dessa amostra, ela se encontra em um quadrante de tons mais roxos e azulados, com baixa cromaticidade, indicando uma cor mais opaca. Os valores de antocianinas encontrados para o suco e fermentado da cv. Violeta são muito mais altos do que para a cv. Carmem, sendo um dos fatores que influenciam na cor própria de cada variedade.

O suco e o fermentado Carmem apresentam a tonalidade mais alaranjada, com maior intensidade. A água de vinho Violeta está na tonalidade avermelhada, com maior intensidade, enquanto a água de vinho Carmem está entre os tons rosados, com menor intensidade da cor.

O aspecto visual dos extratos pode ser observado na Figura 22. A diferença de cores e tonalidades para cada variedade fica nítida, bem como entre a cor do suco e do fermentado pois, durante a fermentação há produção de álcool, além de maior tempo de maceração das cascas com o meio, o que aumenta a extração de pigmentos que interferem na cor. Assim, os fermentados tendem a ter uma cor mais intensa. Enquanto isso, as águas que passam pouco tempo de contato na extração, possuem uma luminosidade mais alta e a intensidade de cor está baixa.

Figura 22. Suco, fermentado e água das uvas cv. Violeta, cv. Carmem.



Legenda: Produzido com uva Violeta: 1-suco, 2- fermentado, 3-água; Produzido com uva Carmem: 4-suco, 5- fermentado, 6-água.

Visualmente, as variedades Violeta e Carmem parecem ter maior destaque, devido aos tons arroxeados e avermelhados. Como pode ser visto na Tabela 11, existem correlações positivas que interferem na formação da cor das bebidas, de acordo com a composição de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante.

Tabela 11. Correlação de antocianinas e compostos fenólicos com parâmetros de cor

r=	C3G	FT	L*	a*	b*	hue	chroma	FRAP	DPPH	ABTS
C3G	1.00	0.96	-0.70	-0.71	-0.57	0.52	-0.73	1.00	0.98	0.77
FT	0.96	1.00	-0.74	-0.76	-0.53	0.72	-0.75	0.97	0.98	0.87
L*	-0.70	-0.74	1.00	0.18	-0.11	-0.48	0.12	-0.70	-0.67	-0.59
a*	-0.71	-0.76	0.18	1.00	0.68	-0.65	0.97	-0.72	-0.75	-0.60
b*	-0.57	-0.53	-0.11	0.68	1.00	-0.33	0.83	-0.58	-0.64	-0.62
hue	0.52	0.72	-0.48	-0.65	-0.33	1.00	-0.59	0.55	0.66	0.84
chroma	-0.73	-0.75	0.12	0.97	0.83	-0.59	1.00	-0.74	-0.78	-0.66
FRAP	1.00	0.97	-0.70	-0.72	-0.58	0.55	-0.74	1.00	0.98	0.79
DPPH	0.98	0.98	-0.67	-0.75	-0.64	0.66	-0.78	0.98	1.00	0.87
ABTS	0.77	0.87	-0.59	-0.60	-0.62	0.84	-0.66	0.79	0.87	1.00

Legenda: C3G- Antocianinas, FT- Fenóis totais; L*-luminosidade, a* (vermelho/verde); b* (amarelo/azul); hue-saturação; chroma-intensidade.

Os resultados indicam a alta e positiva correlação entre a atividade antioxidante (FRAP, DPPH e ABTS) e as antocianinas totais e fenóis totais. Bem como, o ângulo hue (tonalidade) apresenta alta e positiva correlação com as antocianinas, fenóis totais e atividade antioxidante, indicando que esses compostos interagem na formação da cor da bebida. O Chroma ou saturação também apresenta alta e positiva correlação com os parâmetros a* e b*, indicando que esses parâmetros interferem na saturação da cor da bebida. Os polifenóis, de maneira geral, atribuem cor para bebidas de acordo com a sua composição, e isso pode influenciar na decisão de compra do consumidor por conferir a essa bebida uma propriedade funcional baseada no aspecto visual (Pinto; Vilela, 2021).

Considerações sobre a obtenção de bebidas a partir de uvas *Vitis labrusca* nacionais

Ao que se refere a obtenção de bebidas a partir de uvas *Vitis labrusca* nacionais deste capítulo, as variedades BRS Violeta e BRS Carmem foram analisadas a fim de avaliar seu potencial tecnológico na produção de bebidas. Ambas as variedades apresentaram bom rendimento no grau alcoólico, alto teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante, o que confere um apelo funcional aos produtos. As características de cor avaliadas são condizentes aos padrões esperados para suco e vinho.

A “água de vinho” aparece como uma opção dentro da economia circular, como reutilização do bagaço para o desenvolvimento de um novo produto de valor agregado, assunto que será abordado com maior profundidade na continuação deste capítulo. Com os resultados

obtidos, é possível concluir que o bagaço de uva oriundo de processos de suco e fermentação possui ainda compostos de alto valor industrial que podem ser recuperados.

Considerando que essas variedades não convencionais são relativamente novas no mercado, o apelo inovador vem não apenas do potencial tecnológico, mas também da possibilidade de expandir a produção de uva no país, visto serem variedades que adaptáveis a diferentes regiões e com diferentes picos de produção. Isso enfatiza o investimento em melhoramento genético como parte de projetos de economia sustentável. Investimento em desenvolver frutas que se adaptam melhor aos diversos climas brasileiros permite a expansão do cultivo, resultando em melhor manejo das videiras e maior produção. No Brasil, temos instituições agronômicas como a EMBRAPA e a EPAGRI, investindo em estudos nesse sentido. Na Irlanda, o instituto de pesquisa TEAGASC está investigando quais variedades de macieira se adaptam melhor ao clima para incentivar a sua produção no país, para que mais maçãs sejam produzidas nacionalmente do que importadas.

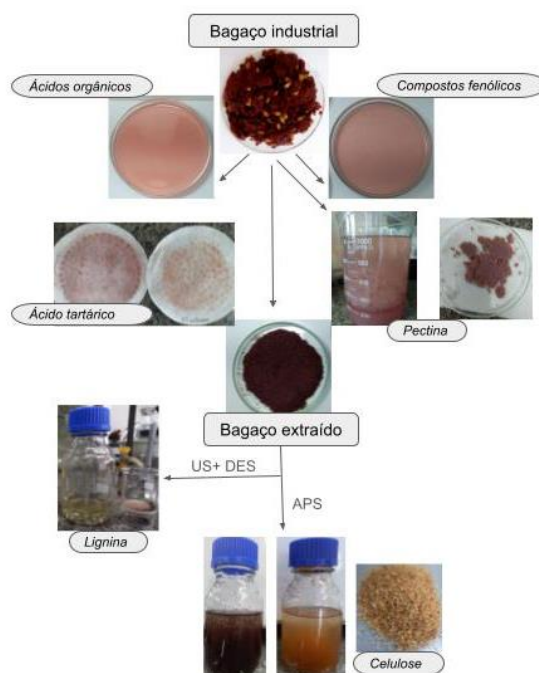
Dentro de um cenário de sustentabilidade, o melhoramento genético atrelado a pesquisa científica para aptidão tecnológica se torna imprescindível para um futuro mais sustentável em todo o mundo. Isso destaca a importância da transferência de tecnologia que vem dos centros acadêmicos e pesquisas para a indústria.

3.3.5 Recuperação de compostos de alto valor agregado do bagaço industrial

As variedades BRS Violeta e BRS Carmem, por serem variedades recentes e não comerciais, não estão amplamente disponíveis. Assim, a variedade de uva *Cabernet Sauvignon*, conhecida como uma das variedades mais cultivadas no mundo (5% da área total mundial para produção de vinho e 1 % da área destinada a uvas para vinho no Brasil) (OIV, 2017), foi escolhida para a Parte 2 desse capítulo, por sua importância e maior disponibilidade comercial do bagaço após fermentação do mosto.

O bagaço industrial seco de fermentado de uva *Cabernet Sauvignon* possibilitou explorar essa matéria-prima dentro do conceito de uma biorrefinaria em escala laboratorial. A Figura 23 apresenta os produtos obtidos de uma maneira geral. O Extrato 1 corresponde a água do vinho mencionada anteriormente.

Figura 23. Fluxograma dos produtos obtidos a partir do bagaço industrial.



Legenda: US: Ultrassom; DES: Solvente eutético profundo

Fonte: A autora

A Figura 24 traz os produtos obtidos, em uma primeira fase de recuperação de compostos, utilizando tecnologia e solventes mais ecológicos.

Figura 24. Extrações a partir do bagaço da fermentação da uva *Cabernet Sauvignon* (industrial) na Fase 1.



Legenda: A- Bagaço de maçã seco e moído; B- Extrato 1(ácidos orgânicos); C- Extrato 2 (compostos fenólicos); D- Precipitação da pectina no extrato 3; E- Precipitado com ácido tartárico do extrato 1 e extrato 2 e; F-Pectina precipitada.

a) Compostos fenólicos, ácidos orgânicos e atividade antioxidante

Os ácidos orgânicos quantificados no extrato aquoso “água do vinho” (Extrato 1) foram o ácido málico (118 mg/100 mL), ácido cítrico (41 mg/ 100 mL), ácido acético (110 mg/ 100 mL), e ácido láctico (113 mg/ 100 mL). O ácido tartárico foi identificado, mas não pode ser quantificado por CLAE. A partir de 50g de bagaço seco e moído, quantitativamente, o precipitado contendo ácido tartárico extraído dos Extrato 1 e Extrato 2, correspondem a 464 mg e 180 mg (1 % e 0,4 %). A cristalização do ácido tartárico ocorre durante o período de refrigeração do vinho, e pode causar instabilidade na bebida. A sua remoção é facilitada pela formação dos cristais (Lasanta; Gómez, 2012).

Esses resultados demonstram a possibilidade da recuperação e purificação do ácido tartárico a partir do bagaço do fermentado de uva. Os autores Mato, Suárez-Luque e Huidobro (2007) quantificaram em torno de 50 % de ácido tartárico em uvas e vinhos, e 30 % de ácido málico entre os ácidos presentes. Uma possível aplicação para o ácido tartárico, dentro de uma perspectiva de biorrefinaria, foi elucidada pelos autores Wang *et al.* (2024), onde o pré-tratamento de junco com ácido tartárico e etanol em reatores com alta temperatura, possibilitaram a remoção de mais da metade de lignina e maximizaram a recuperação de xilose.

Esse pré-tratamento ocorre para otimizar a fermentação e produzir biocombustível a partir dessa matriz. Além disso, não foi necessário purificar o ácido tartárico, reutilizado até 4 vezes.

Com relação à composição fenólica, flavonoides, antocianinas e atividade antioxidante dos extratos, a Tabela 12 organiza os resultados obtidos através das análises espectrofotométricas realizadas. O Extrato 1 foi preparado na proporção 1/5, sendo que a partir de 100g de bagaço, 0,5 L de extrato foi obtido.

Tabela 12. Análises de compostos fenólicos totais, flavonoides, antocianinas e atividade antioxidante para bagaço de uva fermentado industrial (*Cabernet Sauvignon*).

	CF totais	FD	FRAP	DPPH	ABTS
Extrato 1	290 ± 27	150 ± 9	6378 ± 141	1852 ± 341	4746 ± 465
Extrato 2	1892 ± 115	235 ± 10	60786 ± 431	38817 ± 3733	13470 ± 607

Legenda: Compostos fenólicos (CF) totais: expressos em mg ácido gálico/L; Flavonoides (FD) totais: expresso em mg Catequina/L; FRAP, DPPH e ABTS: expressos em $\mu\text{mol TE/L}$.

A partir das análises, o rendimento da extração com solução etanólica 60 % e banho ultrassônico para compostos fenólicos foi cerca de 6 vezes mais do que a extração com água a 40 °C. Essa diferença já era prevista, visto que o objetivo do Extrato 1 é extrair ácidos orgânicos e do Extrato 2, os compostos fenólicos. Isso indica que os métodos utilizados promovem a extração individual dos produtos de interesse, com perdas mínimas nas etapas anteriores.

Como visto anteriormente, o Extrato 1 proveniente de bagaço fermentado não carrega consigo açúcares solúveis (glucose), sendo um potencial uso, bebidas de baixa caloria. O mercado de água infusionada com sabor de fruta utiliza extratos de fruta (Hint, 2023) para adicionar sabor à água purificada, mercado que demanda matéria-prima como o Extrato 1. Outro potencial produto são as *water drops* (gotas d'água), produto obtido por extratos naturais adicionados na água para saborizá-la (Vital Zing, 2023). Nesse caso, o Extrato 2 poderia ser uma melhor opção, por fornecer propriedades antioxidantes mais elevadas, de forma concentrada, com a evaporação do etanol, solvente que apresenta fácil separação e pode ser reciclado dentro do processo.

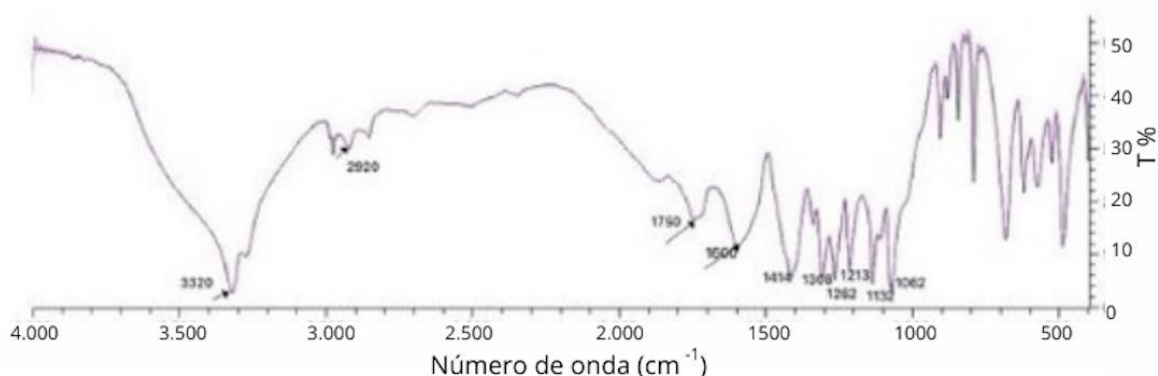
b) *Pectina*

Através da metodologia utilizada, 2% de pectina seca com relação ao bagaço extraído pode ser recuperada. Minjares-Fuentes *et al.* (2014) avaliaram a extração de pectina de bagaço

de vinificação da *Cabernet Sauvignon* com assistência de ultrassom, em meio ácido (ácido cítrico), e através de um planejamento fatorial, o ponto ótimo encontrado equivale a 75 °C, 60 min e pH 2,0. Nesse estudo, o rendimento variou entre 3 a 29 % e o DE entre 20 a 62 %, sendo que o aumento da temperatura, do pH e do tempo resultaram em maiores porcentagens de rendimento. Colodel *et al.* (2020) obtiveram entre 5 a 10 % de rendimento e DE de 18 % para pectina do bagaço de uva *Chardonnay* (prensado para produção de suco), extraída com refluxo de HNO₃ em ebulição.

Na Figura 25, observam-se os principais picos na banda de retenção 3320, 2920, 1750, 1600 cm⁻¹, que correspondem a grupos -OH, -estiramento -CH, grupos carboxílicos esterificados e livres. Bandas de absorção similares foram encontradas por Spinei e Orion (2022), assim como as bandas identificadas na região da digital do espectrograma (*fingertip*).

Figura 25. Análise FT-IR da pectina de bagaço de vinificação industrial obtida.



Utilizando as áreas das bandas de absorção correspondentes às carboxilas esterificadas e livres do espectrograma da Figura 25, determinou-se um grau de esterificação de 26 % para a pectina precipitada e seca. Os resultados obtidos por titulometria da pectina foram organizados na Tabela 13. De acordo com a titulação, a pectina do bagaço de fermentado de uva apresentou baixo grau de esterificação (menor que 50 %).

Tabela 13. Caracterização da pectina de bagaço de fermentado de uva *Cabernet Sauvignon*.

	AUA%	MeO%	F _{ácida}	F _{neutra}	DE
Bagaço Cabernet Sauvignon	57	2,5	60	40	24

Legenda: AUA- ácidos galacturônicos; MeO- metoxilas; F- fração; DE- grau de esterificação.

As pectinas de baixo grau de metoxilação formam gel na presença de íons de cálcio Ca^{+2} , por isso são largamente utilizadas na indústria de produtos lácteos, como as sobremesas lácteas. Por essa interação com o Ca^{+2} , pode ser de interesse a aplicação de pectinas de baixo DE em microencapsulação de compostos funcionais, como agente envoltório e de entrega desses compostos (Hamid *et al.*, 2024).

3.3.6 Remoção da lignina e produção de celulose

O teor de lignina inicial do bagaço de fermentado de uva corresponde a 48%. Comparado com a literatura (Corbin *et al.*, 2015; Coelho *et al.*, 2018), a variedade *Cabernet Sauvignon* analisada apresentou maior teor de lignina. Os parâmetros aplicados para a redução de lignina no bagaço, assistido de equipamento ultrassônico correspondem a 60 °C, 100 % DES e proporção de 1:30 m/v de bagaço/ solvente, ponto determinado no Capítulo 2 desta tese. Esse tratamento conseguiu a remoção de 18% da lignina presente no bagaço. Neste caso, os parâmetros utilizados não foram eficientes para essa etapa.

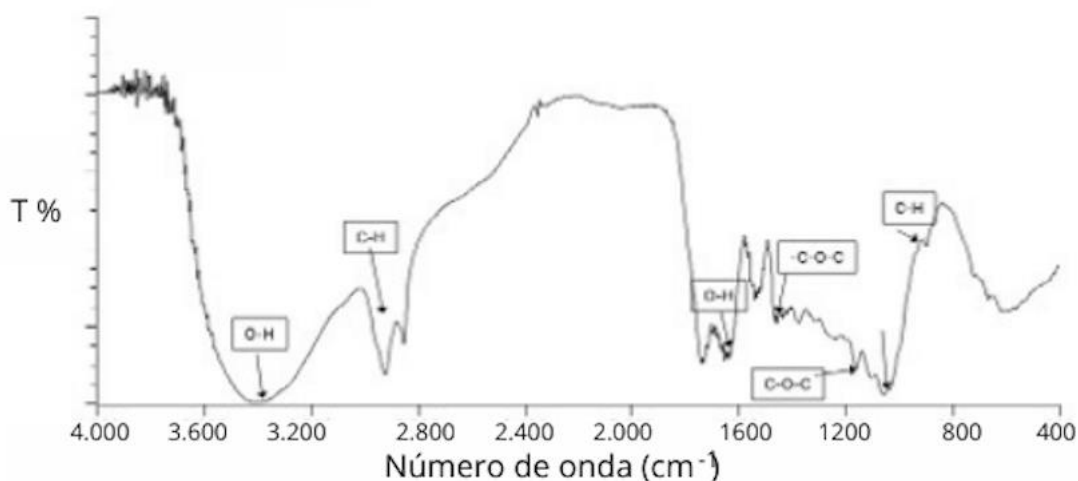
O rendimento de celulose girou em torno de 20 % da massa inicial de bagaço de uva. Este valor está de acordo com a porcentagem média de celulose encontrada para bagaço de uva na literatura (Coelho *et al.*, 2018; Corbin *et al.*, 2015). A caracterização da amostra de celulose obtida por oxidação com persulfato de amônio (1 M) será elucidada a partir das análises instrumentais a seguir.

Análises instrumentais

Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier-FTIR:

O espectro obtido por espectroscopia no infravermelho pode ser analisado na Figura 26.

Figura 26. Espectro no infravermelho de celulose produzida a partir do bagaço da uva

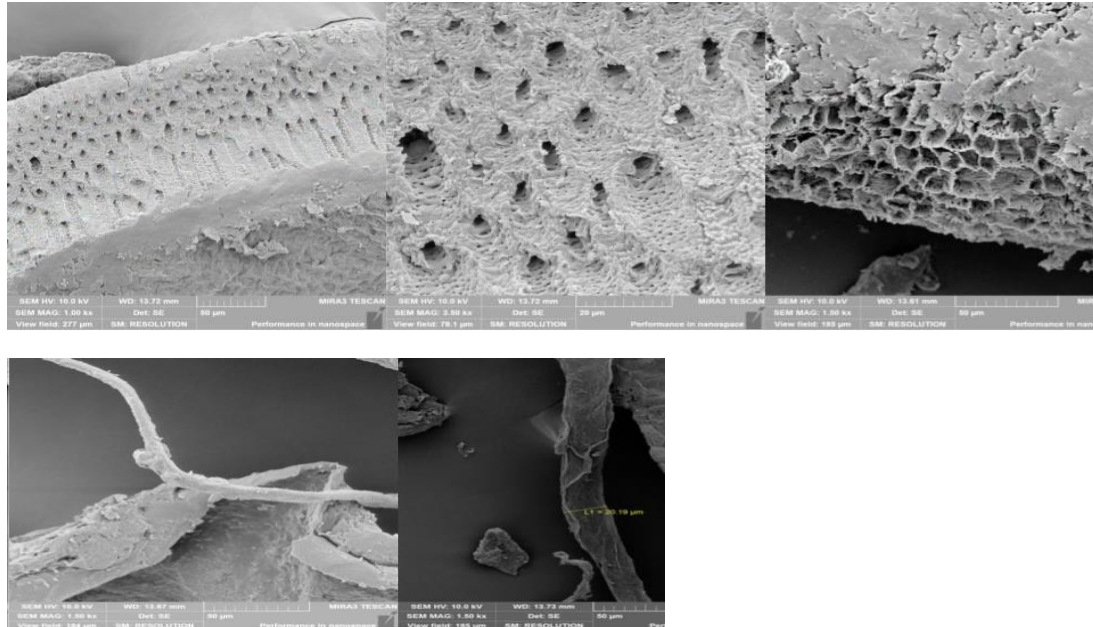


O grupo funcional estiramento O-H encontra-se próximo ao pico 3369 cm^{-1} , estiramento C-H está identificado entre 2922 e 2870 cm^{-1} . A ligação de água O-H aparece em 1650 cm^{-1} , a banda éter glicosídeo C-O-C em 1161 cm^{-1} e a C-H aromática e 912 cm^{-1} . Esses picos também foram identificados como relacionados ao isolamento da celulose por Marakana *et al.* (2021) e Melikoğlu, Bilek e Cesur (2019).

Microscopia Eletrônica de varredura-MEV

As imagens da Figura 27 apresentam celulose após 20 horas de tratamento com persulfato de amônio.

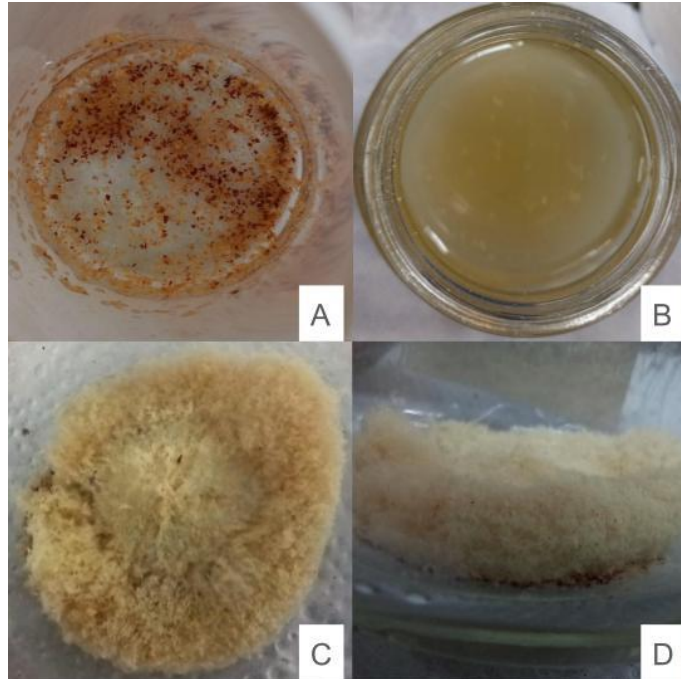
Figura 27. Imagens por MEV da celulose de bagaço de fermentado de uva após 20 horas de oxidação.



É possível observar uma estrutura homogênea e porosa, indicando que foram removidos os demais constituintes e a estrutura de celulose permanece praticamente intacta. Isso indica a resistência da estrutura de celulose nessa matriz vegetal, recomendando ser necessária uma próxima etapa para redução das fibras de maneira mecânica.

A celulose submetida ao tratamento mecânico com equipamento ultrassom produziu uma suspensão homogênea e viscosa, como pode ser observado na Figura 28A (antes) e B (após), e após a liofilização adquiriu um aspecto de "esponja", devido a maneira em que as fibras de celulose se comportaram após a secagem, observado na Figura 28 C e D.

Figura 28. Suspensão de nanocelulose de bagaço de uva (sem tratamento (A), após ultrassonificação (B) e após liofilização (C e D).

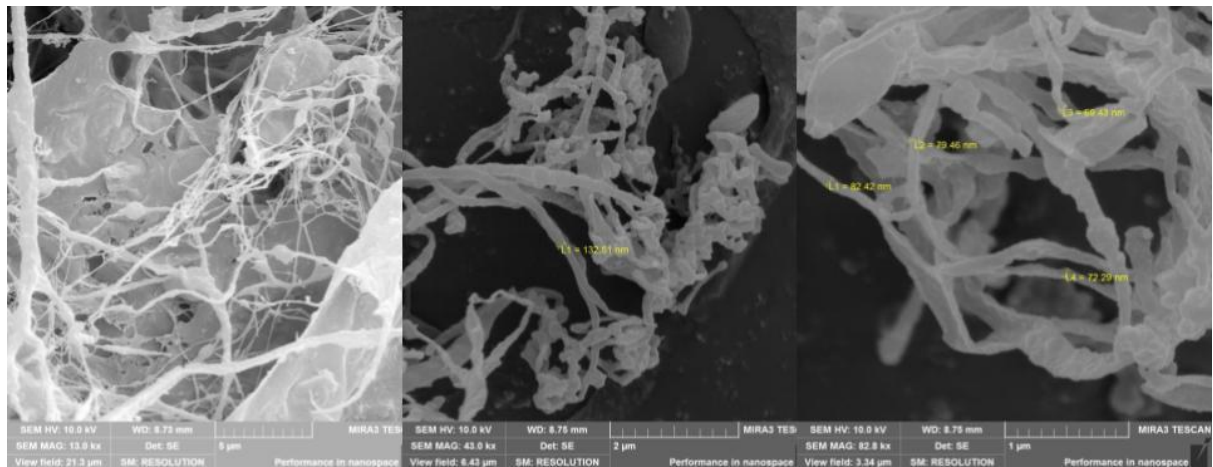


A partir das imagens, podemos observar as duas possibilidades de ofertar a nanocelulose de forma comercial. A forma de suspensão aparece em trabalhos científicos que utilizaram a nanocelulose para produção de filmes biodegradáveis, como visto por Fernandez-Santos et al. (2024). A forma de suspensão permite a produção de filmes por “*casting*”, que apresentaram propriedades hidrofóbicas, promovendo barreiras ao vapor de água.

A partir da liofilização da suspensão de nanocelulose, obtém-se uma espuma, que permite sua aplicação em outros materiais. Mendonza et al. (2019) produziram espuma de nanocelulose a partir de fibras de polpa de eucalipto branqueada, e observaram o potencial superabsorvente do produto, além da influência dos parâmetros de congelamento e concentração de sólidos no gel no potencial de absorção da espuma.

A confirmação da estrutura em escala nano pode ser observada nas imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (Figura 29).

Figura 29. Imagem de nanocelulose liofilizada obtida por MEV.



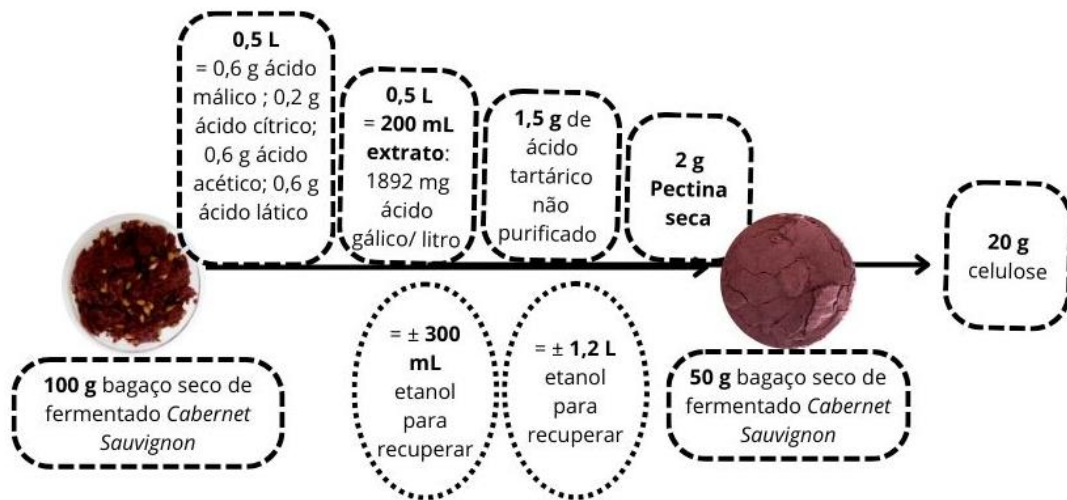
Nota: Aproximação de 13.000, 43.000 e 83.000 vezes, da esquerda para direita.

É possível observar que após a liofilização, a estrutura de nanocelulose se aglomerou. Ampliando 43 e 83 mil vezes, as fibras de celulose apresentam tamanho de espessura nano (69 a 132 nm nas medições realizadas), indicando que foi possível obter a nanocelulose após o processamento oxidativo e mecânico aplicados.

3.3.7 Produtos obtidos a partir de 100g de bagaço

O balanço de massa para os resultados obtidos neste trabalho está descrito a Figura 30. O balanço foi baseado em 100 g de bagaço de fermentado de uva *Cabernet Sauvignon* seco, de acordo com os experimentos que foram realizados em escala de laboratório.

Figura 30. Produtos obtidos do bagaço de fermentado de uva a partir de 100 g



Fonte: A autora

Os principais produtos obtidos iniciam pelas extrações: 0,5 L de Extrato 1, 0,5 L de Extrato 2 (onde 60 % equivalem ao etanol da solução que pode ser recuperado) e Extrato 3, que se divide na solução utilizada para precipitar a pectina, da qual o etanol pode ser reciclado no processo. Durante esses processos, houve a precipitação de ácido tartárico, que não pode ser purificado, sendo 1,5 g de precipitado recuperado por filtração à vácuo. Após as extrações, a quantidade de matéria lignocelulósica remanescente compreende 50% da massa inicial de bagaço, valor similar ao encontrado para biorrefinaria de bagaço de maçã, visto no Capítulo 2. A partir desse bagaço, a celulose produzida por oxidação com persulfato de amônio (1M) equivale a 20 % do bagaço inicial, finalizando o total aproveitamento da matéria-prima.

Considerações sobre a recuperação de compostos do bagaço industrial

A uva cv. *Cabernet Sauvignon* é uma das mais produzidas mundialmente para finalidade de processamento de vinho. Neste capítulo, foi possível obter a partir do bagaço do mosto de fermentado de uva produtos de alto valor agregado. O ácido tartárico, precipitado durante o processo de resfriamento do vinho, está presente no bagaço do mosto, e pode ser recuperado. Seu amplo emprego na indústria farmacêutica é uma das aplicações. Dentro de uma biorrefinaria, esse ácido pode ser utilizado em processos de remoção da lignina, além de poder ser reutilizado, como demonstraram alguns estudos.

A pectina de baixo grau de esterificação pode ser utilizada para materiais inovadores, como hidrogéis, bio tinta para impressão 3D e micro encapsulamento. Sua boa interação com íons de cálcio traz o apelo de matéria-prima para materiais carregadores de compostos, bem

como, o extrato de compostos fenólicos obtido apresentou alta atividade antioxidante, o que garante sua aplicação na indústria de alimentos, como aditivo alimentar, e também na indústria farmacêutica.

A celulose extraída do que restou da fração lignocelulósica minimiza a questão de resíduos do processo, sendo reaproveitada para reforço de embalagens inteligentes, biofilmes, hidrogéis, entre outros. Dessa maneira, a partir de um resíduo de processo largamente obtido, produtos de alto valor agregado foram obtidos, gerando o mínimo de resíduos e impacto ambiental, podendo ser utilizados na produção de materiais inovadores, como matéria-prima de segunda geração.

Assim, o trabalho atingiu o objetivo dentro de um conceito circular e sustentável, possível de ser incorporado industrialmente como uma solução de descarte de resíduos da vinificação.

3.4 CONCLUSÃO

As variedades BRS Violeta e BRS Carmem apresentaram aptidão tecnológica para produção de suco de uva integral e fermentado alcoólico, sendo que cada variedade possui características diferentes de cor, atividade antioxidante e cinética de fermentação, o que permite uma ampla gama de características e atributos ao produto a ser explorado industrialmente. Dentro das limitações dessa pesquisa, como a dependência da safra da uva, não foi possível uma análise sensorial dos produtos obtidos, um ponto a ser explorado em trabalhos futuros.

Do ponto de vista de uma biorrefinaria abastecida por bagaço obtida da produção do vinho, a recuperação e purificação do ácido tartárico têm alto valor comercial e aplicações industriais, e pode ser feita a partir do precipitado do extrato aquoso realizado na primeira etapa. A pectina precipitada apresentou baixo grau de esterificação e coloração arroxeada. O mercado de pectina também abrange uma ampla gama de aplicações, especialmente na indústria alimentícia, sendo um produto recuperado de alto interesse comercial. A partir do bagaço da fermentação do vinho, um terceiro produto com potencial para indústria de bebidas não alcoólicas, a água de vinho, apresentou alta capacidade antioxidante e preservou ácidos orgânicos em sua composição, demonstrando o potencial a ser explorado industrialmente, por se tratar de uma bebida desconhecida no mercado e obtida através de matéria-prima de segunda geração.

Importante ressaltar que, da mesma maneira em que há o desenvolvimento de materiais inovadores, encontrar fontes alternativas para obtenção da matéria-prima se torna essencial,

visando alternativas sustentáveis e circulares, como abordado nesta tese. Além dos produtos obtidos nas extrações anteriores, o problema da fração lignocelulósica remanescente pode ser resolvido. O tratamento com solvente eutético profundo assistido de equipamento ultrassom proporcionou a redução da lignina, sendo a fração lignocelulósica do bagaço completamente aproveitada após a produção de celulose, utilizando o método de oxidação por persulfato de amônio.

A possibilidade de total aproveitamento da biomassa com o mínimo de resíduos descartados no processo corrobora com o conceito de bioeconomia e economia circular propostos. Assim, os resultados demonstram a aptidão do bagaço de fermentado de uva industrial em escala laboratorial para projeção de uma planta-piloto de biorrefinaria.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos nesta tese, o potencial do bagaço de maçã e de uva para o desenvolvimento de uma biorrefinaria foi elucidado. O bagaço das frutas mantém produtos de valor agregado, possíveis de serem extraídos e recuperados utilizando um tratamento sequencial com solventes verdes e com equipamentos de tecnologia limpa. O objetivo de atender a uma demanda de economia circular também se enquadra no que foi abordado, visto que essas biorrefinarias podem ser alimentadas de resíduos de outras indústrias de processamento de bebidas.

Os produtos recuperados em cada fração foram caracterizados e apresentam potencial para serem aplicados em outros processamentos, bem como a recuperação dos solventes verdes, como etanol, dentro da própria indústria, torna o processo mais econômico e com apelo ambiental positivo. Os materiais obtidos a partir do bagaço das frutas avaliadas são matéria-prima de produtos biotecnológicos inovadores, portanto, há demanda por eles na indústria biotecnológica, gerando também a necessidade de novas fontes para sua obtenção. A matéria-prima de segunda geração entra no conceito de economia circular e bioeconomia, sendo uma necessidade da sociedade moderna para enfrentar a escassez de recursos não-renováveis ou que exploram o meio ambiente.

É interessante ressaltar que existe uma demanda por pesquisas de integração da academia e indústria, e principalmente, levando em consideração as necessidades ambientais, visto que a cada dia, novas legislações têm como objetivo restringir indústrias que não seguem processamentos considerados ecologicamente positivos, demonstrando a importância dessa tese de doutorado para futuras parcerias entre academia e indústria. Assim, o objetivo da tese foi atingido e esse trabalho promove embasamento para futuros trabalhos acadêmicos a serem explorados.

REFERÊNCIAS

- AGROENERGIA, Biorrefinarias. **Revista Embrapa**, 2011. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/48750/1/biorrefinaria-modificado-web.pdf/>>.
- AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. **Journal of Advanced Research**, v. 6, n. 2, p.105-121, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006/>>.
- AL-HINDI, R. R.; ABD EL GHANI, S. Production of functional fermented milk beverages supplemented with pomegranate peel extract and probiotic lactic acid bacteria. **Journal of Food Quality**, v. 2020, n. 1, p. 1-9, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2020/4710273/>>.
- AIJN - *European Fruit Juice Association* 2018. **Liquid Fruit Market Report**. Bruxelas, 2018. Disponível em: <https://aijn.eu/en/publications/market-reports-1/publication-2>. Acesso: 04 Jan. 2021.
- AICV - The European Cider & Fruit Wine Association. *European Cider Trends* 2020. Disponível em: <<https://aicv.org/en/publications/>>. Acesso: 31 Dez. 2020.
- ALBERTI, A.; MACHADO DOS SANTOS, T. P.; FERREIRA ZIELINSKI, A. A.; ELEUTÉRIO DOS SANTOS, C. M.; BRAGA, C. M.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A. Impact on chemical profile in apple juice and cider made from unripe, ripe and senescent dessert varieties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 436–443, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.045/>>.
- ALBERTI, A.; BRAGA, C. M.; JASTER, H.; NOGUEIRA, A. Dissolved oxygen content in apple must: Technological implications in cider processing. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 120, n. 1, p. 65–70, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jib.113/>>.
- ALBERTI, A.; VIEIRA, R. G.; DRILLEAU, J. F.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Apple wine processing with different nitrogen contents. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n. 3, p. 551–558, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-89132011000300017/>>.
- ALBERTI, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; COUTO, M.; JUDACEWSKI, P.; MAFRA, L. I.; NOGUEIRA, A. Distribution of phenolic compounds and antioxidant capacity in apples tissues during ripening. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 6, p. 1511–1518, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13197-017-2582-z/>>.
- ANTONIOELLI, L. R.; HAWERROTH, F. J.; REVERS, L. F.; NICKEL, O.; MEIRELLES, S. A. ‘**BRS Gala JVZ64**’: primeira cultivar de maçã do grupo ‘Gala’ full color desenvolvida no Brasil., 2024. EMBRAPA, Comunicado técnico 231, versão digital, 2024.
- ALVAREZ-VASCO, C.; MA, R.; QUINTERO, M.; GUO, M.; GELEYNSE, S.; RAMASAMY, K.K.; WOLCOTT, M. AND ZHANG, X. Unique low-molecular-weight lignin with high purity extracted from wood by deep eutectic solvents (DES): a source of lignin for valorization. **Green chemistry**, v. 18, n. 19, p. 5133-5141, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/C6GC01007E/>>.

BENVENUTTI, L.; BORTOLINI, D. G.; FISCHER, T. E.; ZARDO, D. M.; NOGUEIRA, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; ALBERTI, A. Bioactive compounds recovered from apple pomace as ingredient in cider processing: monitoring of compounds during fermentation. **Journal of Food Science and Technology**, v. 59, p. 3349–3358, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13197-021-05318-8/>>.

BENVENUTTI, L.; SANCHEZ-CAMARGO, A. del P.; ZIELINSKI, A. A. F.; FERREIRA, S. R. S. NADES as potential solvents for anthocyanin and pectin extraction from *Myrciaria cauliflora* fruit by-product: In silico and experimental approaches for solvent selection. **Journal of Molecular Liquids**, v. 315, p. 113761, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113761/>>.

BENVENUTTI, L.; BORTOLINI, D. G.; NOGUEIRA, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; ALBERTI, A. Effect of addition of phenolic compounds recovered from apple pomace on cider quality. **LWT - Food Science and Technology**, v. 100, p. 348–354, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.087> />.

BENZIE, I. F. F; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, v. 239, n. 1, p.70-76, 1996. Disponível em: < <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292/>>.

BORREGAARD, 2023. Disponível em: <<https://www.borregaard.com/product-areas/cellulose-fibrils/what-is-exilva/>>. Acesso em: 23 mai. 2023.

BORTOLINI, D. G.; BENVENUTTI, L.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A.; ALBERTI, A.; ZIELINSKI, A. A. F. A new approach to the use of apple pomace in cider making for the recovery of phenolic compounds. **LWT-Food science and Technology**, v. 126, p. 109316, 2020. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109316/>>.

BOSTANCI, N.S.; BÜYÜKSUNGUR, S.; HASIRCI, N.; TEZCANER, A. pH responsive release of curcumin from photocrosslinked pectin/gelatin hydrogel wound dressings. **Biomaterials Advances**, v. 134, p. 112717, 2022. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.msec.2022.112717/>>.

BRAND-WILLIAMS, W; CUVELIER, M-E. BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n 1, p. 25-30. 1995. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5/](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5/)>.

BRASIL. Decreto Nº 11.698, de 11 de setembro de 2023. Altera o Decreto nº 8.198, de 20 de fevereiro de 2014, que regulamenta a Lei nº 7.678, de 8 de novembro de 1988, que dispõe sobre a produção, circulação e comercialização do vinho e derivados da uva e do vinho. **Diário oficial (da) República Federativa do Brasil**. Brasília, 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 64, de 23 de abril de 2008. Aprova os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas fermentadas: fermentado de fruta, sidra, hidromel, fermentado de cana, fermentado de fruta licoroso, fermentado de fruta composto e saquê. **Diário oficial (da) República Federativa do Brasil**. Brasília, 2008. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/>> Acesso em: 01 fev. 2021.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário oficial (da) República Federativa do Brasil**. Brasília, 2009. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/>>. Acesso em: 01 fev. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº49, de 1º de novembro de 2011, que estabelece as práticas enológicas lícitas para a elaboração de vinho e mosto de uva e para a uva destinada à industrialização. **Diário oficial (da) República Federativa do Brasil**. Brasília, 2011. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/>>. Acesso em: 01 fev. 2021.

CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; NACHTIGAL, J. C. BRS Violeta: nova cultivar de uva para suco e vinho de mesa. Bento Gonçalves: **EMBRAPA Uva e vinho**, 2005. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/541004/1/cot063.pdf/>>.

CAMARGO, U. A.; MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P. S. BRS Carmem: nova cultivar de uva tardia para suco. Bento Gonçalves: **EMBRAPA Uva e vinho**, 2008. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/542548/1/cot084.pdf/>>.

CAPANOGLU, E.; DE VOS, R. C. H.; HALL, R. D.; BOYACIOGLU, D.; BEEKWILDER, J. Changes in polyphenol content during production of grape juice concentrate. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1–4, p. 521–526, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.023/>>.

CARSON, K. J.; COLLINS J. L., PENFIELD M. P. Unrefined, dried apple pomace as a potential food ingredient. **Journal of Food Science**. v. 59, n. 6, p. 1213–1215, 1994. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb14679.x/>>.

CERVANTES-ELIZARRARÁS, A.; PILONI-MARTINI, J.; RAMÍREZ-MORENO, E.; ALANÍS-GARCÍA, E.; GÜEMES-VERA, N.; GÓMEZ-ALDAPA, C. A.; ZAFRA-ROJAS, Q. Y.; CRUZ-CANSINO, N. D. S. Enzymatic inactivation and antioxidant properties of blackberry juice after thermoultrasound: Optimization using response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 371–379, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.009/>>.

CHEN, M.; LAHAYE, M. Natural deep eutectic solvents pretreatment as an aid for pectin extraction from apple pomace. **Food Hydrocolloids**, v. 115, p. 106601, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106601/>>.

CHEN, M.; FALOURD, X.; LAHAYE, M. Sequential natural deep eutectic solvent pretreatments of apple pomace: A novel way to promote water extraction of pectin and to tailor its main structural domains. **Carbohydrate Polymers**, v. 266, p.118113, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118113/>>.

CHIAVAROLI, A.; BALAHA, M.; ACQUAVIVA, A.; FERRANTE, C.; CATALDI, A.; MENGHINI, L.; RAPINO, M.; ORLANDO, G.; BRUNETTI, L.; LEONE, S.; RECINELLA, L. Phenolic characterization and neuroprotective properties of grape pomace extracts. **Molecules**, v. 26, n. 20, p. 6216, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/molecules26206216/>>.

CIDAF. Disponível em: <<https://www.cidaf.es/planta-piloto/>> Acesso em: abr. 2024.

COELHO, C.C.S. *et al.* Cellulose nanocrystals from grape pomace: Production, properties and cytotoxicity assessment. **Carbohydrate polymers**, v. 192, p. 327-336, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.023/>>.

COLODEL, C. *et al.* Optimization of acid-extraction of pectic fraction from grape (*Vitis vinifera* cv. Chardonnay) pomace, a Winery Waste. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 161, p. 204-213, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.272/>>.

CORBIN, Kendall R. *et al.* Grape marc as a source of carbohydrates for bioethanol: Chemical composition, pre-treatment and saccharification. **Bioresource Technology**, v. 193, p. 76-83, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852415008160/>>.

COSSIGNANI, L.; IANNI, F.; BLASI, F.; POLLINI, L.; DI MICHELE, A.; PAGANO, C.; RICCI, M.; PERIOLI, L. Effect of different drying treatments and sieving on royal gala apple pomace, a thickening agent with antioxidant properties. **Plants**, v. 12, n. 4, p. 906, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/plants12040906/>>.

DAI, Y.; VAN SPRONSEN, J.; WITKAMP, G.J.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y.H. Ionic liquids and deep eutectic solvents in natural products research: mixtures of solids as extraction solvents. **Journal of Natural Products**, v. 76 n.11, p. 2162-2173, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/np400051w/>>.

DA SILVA, M. J. R.; DA SILVA PADILHA, C. V.; DOS SANTOS LIMA, M.; PEREIRA, G. E.; VENTURINI FILHO, W. G.; MOURA, M. F.; TECCHIO, M. A. Grape juices produced from new hybrid varieties grown on Brazilian rootstocks–Bioactive compounds, organic acids and antioxidant capacity. **Food chemistry**, v. 289, p. 714-722, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.060/>>.

DA ROCHA, C. B.; NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation and controlled release of bioactive compounds from grape pomace. **Drying Technology**, v. 39, n. 8, p. 1018-1032, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1741004/>>.

DE CASTILHOS, M. B. M.; DEL BIANCHI, V. L.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Sensory descriptive and comprehensive GC–MS as suitable tools to characterize the effects of alternative winemaking procedures on wine aroma. Part I: BRS Carmem and BRS Violeta. **Food Chemistry**, v. 272, p. 462–470, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.066/>>.

DE CASTILHOS, M.B.M. *et al.* Sensory acceptance drivers of pre-fermentation dehydration and submerged cap red wines produced from *Vitis labrusca* hybrid grapes. **LWT-Food Science and Technology**, v. 69, p. 82-90, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.043/>>.

DENARDI, F.; KVITSCHAL, M. V.; HAWERROTH, M. C.; ARGENTA, L. C. ‘SCS425 Luiza’: New apple cultivar with medium chilling requirement and resistant to glomerella leaf spot (*Colletotrichum spp.*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 41, n. 1, p. 1–7, 2019a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0100-29452019109>>.

DENARDI, F.; KVITSCHAL, M. V.; HAWERROTH, M. C.; ARGENTA, L. C. SCS426 venice: new apple cultivar with glomerella leaf spot resistance and picking time in march. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 19, n. 4, p. 481–486, 2019b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/198470332019v19n4c69>>.

DRANCA, F.; VARGAS, M.; OROIAN, M. Physicochemical properties of pectin from *Malus domestica* ‘Fălticeni’ apple pomace as affected by non-conventional extraction techniques. **Food Hydrocolloids**, v. 100, p. 105383, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105383>>.

EBLAGHI, M.; BRONLUND, J. E.; YEDRO, F. M.; ARCHER, R. H. Kinetics of pectin reactions in apple pomace during hydrothermal treatment. **Food and Bioprocess Technology**, v. 14, p. 739-750, 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-021-02603-4>>.

EL FIHRY, N.; EL MABROUK, K.; EECKHOUT, M.; SCHOLS, H.A.; FILALI-ZEGZOUTI, Y.; HAJJAJ, H. Physicochemical and functional characterization of pectin extracted from Moroccan citrus peels. **LWT - Food Science and Technology**, v. 162, p. 113508, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113508>>.

EPAGRI. Avaliação de cultivares para o estado de Santa Catarina 2023-2024. **EPAGRI. Boletim Técnico**, n. 212. On-line, 2023. Disponível em: <<https://publicacoes.epagri.sc.gov.br/BT/article/view/1734>>.

FAOStat database. Statistical Database. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/OA_>. Acesso: jan. 2024.

FAN, Q.; JIANG, C.; WANG, W.; BAI, L.; CHEN, H.; YANG, H.; WEI, D.; YANG, L. Eco-friendly extraction of cellulose nanocrystals from grape pomace and construction of self-healing nanocomposite hydrogels. **Cellulose**, v. 27, p. 2541-2553, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10570-020-02977-2>>.

FERNÁNDEZ-SANTOS, J., VALLS, C., CUSOLA, O., & RONCERO, M. B. Periodate oxidation of nanofibrillated cellulose films for active packaging applications. **International journal of biological macromolecules**, 267, 131553, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131553>>.

FERTONANI, H. C. R., SCABIO, A., SCHEMIN, M. H. C., CARNEIRO, E. B. B., NOGUEIRA, A., & WOSIACKI, G. Influência da concentração de ácidos no processo de extração e na qualidade de pectina de bagaço de maçã. **Semina: Ciências Agrárias**, 27(4), 599-612, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2006v27n4p599>>.

FIORAVANÇO, J. C. Evolução da participação dos cultivares lançados pela Embrapa na viticultura do Estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Viticultura e Enologia**, v. 10, p. 18–26, 2018. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1096611/>>.

FRANCISCO, M.; VAN DEN BRUINHORST, A.; ZUBEIR, L. F.; PETERS, C. J.; KROON, M. C. A new low transition temperature mixture (LTTM) formed by choline chloride+ lactic acid: Characterization as solvent for CO₂ capture. **Fluid Phase Equilibria**, v. 340, p. 77-84, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fluid.2012.12.001/>>.

GAMA, R.; VAN DYK, J. S.; BURTON, M. H.; PLETSCHKE, B. I. Using an artificial neural network to predict the optimal conditions for enzymatic hydrolysis of apple pomace. **3 Biotech**, v. 7, n. 2, p. 1–10, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13205-017-0754-1/>>.

GEMECHU, B.; KEYATA, E. O.; GELETA, T. E.; GEMEDE, H. F.; BAYATA, A. Optimization of Mango Peel Pectin Extraction (*Mangifera indica L.*): for the Production of Jam and Jelly. **Applied Food Research**, v. 4, n. 1, p. 100411, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.afres.2024.100411/>>.

GENISHEVA, Z.; MUSSATTO, S. I.; OLIVEIRA, J. M.; TEIXEIRA, J. A. Malolactic fermentation of wines with immobilised lactic acid bacteria-Influence of concentration, type of support material and storage conditions. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2–3, p. 1510–1514, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.058/>>.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**, 2001, 1: F1. 2.1-F1. 2.13. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00/>>.

GOMES, T. A.; FILHO, M. R. F.; ZIELINSKI, A. A. F.; PIETROWSKI, G. A. M.; NOGUEIRA, A. Microbial Levels in Apple Must and Their Association with Fruit Selection, Washing and Sanitization. **Journal of Food Safety**, v. 34, p. 141-149, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jfs.12107/>>.

GOMEZ, H.A.G.; MARQUES, M.O.M.; BORGES, C.V.; MINATEL, I.O.; MONTEIRO, G.C.; RITSCHER, P.S.; ZANUS, M.C.; DIAMANTE, M.S.; KLUGE, R.A.; LIMA, G.P.P. Biogenic amines and the antioxidant capacity of juice and wine from Brazilian hybrid grapevines. **Plant foods for human nutrition**, v. 75, p. 258-264, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11130-020-00811-5/>>.

GÓMEZ, A. V.; TADINI, C. C.; BISWAS, A.; BUTTRUM, M.; KIM, S.; BODDU, V. M.; CHENG, H. N. Microwave-assisted extraction of soluble sugars from banana puree with natural deep eutectic solvents (NADES). **LWT**, v. 107, p. 79-88, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.052/>>.

GÜZEL, M.; AKPINAR, Ö. Valorisation of fruit by-products: Production characterization of pectins from fruit peels. **Food and Bioproducts Processing**, v. 115, p. 126-133, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.03.009/>>.

HAMID, S., OUKIL, N. F., MOUSSA, H., MAHDJOUB, M. M., DJIHAD, N., BERRABAH, I.,; HENTABLI, M. (2024). Enhancing basil essential oil microencapsulation using pectin/casein biopolymers: Optimization through D-optimal design, controlled release modeling, and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 265, p.130948. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130948/>>.

HASSAN, S. S.; RAVINDRAN, R.; JAISWAL, S.; TIWARI, B. K.; WILLIAMS, G. A.; JAISWAL, A. K. An evaluation of sonication pretreatment for enhancing saccharification of brewers' spent grain. **Waste Management**, v. 105, p. 240–247, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.02.012/>>.

HASSAN, S. S.; TIWARI, B. K.; WILLIAMS, G. A.; JAISWAL, A. K. Bioprocessing of brewers' spent grain for production of xylanopectinolytic enzymes by *Mucor* sp. **Bioresource Technology Reports**, v. 9, p. 100371, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100371/>>.

HASSAN, S. S.; WILLIAMS, G. A.; JAISWAL, A. K. Moving towards the second generation of lignocellulosic biorefineries in the EU: Drivers, challenges, and opportunities. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 101, p. 590–599, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.11.041/>>.

HINT. **How do you get fruit flavors into water without sugar?.** 2023. Disponível em: <<https://support.drinkhint.com/en-US/how-do-you-get-fruit-flavors-into-water-without-sugar-489748/>>. Acesso em: 06 jun. 2024.

HIJO, A. A. T.; ALVES, C.; FARIAS, F. O.; PEIXOTO, V. S.; MEIRELLES, A. J.; SANTOS, G. H.; MAXIMO, G. J. Ionic liquids and deep eutectic solvents as sustainable alternatives for efficient extraction of phenolic compounds from mate leaves. **Food Research International**, v. 157, p. 111194, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111194/>>.

HIJOSA-VALSERO, M.; PANIAGUA-GARCÍA, A. I.; DÍEZ-ANTOLÍNEZ, R. Biobutanol production from apple pomace: the importance of pretreatment methods on the fermentability of lignocellulosic agro-food wastes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 21, p. 8041–8052, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00253-017-8522-z/>>.

IBGE. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/macacab/>>. Acesso em: mar. 2024.

JACKOWETZ, J. N.; MIRA DE ORDUÑA, R. Metabolism of SO₂ binding compounds by *Oenococcus oeni* during and after malolactic fermentation in white wine. **International Journal of Food Microbiology**, v. 155, n. 3, p. 153–157, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.01.025/>>.

JAYANI, R. S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2931–2944, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.026/>>.

KANUNGO, M.; WANG, Y.; HUTCHINSON, N.; KROLL, E.; DEBRUINE, A.; KUMPATY, S.; REN, L.; WU, Y.; HUA, X.; ZHANG, W. Development of gelatin-coated microspheres for novel bioink design. **Polymers**, v. 13 n. 19, p. 3339, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/polym13193339>>.

KHOEI, M.; CHEKIN, F. The ultrasound-assisted aqueous extraction of rice bran oil. **Food Chemistry**, v. 194, p. 503–507, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.068>>.

JOSHI, D. R.; ADHIKARI, N. An overview on common organic solvents and their toxicity. **Journal of Pharmaceutical Research International**, v. 28, n.3, p. 1-18, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.9734/jpri/2019/v28i330203>>.

KHORASANI, A. C.; SHOJAOSADATI, S. A. Bacterial nanocellulose-pectin bionanocomposites as prebiotics against drying and gastrointestinal condition. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 83, p. 9–18, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.041>>.

KIAN, L. K.; SABA, N.; JAWAID, M.; ALOTHMAN, O. Y.; FOUAD, H. Properties and characteristics of nanocrystalline cellulose isolated from olive fiber. **Carbohydrate Polymers**, v. 241, p. 116423, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116423>>.

KRATHUMKHET, N.; IMAE, T.; PARADEE, N. Electrically controlled transdermal ibuprofen delivery consisting of pectin-bacterial cellulose/polypyrrole hydrogel composites. **Cellulose**, v.28, p.11451-11463, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10570-021-04259-x>>.

KUMAR, A.; CHAUHAN, G. S. Extraction and characterization of pectin from apple pomace and its evaluation as lipase (steapsin) inhibitor. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 2, p. 454-459, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.05.001>>.

KUT, A.; DEMIRAY, E.; ERTUĞRUL KARATAY, S.; DÖNMEZ, G. Second generation bioethanol production from hemicellulolytic hydrolyzate of apple pomace by *Pichia stipitis*. **Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects**, v. 44, n. 2, p. 5574-5585, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/15567036.2020.1838000>>.

LASANTA, C.; GÓMEZ, J. Tartrate stabilization of wines. **Trends in Food Science & Technology**, v. 28, n. 1, p. 52-59, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.06.005>>.

LEFROY, K. S.; MURRAY, B. S.; RIES, M. E.; CURWEN, T. D. A natural, cellulose-based microgel for water-in-oil emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 113, p. 106408, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106408>>.

LEI, Y.; YAO, Q.; JIN, Z.; WANG, Y. C. Intelligent films based on pectin, sodium alginate, cellulose nanocrystals, and anthocyanins for monitoring food freshness. **Food chemistry**, v. 404, p. 134528, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134528>>.

LEONEL, L. V.; SENE, L.; DA CUNHA, M. A. A.; DALANHOL, K. C. F.; DE ALMEIDA FELIPE, M. das G. Valorization of apple pomace using bio-based technology for the production of xylitol and 2G ethanol. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 43, n. 12, p. 2153–2163, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00449-020-02401-w/>>.

LEUNG, ACW *et al.* Characteristics and properties of carboxylated cellulose nanocrystals prepared from a novel one-step procedure. **Small**, v. 7, n. 3, p. 302-305, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/sml.201001715/>>.

LIU, L.; KERR, W. L.; KONG, F.; DEE, D. R.; LIN, M. Influence of nano-fibrillated cellulose (NFC) on starch digestion and glucose absorption. **Carbohydrate Polymers**, v. 196, p. 146–153, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.116/>>.

LÓPEZ-BELCHÍ, M.D.; CAAMAÑO, E.F.; PASCUAL, G.; NORIEGA, F.; FIERRO-MORALES, P.; ROMERO-ROMÁN, M.E.; JARA, P.; SCHOEBITZ, M.; SERRA, I.; MORENO, D.A. Spray-dried formulations rich in malvidin from tintorera grape wastes: characterization, stability, and storage. **Processes**, v. 9, n. 3, p. 518, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/pr9030518/>>.

LOPEZ-RODULFO, I. M.; TSOCHATZIS, E. D.; STENTOFT, E. W.; MARTINEZ-CARRASCO, P.; BECHTNER, J. D.; MARTINEZ, M. M. Partitioning and in vitro bioaccessibility of apple polyphenols during mechanical and physiological extraction: A hierarchical clustering analysis with LC-ESI-QTOF-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 441, p. 138320, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138320/>>.

LU, Z.; YE, F.; ZHOU, G.; GAO, R.; QIN, D.; ZHAO, G. Micronized apple pomace as a novel emulsifier for food O/W Pickering emulsion. **Food Chemistry**, v. 330, p. 127325, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127325/>>.

LUO, J.; BROTHIE, J.; PANG, M.; MARRIOTT, P. J.; HOWELL, K.; ZHANG, P. Free terpene evolution during the berry maturation of five *Vitis vinifera* L. cultivars. **Food Chemistry**, v. 299, p. 125101, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125101/>>.

MACHADO, A. P. D. F.; PASQUEL-REÁTEGUI, J. L.; BARBERO, G. F.; MARTÍNEZ, J. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: A comparison with conventional methods. **Food Research International**, v. 77, p. 675–683, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.042/>>.

MAGYAR, M.; DA COSTA SOUSA, L.; JIN, M.; SARCS, C.; BALAN, V. Conversion of apple pomace waste to ethanol at industrial relevant conditions. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 7349–7358, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00253-016-7665-7/>>.

MALDONADE, I. R.; DE CARVALHO, P. G. B.; FERREIRA, N. A. Protocolo para determinação de açúcares redutores pelo método de Somogyi-Nelson. **Comunicado técnico EMBRAPA**, 2013. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/956360/1/cot86.pdf/>>.

MARAKANA, P. G.; DEY, A.; SAINI, B. Isolation of nanocellulose from lignocellulosic biomass: Synthesis, characterization, modification, and potential applications. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 6, p. 106606, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106606>>.

MARIÑO, M. A.; REZENDE, C. A.; TASIC, L. A multistep mild process for preparation of nanocellulose from orange bagasse. **Cellulose**, v. 25, n. 10, p. 5739–5750, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10570-018-1977-y>>.

MARKETSANDMARKETS. **Nanocellulose Market by Type (mfc & nfc, cnc/ncc), Raw Material (Wood, Non-wood), Application (Paper & Pulp, Composites, Paints & Coatings, Biomedical & Pharmaceuticals, Electronics & Sensors), and Region - Global Forecast to 2030**. Disponível em: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/nano-cellulose-market-56392090.html?gclid=CjwKCAjwpayjBhAnEiwA-7ena64LLOzKMO_X7WRKzzUgzHrPHpCvVleOUVzAL3fB4oHFAwugkrYOmhoCfasQAvD_BwE/>. Acesso em: 23 de mai. 2023.

MARKOV, P.A.; KRACHKOVSKY, N.S.; DURNEV, E.A.; MARTINSON, E.A.; LITVINETS, S.G.; POPOV, S.V. Mechanical properties, structure, bioadhesion, and biocompatibility of pectin hydrogels. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 105 n. 9, p. 2572-2581, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jbm.a.36116>>.

MATO, I.; SUÁREZ-LUQUE, S.; HUIDOBRO, J. F. Simple determination of main organic acids in grape juice and wine by using capillary zone electrophoresis with direct UV detection. **Food Chemistry**, v. 102, n. 1, p. 104–112, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.002>>.

MELIKOĞLU, A. Y.; BILEK, S. E.; CESUR, S. Optimum alkaline treatment parameters for the extraction of cellulose and production of cellulose nanocrystals from apple pomace. **Carbohydrate polymers**, 215, 330-337, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.103>>.

MELLO, L.M.R. e MACHADO, C.A.E. Vitivinicultura brasileira: Panorama 2019. **Comunicado Técnico**, 2020.

MENDES LOPES, M. L.; MIGUEL, M. A. L.; FIALHO, E.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Grape juice obtained using steam extraction and other small-scale extraction methods: phenolic content, antioxidant capacity and stability during storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 7, p. 1696–1702, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/ijfs.13144>>.

MENDOZA, L., HOSSAIN, L., DOWNEY, E., SCALES, C., BATCHELOR, W., & GARNIER, G. Carboxylated nanocellulose foams as superabsorbents. **Journal of colloid and interface science**, 538, 433-439, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.11.112>>.

MINJARES-FUENTES, R.; FEMENIA, A.; GARAU, M. C.; MEZA-VELÁZQUEZ, J. A.; SIMAL, S.; ROSSELLÓ, C. Ultrasound-assisted extraction of pectins from grape pomace using citric acid: A response surface methodology approach. **Carbohydrate polymers**, v. 106, p. 179-189, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.013/>>.

MOLINA-RAMÍREZ, C.; CAÑAS-GUTIÉRREZ, A.; CASTRO, C.; ZULUAGA, R.; GAÑÁN, P. Effect of production process scale-up on the characteristics and properties of bacterial nanocellulose obtained from overripe Banana culture medium. **Carbohydrate Polymers**, v. 240, p. 116341, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116341/>>.

MOLINA-RAMÍREZ, C.; CASTRO, M.; OSORIO, M.; TORRES-TABORDA, M.; GÓMEZ, B.; ZULUAGA, R.; GÓMEZ, C.; GAÑÁN, P.; ROJAS, O. J.; CASTRO, C. Effect of different carbon sources on bacterial nanocellulose production and structure using the low pH resistant strain *Komagataeibacter medellinensis*. **Materials**, v. 10, n. 6, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ma10060639/>>.

MOLINA, A. M.; SWIEGERS, J. H.; VARELA, C.; PRETORIUS, I. S.; AGOSIN, E. Influence of wine fermentation temperature on the synthesis of yeast-derived volatile aroma compounds. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 77, p. 675–687, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00253-007-1194-3/>>.

NADEEM, M.; UBAID, N.; QURESHI, T. M.; MUNIR, M.; MEHMOOD, A. Effect of ultrasound and chemical treatment on total phenol, flavonoids and antioxidant properties on carrot-grape juice blend during storage. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 45, p. 1–6, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.02.034/>>.

NANOSCOPING. Disponível em: <<https://www.nanoscoping.com.br/sobre-nos/>>. Acesso em: 23 mai. 2023.

NAQASH, F.; MASOODI, F. A.; GANI, A.; NAZIR, S.; JHAN, F. Pectin recovery from apple pomace: physico-chemical and functional variation based on methyl-esterification. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 56, n. 9, p. 4669-4679, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/ijfs.15129/>>.

NELSON, N. A fotometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. **J. Biol. Chem.**, v. 153, p. 375-80, 1944.

NIXDORF, S. L.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Brazilian red wines made from the hybrid grape cultivar Isabel: Phenolic composition and antioxidant capacity. **Analytica Chimica Acta**, v. 659, n. 1–2, p. 208–215, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.11.058/>>.

NOGUEIRA, A.; GUYOT, S.; MARNET, N.; LEQUÉRÉ, J. M.; DRILLEAU, J. F.; WOSIACKI, G. Effect of alcoholic fermentation in the content of phenolic compounds in cider processing. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 5, p. 1025–1032, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-89132008000500020/>>.

NOGUEIRA, A.; SANTOS, L. D.; WIECHETECK, F. V. B.; GUYOT, S.; WOSIACKI, G. Efeito do processamento no teor de compostos fenólicos em suco de maçã. **Publicatio UEPG: Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias**, v. 9, n. 3, p. 7, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.5212/publicatio.v9i03.809/>>.

NUTRIPR. Disponível em: <<https://www.nutripr.com/ovine-varietal-wine-essence-water/>>. Acesso em: 23 abr. 2023.

O'BRIEN, W. D. Ultrasound-biophysics mechanisms. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 93, n. 1–3, p. 212–255, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2006.07.010/>>.

OCHANDO, T.; MOURET, J. R.; HUMBERT-GOFFARD, A.; AGUERA, E.; SABLAYROLLES, J. M.; FARINES, V. Comprehensive study of the dynamic interaction between SO₂ and acetaldehyde during alcoholic fermentation. **Food Research International**, v. 136, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109607/>>.

OIV. Focus O.I.V. Distribution of the world's grapevine varieties. **International Organisation of Vine and Wine**, p. 54, 2017.

OUN, A.A.; RHIM, J.W. Characterization of carboxymethyl cellulose-based nanocomposite films reinforced with oxidized nanocellulose isolated using ammonium persulfate method. **Carbohydrate polymers**, v. 174, p. 484-492, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.06.121/>>.

PANIĆ, M.; ANDLAR, M.; TIŠMA M.; REZIĆ, T.; ŠIBALIĆ D.; BUBALO M. C.; REDOVNIKOVIĆ I. R. Natural deep eutectic solvent as a unique solvent for valorisation of orange peel waste by the integrated biorefinery approach. **Waste management**, v. 120, p. 340-350, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.11.052/>>.

PEIXOTO, C. M.; DIAS, M. I.; ALVES, M. J.; CALHELHA, R. C.; BARROS, L.; PINHO, S. P.; FERREIRA, I. C. Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 253, p. 132-138, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.163/>>.

PEREIRA, Giuliano Elias *et al.* Panorama da produção e mercado nacional de vinhos espumantes. **Informe Agropecuário. Produção de vinhos espumantes na Serra da Mantiqueira**, Belo Horizonte, v.41, n. 310, p.7-00, 2020. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1124594/>>.

PEREIRA, D. T. V., TARONE, A. G., CAZARIN, C. B. B., BARBERO, G. F., & MARTÍNEZ, J. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from grape marc. **Journal of food engineering**, v. 240, p. 105-113, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.07.019/>>.

PINTO, T. VILELA, A. Healthy Drinks with Lovely Colors: Phenolic Compounds as Constituents of Functional Beverages. **Phenolic Compounds and Functional Beverages**, v. 7, n. 1, p. 12, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/beverages7010012/>>.

PIRAYESH, H.; PARK, B.D.; KHANJANZADEH, H.; PARK, H.J.; CHO, Y.J. Cellulosic material-based colorimetric films and hydrogels as food freshness indicators. **Cellulose**, v. 30, n. 5, p. 2791-2825, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10570-023-05057-3>>.

PITTON, M.; FIORATI, A.; BUSCEMI, S.; MELONE, L.; FARÈ, S.; CONTESSI NEGRINI, N. 3D bioprinting of pectin-cellulose nanofibers multicomponent bioinks. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 732689, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.732689>>.

POLLINI, L.; TRINGANIELLO, C.; FEDERICA I.; BLASI F.; MANES J.; COSSIGNANI L. Impact of ultrasound extraction parameters on the antioxidant properties of Moringa oleifera leaves. **Antioxidants**, v. 9, n. 4, p. 277. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/antiox9040277>>.

POPOVIC, B.M.; MICIC, N.; POTKONJAK, A.; BLAGOJEVIC, B.; PAVLOVIC, K.; MILANOV, D.; JURIC, T. Novel extraction of polyphenols from sour cherry pomace using natural deep eutectic solvents–Ultrafast microwave-assisted NADES preparation and extraction. **Food chemistry**, v. 366, p. 130562, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130562>>.

QIU, S.; YADAV, M. P.; YIN, L. Characterization and functionalities study of hemicellulose and cellulose components isolated from sorghum bran, bagasse and biomass. **Food Chemistry**, v. 230, p. 225–233, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.028>>.

QUEJI, M.D.; WOSIACKI, G.; CORDEIRO, G.A.; PERALTA-ZAMORA, P.G.; NAGATA, N. Determination of simple sugars, malic acid and total phenolic compounds in apple pomace by infrared spectroscopy and PLSR. **International journal of food science & technology**, v. 45, n. 3, p.602-609, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02173.x>>.

RAVINDRAN, R.; WILLIAMS, G. A.; JAISWAL, A. K. Spent coffee waste as a potential media component for xylanase production and potential application in juice enrichment. **Foods**, v. 8, n. 11, p. 585, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/foods8110585>>.

RAVINDRAN, R.; JAISWAL, S.; ABU-GHANNAM, N.; JAISWAL, A. K. Evaluation of ultrasound assisted potassium permanganate pre-treatment of spent coffee waste. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 680–687, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.034>>.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABST radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)>.

RHIM, J. W.; REDDY, J. P.; LUO, X. Isolation of cellulose nanocrystals from onion skin and their utilization for the preparation of agar-based bio-nanocomposites films. **Cellulose**, v. 22, n. 1, p. 407–420, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10570-014-0517-7>>.

RONDEAU, P., GAMBIER, F., JOLIBERT, F., & BROSSE, N. Compositions and chemical variability of grape pomaces from French vineyard. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 251-254, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.053/>>.

SANTOS, D. T.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Optimization and economic evaluation of pressurized liquid extraction of phenolic compounds from jabuticaba skins. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n.3, p. 444-452, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.08.022/>>.

SARATALE, R.G.; SARATALE, G.D.; AHN, S.; SHIN, H.S. Grape pomace extracted tannin for green synthesis of silver nanoparticles: Assessment of their antidiabetic, antioxidant potential and antimicrobial activity. **Polymers**, v. 13 n. 24, p. 4355, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/polym13244355/>>.

SAVI, L. K.; CARPINÉ, D.; WASZCZYNSKYJ, N.; RIBANI, R. H.; HAMINIUK, C. W. I. Influence of temperature, water content and type of organic acid on the formation, stability and properties of functional natural deep eutectic solvents. **Fluid Phase Equilibria**, v. 488, p. 40-47, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fluid.2019.01.025/>>.

SHIVAMATHI, C. S.; GANESH MOORTHY, I.; VINOTH KUMAR, R.; SOOSAI, M. R.; PRAKASH, M.; SHYAM KUMAR, R.; VARALAKSHMI, P. Optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from custard apple peel: Potential and new source. **Carbohydrate polymers**, v. 225, p. 115240, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115240/>>.

SILVA, J. Produção de nanocristais de celulose se aproxima da escala industrial. **EMPRAPA**, São Paulo, 24 set. 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/46702222/producao-de-nanocristais-de-celulose-se-aproxima-da-escala-industrial/>>.

SILVA, K. M.; ZIELINSKI, A. A. F.; BENVENUTTI, L.; BORTOLINI, D. G.; ZARDO, D. M.; BELTRAME, F. L.; NOGUEIRA, A.; ALBERTI, A. Effect of fruit ripening on bioactive compounds and antioxidant capacity of apple beverages. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 2, p. 294-300, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/fst.25317/>>.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, 1965, v. 16, n.3, p. 144-158. Disponível em: <<https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144/>>.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; CROCKER, D. L. A. P. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. **Laboratory analytical procedure**, 1617(1), 1-16, 2008.

SMINK, D.; JUAN, A., SCHUUR, B., & KERSTEN, S. R. Understanding the role of choline chloride in deep eutectic solvents used for biomass delignification. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 58, n. 36, p. 16348-16357, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b03588/>>.

SOMOGY, M. A new reagent for determination of sugars. **Journal of Biological Chemistry**, v. 160, p. 61-68, 1945. Disponível em: <<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19451402896/>>.

SOUZA-CORRÊA, J. A.; OLIVEIRA, C.; WOLF, L. D.; NASCIMENTO, V. M.; ROCHA, G. J. M.; AMORIM, J. Atmospheric pressure plasma pretreatment of sugarcane bagasse: The influence of moisture in the ozonation process. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 171, n. 1, p. 104–116, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12010-013-0362-4>>.

SPINEI, M.; OROIAN, M. The influence of extraction conditions on the yield and physico-chemical parameters of pectin from grape pomace. **Polymers**, v. 14, n. 7, p. 1378, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/polym14071378>>.

TIWARI, B. K.; O'DONNELL, C. P.; CULLEN, P. J. Effect of non thermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20, n. 3–4, p. 137–145, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.01.058>>.

UGR. 2017. Disponível em: <<https://canal.ugr.es/noticia/centro-tecnologico-cidaf-aprueba-plan-actuacion-2017>>. Acesso em: abr. 2023.

VAEZ, S.; KARIMI, K.; DENAYER, J. F.; KUMAR, R. Evaluation of apple pomace biochemical transformation to biofuels and pectin through a sustainable biorefinery. **Biomass and Bioenergy**, v. 172, p. 106757, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2023.106757>>.

VITAL ZING. New Zealand, 2023. Disponível em: <<https://vitalzing.com/>>. Acesso em: 06 jun. 2024.

WALDBAUER, K.; MCKINNON, R.; KOPP, B. Apple Pomace as Potential Source of Natural Active Compounds. **Planta Medica**, v. 83, n. 12–13, p. 994–1010, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1055/s-0043-111898>>.

WANG, X., FAN, R., YANG, Q., TAO, Y., LU, J., DU, J., ... & WANG, H. Optimal tartaric acid pretreatment of reed for bioethanol production by fed batch semi-synchronous saccharification fermentation. **Renewable Energy**, v. 227, p. 120510, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.renene.2024.120510>>.

WIJNGAARD, H.; BRUNTON, N. The optimization of extraction of antioxidants from apple pomace by pressurized liquids. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57 n. 22, p. 10625–10631, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jf902498y>>.

YAN, J.; HU, J.; YANG, R.; ZHANG, Z.; ZHAO, W. Innovative Nanofibrillated Cellulose from Rice Straw as Dietary Fiber for Enhanced Health Benefits Prepared by a Green and Scale Production Method. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 6, n. 3, p. 3481–3492, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b03765>>.

ZARDO, D. M.; ALBERTI, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; PRESTES, A. A.; ESMERINO, L. A.; NOGUEIRA, A. Influence of solvents in the extraction of phenolic compounds with antibacterial activity from apple pomace. **Separation Science and Technology (Philadelphia)**, vol. 56, no. 5, p. 1–9, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/01496395.2020.1744652>>.

ZHISHEN, Jia; MENGCHENG, Tang; JIANMING, Wu. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)>.

ZIELINSKI, AF, ZARDO, D. M., ALBERTI, A., BORTOLINI, D. G., BENVENUTTI, L., DEMIATE, I. M., & NOGUEIRA, A. Effect of cryoconcentration process on phenolic compounds and antioxidant activity in apple juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 6, p. 2786-2792, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jsfa.9486>>.