

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO FOLHELHO BRANCO E DO FOLHELHO TINTO PROVENIENTES DE CASTAS TÍPICAS DA REGIÃO DO DÃO

CHEMICAL CHARACTERIZATION OF WHITE AND RED GRAPE SKINS FROM TYPICAL VARIETIES CASTES OF DÃO REGION

JOANA A. S. MENDES¹

SÓNIA LOPES¹

SÓNIA O. PROZIL²

DMITRY V. EVTUGUIN³

LUÍSA P. CRUZ-LOPES⁴

¹ Investigadora da FCT pelo Instituto Politécnico de Viseu – Portugal.
(e-mail: joanasmendes@gmail.com; morais.lopass@gmail.com)

² Investigadora da FCT pela Universidade de Aveiro – Portugal. (e-mail: prozilsonia@gmail.com)

³ Professor Associado, Departamento de Química, Universidade de Aveiro – Portugal. (e-mail: dmitry@dq.ua.pt)

⁴ Professora Adjunta, Departamento de Ambiente, Escola Superior de Tecnologia e Gestão do Instituto Politécnico de Viseu – Portugal. (e-mail: lvalente@amb.estgv.ipv.pt)

Resumo

O presente trabalho avalia e compara a composição química do folhelho branco e tinto, proveniente de castas típicas da região do Dão. A análise química mostra que o folhelho é constituído essencialmente por celulose, hemiceluloses, proteínas e extratáveis em água. Os compostos solúveis em água são constituídos principalmente por açúcares monoméricos (glucose e frutose) e por uma mistura complexa de hemiceluloses. A celulose do folhelho branco e tinto foi avaliada por difração de raios-X (DRX) e verificou-se que se trata de celulose I com um grau de cristalinidade de 66,1 e 72,8%, no folhelho tinto e branco, respetivamente. O teor de celulose no folhelho branco (12,5%) é bastante inferior quando comparado com o do folhelho tinto (20,8%). Os métodos espectroscópicos, nomeadamente RMN CP/MAS de ¹³C, permitiram verificar a presença de material ceroso e cuticular em ambos os folhelhos. Os extratáveis em diclorometano dos folhelhos são constituídos maioritariamente por ácidos gordos e terpenos.

Palavras-chave: folhelho de uva branca, folhelho de uva tinto, celulose, açúcares neutros, extratáveis em diclorometano.

Abstract

The present study evaluates and compares the chemical composition of white and red grape skins, from grapes of the typical caste Dão region. Chemical analysis shows that grape skins are constituted essentially by cellulose, hemicelluloses, and water extractable proteins. Water-soluble compounds consist primarily of monomeric sugars (glucose and fructose) and of a complex mixture of hemicelluloses. The structure of cellulose from white and red grape skins was evaluated by X-ray diffraction (DRX) and found to be cellulose I polymorph with a crystallinity degree of 66.1 and 72.8% for red and white grape skin celluloses, respectively. The content of cellulose in white grape skins (12.5%) is significantly lower when compared to that in red grape skins (20.8%). Spectroscopic methods, as ^{13}C CP/MAS NMR, allowed the detection of waxy material in both cuticular tissues of grape skins. Dichloromethane extracts of grape skins consist mostly of fatty and triterpenic acids.

Keywords: white grape skins; red grape skins; cellulose; neutral sugars; extractives in dichloromethane.

1. Introdução

O setor vitivinícola é um dos setores agrários mais importantes na União Europeia (UE) com uma produção anual de cerca de 175 milhões de hectolitros de vinho. A nível mundial, a UE é responsável por 45% das áreas vitícolas, 65% da produção, 57% do consumo mundial e 70% das exportações ^[1]. Em Portugal registou-se um aumento de produção na ordem dos 9,2% face à campanha de 2011/2012, sendo que, na campanha de 2012/2013, foram produzidos 6,14 milhões de hectolitros de vinho ^[2]. Do processo de vinificação resulta uma enorme quantidade de subprodutos cuja valorização é quase nula e a sua eliminação implica um encargo económico substancial para o setor. Atendendo a este facto, a Organização Comum do Mercado (OCM) vitivinícola introduziu requisitos ambientais mínimos para o setor, nomeadamente, ao nível da erosão/compactação e contaminação do solo, à intensa utilização de produtos

fitofarmacêuticos e à gestão dos resíduos ^[3]. Devido à importância económica do setor vitivinícola em Portugal e, por forma a fazer face às exigências da OCM, torna-se imprescindível encontrar novas e melhores técnicas de valorização dos recursos subaproveitados, promovendo um desenvolvimento equilibrado e sustentado do setor, tanto a nível económico como ambiental.

Entre os subprodutos da vinificação encontra-se o bagaço, que inclui o folhelho, a grainha e o engaço, que é o subproduto mais abundante e necessita de ser processado de acordo com as normas ambientais ^[4,5]. Por cada hectolitro de vinho são produzidos 17 kg de folhelho branco e 13,5 kg de folhelho tinto ^[6]. Com a produção da campanha de 2012/2013, de 6,14 milhões de hectolitros de vinho foram gerados cerca de 89 milhões de kg de folhelho de uva. Atualmente, a utilização do folhelho e do engaço é limitada essencialmente ao seu uso como fertilizante, complemento da alimentação do gado (ração), na remoção de metais pesados de águas residuais ou como combustível ^[7,8]. Uma forma de valorização do folhelho consiste na sua pré-extração em água para eliminar os sacarídeos associados, o que permite a produção de biocompósitos com propriedades pré-determinadas. Estudos já realizados mostram que os extratos aquosos contêm essencialmente oligossacarídeos e monossacarídeos, além de pequenas quantidades de taninos e ácidos orgânicos voláteis ^[9]. O objetivo deste trabalho consistiu em caracterizar e comparar a composição química do folhelho branco e tinto da uva.

2. Materiais e Métodos

2.1 Materiais

O folhelho tinto utilizado neste trabalho teve origem em bagaço fermentado, proveniente da vinificação de uvas da casta Touriga Nacional e cedido pela Adega Cooperativa de Silgueiros, durante a campanha de 2007. Também foi utilizado folhelho branco resultante de bagaço fresco, proveniente de uma mistura de castas brancas, também típicas da região do Dão, fornecido pela Quinta do Serrado - grupo Tavfer, durante a campanha de 2008. Ambos os bagaços foram secos numa estufa a 40°C; posteriormente as grainhas foram separadas manualmente e tanto o folhelho tinto como o branco foram devidamente acondicionados e conservados à temperatura ambiente até à sua utilização.

2.2 Métodos

2.1.1 Caracterização Química

O teor de cinzas foi determinado por calcinação do material a 525°C, de acordo com a norma Tappi T 211 om-93 ^[10]. O teor de extratáveis em acetona e diclorometano foi determinado através de extrações em Soxhlet, de acordo com a norma Tappi T 204

om-88^[11]. Para a determinação de extratáveis em água quente, utilizou-se uma solução de citrato de amónia (0,10 g/mL), durante uma hora, sob refluxo. O teor de celulose foi determinado pelo método *Kürschner-Hoffer*^[12], que consiste no tratamento das amostras com uma solução etanólica ácida. O teor de proteínas foi determinado pelo tratamento do folhelho livre de extratáveis em acetona com uma solução de 1% de pepsina em 0,1 N HCl, a 37°C durante 16 horas^[13]. O teor dos taninos foi determinado gravimetricamente, através do folhelho livre de extratáveis em acetona e sem proteínas, sujeito a um refluxo com uma solução de NaOH a 0,3% sob atmosfera de azoto durante uma hora. As hemiceluloses solúveis em água foram isoladas através do tratamento do folhelho sem extratáveis em acetona com 50 mL de uma solução a 1% de citrato de amónio durante uma hora. A solução foi acidificada até pH 2,5 e os polissacarídeos precipitados em etanol. Após 12 horas de armazenamento do precipitado no frigorífico (8°C), as hemiceluloses foram recuperadas por centrifugação, lavadas com etanol e metanol e secas sob vácuo à temperatura ambiente. Todas as análises foram efetuadas a amostras de folhelho branco e folhelho tinto e em cada análise foram efetuadas três réplicas.

2.2.2 Análise da celulose por difração de raios-X

A celulose, isolada pelo método de *Kürschner-Hoffer*, foi caracterizada por difração de raios-X através de um difratómetro Philips X'Pert MPD, usando uma fonte de Cu-K α ($\lambda=0,154$ nm) numa gama de 2θ entre 2-40° e um varrimento de 0,02°/scan. O difratograma de raios-X foi obtido diretamente a partir de uma amostra de celulose previamente prensada em forma de pastilha e o grau de cristalinidade da amostra foi determinado segundo a literatura^[14].

2.2.3 Análises de FTIR e RMN

As amostras de folhelho foram analisadas, sob a forma de pastilha, através da prensagem das amostras em pó com KBr. Os espectros de infravermelho foram realizados no modo transmitância, com uma resolução de 4 cm⁻¹ e 64 scans/min num espectrofotómetro Mattson 7000 com transformada de Fourier.

Os espetros de RMN CP/MAS de ¹³C da matéria-prima foram adquiridos a 100,6 MHz (9,4 T) num espectrómetro MSL-400 da Bruker. As amostras foram empacotadas em rotores de 7 mm que rodaram segundo o ângulo mágico a uma frequência de 5,0 kHz. A duração do impulso de 90° do ¹H foi cerca de 4 μ s. O tempo de contacto escolhido para a polarização cruzada foi de 2 ms e o intervalo entre scans foi de 5 segundos.

2.2.4 Análise dos Açúcares Neutros por Cromatografia Gasosa

As hemiceluloses foram avaliadas tendo em conta a análise dos açúcares neutros, que foram determinados por cromatografia gasosa (CG) após hidrólise de Saeman e posterior conversão dos monómeros a derivados de acetato de alditol^[15,16]. A quantificação de cada monossacarídeo foi feita num cromatógrafo de gás Varian 3350, equipado com uma coluna capilar DB-225 J&W (30 m comprimento × 0,25 mm diâmetro interno, com 0,15µm de espessura de filme) acoplada a um detetor por ionização em chama (FID), usando N₂ como gás de arraste, após injeção de 0,5 µL de amostra (dissolvida em 100 µL de acetona). As retas de calibração utilizadas foram obtidas utilizando-se retas de calibração previamente elaboradas a partir de soluções padrão. As condições cromatográficas foram as seguintes: temperatura do injetor 220°C, temperatura da coluna 220°C e temperatura do detetor 230°C^[9].

2.2.5 Análise dos Extratáveis em Diclorometano por GC-MS

Os extratáveis em diclorometano (ED, ~10mg) foram dissolvidos em 250µL de piridina e os compostos contendo grupos hidroxilo e carboxilo livres foram convertidos em éteres e ésteres trimetilsililados (TMS), respetivamente, por adição de 250µL de N,O-Bis(trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA) e de 50µL de trimetilclorosilano. As misturas permaneceram a 70°C durante 40 minutos e posteriormente foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada a um espectrómetro de massa (CG-EM), usando um cromatógrafo Trace Gas Chromatograph 2000 series, equipado com um espectrómetro de massa Finnigan Trace MS, corporation, usando hélio como gás de arraste (30 mL/min), equipado com uma coluna capilar DB-1 J&W (30m × 0,32mm diâmetro interno), 0,25µm de espessura de filme), tendo sido usadas as seguintes condições cromatográficas: temperatura inicial: 80°C (5min); gradiente de temperatura: 4°C/min (até 250°C); temperatura final: 285°C (10min); temperatura do injetor: 290°C; temperatura da linha de transferência: 290°C; razão de split: 1/75^[9,17].

3. Resultados e Discussão

3.1 Análise química do folhelho tinto e branco

Os folhelhos de uva tinta e branca foram comparados através das suas composições químicas. Foram determinados os teores em cinzas, extratáveis em hexano (folhelho branco), diclorometano (DCM) e em água, assim como o teor de celulose *Kürscher* e *Höffer*, o teor em hemiceluloses, em base de massa seca (Tabela 1)^[12,18].

Tabela 1 - Composição química geral de folhelho de uva.

Componentes	Abundância relativa,% folhelho seco	
	Tinto	Branco
Cinzas	7,8	18,3
Extractáveis: Hexano	---	1,3
Diclorometano	2,9	2,4
Água	26,4	48,0
Celulose (<i>Kürschner-Hoffer</i>)	20,8	12,5
Hemiceluloses	12,5	9,0
Taninos	13,8	3,4
Proteínas	18,8	6,7

Em relação à composição química, é possível verificar que o componente maioritário do folhelho branco e do folhelho tinto são os extratáveis em água, contudo estes surgem com um teor substancialmente superior no folhelho branco. Os compostos solúveis em água incluem sais inorgânicos e polissacarídeos solúveis em água. A importante contribuição dos monossacarídeos nos compostos solúveis em água está bem documentada ^[19]. Outros componentes abundantes do folhelho são as proteínas e os taninos. Contudo, o teor destes componentes é superior no folhelho tinto, quando comparado com o folhelho branco. A presença de diversas glicoproteínas, bem como diferentes classes de taninos (proantocianidinas, antocianinas, flavonóis, galotaninos hidrolisáveis, etc) no folhelho da uva foi amplamente discutida ^[20,21]. O teor de celulose no folhelho tinto é superior ao do folhelho branco, no entanto relativamente baixo quando comparada com a verificada no engajo da mesma variedade de uva ^[5,22]. Destacam-se a diferença do teor das hemiceluloses que são superiores no folhelho tinto e a diferença do teor de cinzas as quais são superiores no folhelho branco.

A análise de açúcares neutros da parede celular do folhelho mostra que ela é constituída, além da celulose, por uma mistura complexa de hemiceluloses (Tabela 2). Os compostos solúveis em água são constituídos principalmente por açúcares (glucose e frutose do folhelho tinto e glucose e galactose do folhelho branco), além de pequenas quantidades de taninos e ácidos orgânicos voláteis ^[9]. A maior parte dos polissacarídeos é embebido em uma cera/camada de cutícula de difícil acesso para a hidrólise ácida. As substâncias cerosas e a cutina contribuem para cerca de 8,5% da película da uva e a sua estrutura química foi avaliada por metanólise ^[9].

Tabela 2 - Monossacarídeos de folhelho de uva (% (m/m_{total})) em base seca.

Monossacarídeos	Folhelho tinto	Folhelho branco
Ramnose	2,5	1,2
Fucose	0,5	0,4
Arabinose	10,2	3,1
Xilose	9,6	7,2
Manose	10,8	4,2
Galactose	5,3	33,1
Glucose	61,1	50,8

Comparando o teor dos açúcares neutros em ambos os folhelhos é possível verificar que o teor da glucose não é muito díspar, contudo verifica-se uma diferença significativa entre a quantidade da galactose no folhelho branco e no folhelho tinto, sendo que no último é muito inferior. A elevada presença de galactose no folhelho branco sugere a presença de arabinogalactanas.

3.2 Caracterização estrutural do folhelho tinto e branco

Os métodos espectroscópicos têm sido muito utilizados na caracterização química de materiais lenhocelulósicos. A Figura 1 apresenta os espectros de FTIR do folhelho da uva branco e tinto, onde se pode observar a presença de vários sinais entre 4000-500 cm^{-1} .

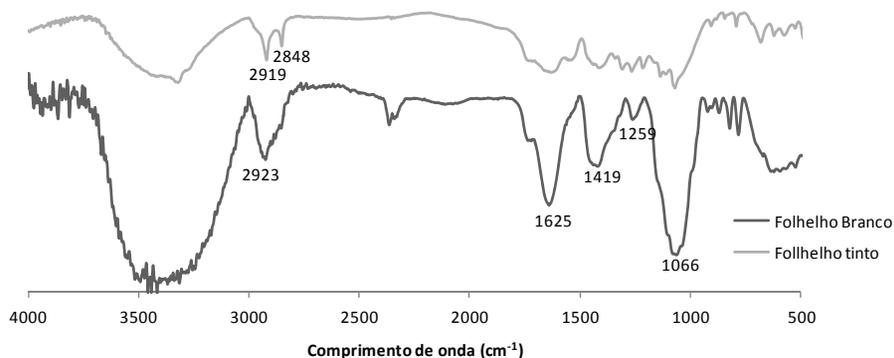


Figura 1: Espectro de FTIR do folhelho tinto e branco

A banda a 3332 cm^{-1} é atribuída aos grupos hidroxilos (vibrações de alongamento) a partir de álcoois, fenóis e ácidos carboxílicos. As bandas a 2919 cm^{-1} e 2848 cm^{-1} sugerem a presença de compostos alifáticos (vibrações CH_2 de alongamento simétricas e assimétricas). A presença de extratáveis e/ou compostos poliméricos do tipo cutina é confirmada pela banda a 1735 cm^{-1} , que é atribuída ao alongamento em ésteres dos grupos $\text{C}=\text{O}$ [21-24]. A banda de 1625 cm^{-1} corresponde ao alongamento de ligações $\text{C}=\text{C}$ conjugadas com anel aromático e pode ser atribuída à lenhina ou aos taninos.

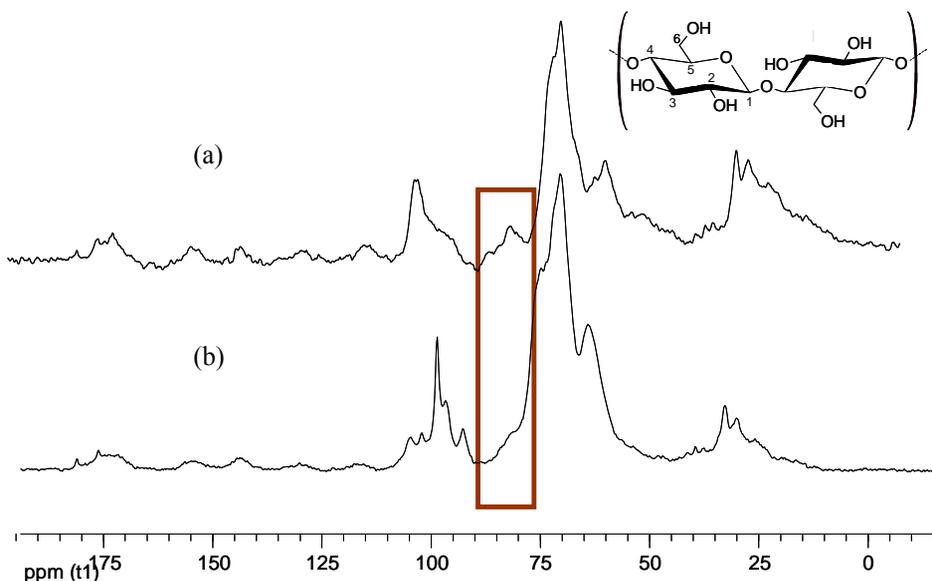


Figura 2: Espectro de ^{13}C CP/MAS RMN do folhelho tinto (a) e branco (b).

O espectro de RMN CP/MAS de ^{13}C (Figura 2) não revelou ressonâncias características das unidades estruturais do tipo guaiacilo ou siringilo da lenhina (110-160 ppm), tanto no folhelho branco como no tinto [5]. A forte ressonância verificada entre 10-35 ppm (em ambos os folhelhos) sugere a existência de um resíduo insolúvel composto por celulose inacessível embebida num material da cera cuticular. O material ceroso detetado está presente numa quantidade notável no folhelho tinto e pode ser atribuído à cutícula cerosa dos epicarpós presente no folhelho [21]. Pelo menos uma parte destes materiais cerosos e poliméricos devem estar estruturalmente associados a polissacáridos, pois não são removidos por extração com diclorometano [9]. Os polissacárideos são os componentes maioritários do folhelho e este facto é confirmado

pela presença de sinais entre 60-105 ppm. Os sinais entre 160-180 ppm podem ser atribuídos a grupos éster alifáticos presentes em compostos como a cutina, o sinal a 177 ppm indica a presença de grupos carboxilos de ácidos gordos. Os sinais entre 84-90 ppm correspondem ao C4 da celulose, e, pela observação dos espectros, verifica-se que os sinais são mais intensos no folhelho tinto do que no branco, o que está de acordo com a análise química (celulose *Kürschner-Hoffer* no folhelho tinto: 20,8%; celulose *Kürschner-Hoffer* no folhelho branco: 12,5%).

3.3 Caracterização estrutural da celulose do folhelho tinto e branco

A celulose isolada pelo método *Kürschner-Hoffer* foi caracterizada por difração de raios-X com o objetivo de obter informação sobre a sua estrutura cristalina: grau de cristalinidade (GC) e as dimensões gerais da célula unitária avaliadas com base nas reflexões características do difratograma, conforme está ilustrado na Figura 3. Os parâmetros gerais da célula unitária foram idênticos aos encontrados na celulose tipo I [14, 26].

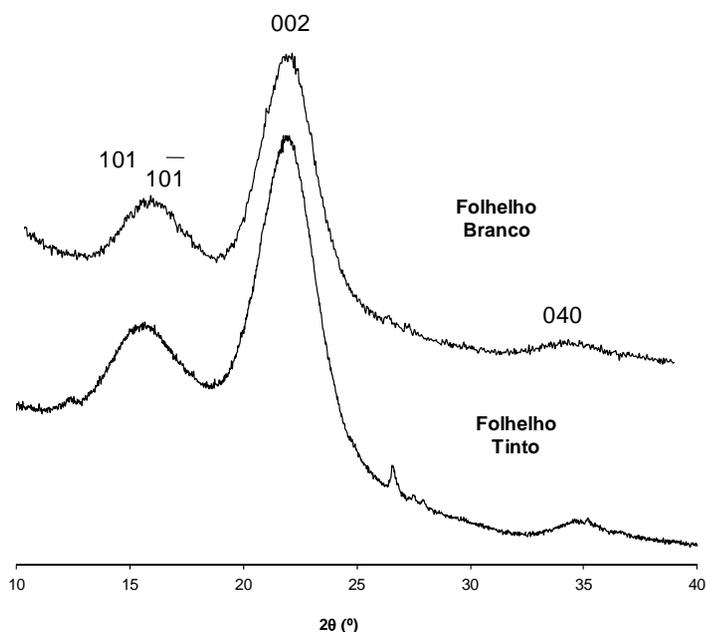


Figura 3: Difratogramas da celulose isolada do folhelho tinto e branco.

A largura média dos cristalitos da celulose, avaliada no plano de rede reticulado 002 (d_{002}) foi de 3,76 nm para o folhelho tinto e branco, respetivamente. O grau de cristalinidade da celulose isolada do folhelho foi de 66,1% para o tinto e 72,8% para o branco. Ambos os valores GC e d_{002} são semelhantes aos encontrados para a celulose a partir de plantas lenhosas [27], mas inferiores aos valores obtidos a partir do engaço de uva, que possuía GC e d_{002} de 75,4% e 4,2 nm, respetivamente [5,12,22]. Os resultados obtidos permitem concluir que a celulose do folhelho da uva deve ser mais reativa na hidrólise e reações de modificação do que a celulose do engaço de uva. No entanto, a reatividade da celulose pode ser seriamente prejudicada dada a forte associação com a matéria cerosa do folhelho [9]. Observou-se que GC no folhelho tinto é inferior ao do folhelho branco. Este facto pode ser explicado uma vez que o folhelho tinto passou pelo processo de fermentação durante o processo de vinificação, o que pode promover uma diminuição do grau de cristalinidade.

3. 4 Caracterização dos extratos em diclorometano

Os extratos em diclorometano de ambos os folhelhos foram analisados por GC-MS e os principais compostos identificados em ambos os extratos são apresentados na Tabela 3 [9,18].

Tabela 3 - Compostos lipofílicos identificados como derivados TMS nos extratos (mg /g de folhelho) em base seca.

Identificação	Folhelho tinto		Folhelho branco	
	mg/g extr.	mg/g folhelho	mg/g extr.	mg/g folhelho
Ácido hexadecanóico (ácido palmítico)	43,44	2,61	12,3	0,30
Ácido 9-12-octadecadienóico (ácido linoleico)	17,19	1,03	-	-
Ácido 9-octadecanóico (ácido oleico)	14,28	0,86	-	-
Ácido octodecanóico (ácido esteárico)	8,71	0,52	1,1	0,03
Ácido eicosanóico	1,67	0,10	0,94	0,02
Docosanol	-	-	0,37	0,01
Ácido docosanóico (ácido beénico)	2,50	0,15	3,15	0,08
1-Tetracosanol	0,98	0,06	3,63	0,09
Não identificado	0,66	0,04	0,95	0,02
Ácido tetracosanóico (ácido lignocérico)	2,70	0,16	7,8	0,19
1-Hexacosanol	3,77	0,23	10,32	0,25
ácido hexacosanóico (ácido cerótico)	8,30	0,50	15,74	0,38
1-Octacosanol	3,95	0,24	7,39	0,18

Identificação	Folhelho tinto		Folhelho branco	
	mg/g extr.	mg/g folhelho	mg/g extr.	mg/g folhelho
Ácido octacosanóico (ácido montânico)	9,96	0,60	11,59	0,28
β -Sitosterol	26,86	1,62	4,14	0,10
1-Triacontanol	1,42	0,09	1,23	0,03
Ácido triacontanóico (ácido melissico)	2,76	0,17	3,83	0,09
Não identificado	5,05	0,30	2,2	0,05
Triterpenóide não identificado	10,14	0,61	7,45	0,18
Ácido oleanólico	518,78	31,22	463,56	11,1
1-Dotriacontanol	-	-	2,37	0,05
Ácido dotriacontanóico (ácido laceróico)	-	-	1,56	0,04
Total	683,11	41,11	561,62	14,28

Os extratos em diclorometano dos folhelhos são constituídos maioritariamente por ácidos gordos e compostos terpénicos (*vide* Tabela 3 e Figura 4).

Tabela 4 – Principais famílias de compostos existentes nos extratos dos folhelhos tinto e branco.

Compostos	Folhelho tinto	Folhelho branco
	% (m/m)	% (m/m)
Ácidos gordos	16,32	10,30
Alcoóis alifáticos	1,48	4,51
Esteróis	3,93	0,75
Terpenos	77,43	83,91
Outros	0,84	0,54

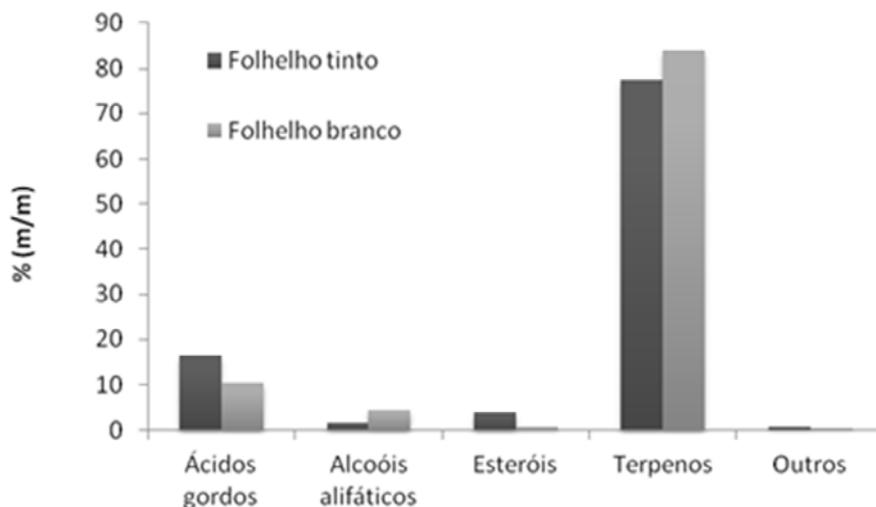


Figura 4: Identificação das principais famílias de compostos existentes nos extratos dos folhelhos tintos e branco.

Comparando a composição dos dois folhelhos é possível verificar uma quantidade superior de ácidos gordos e esteróis no folhelho tinto e terpenos e álcoois alifáticos no folhelho branco.

4. Conclusões e perspetivas futuras

A composição química e estrutural do folhelho branco e tinto tem sido estudada com o intuito de desenvolver possíveis áreas de valorização deste subproduto da vinificação.

Os polissacáridos (celulose, hemicelulose e 20,8%, 12,5%) foram os componentes mais abundantes do folhelho tinto, seguindo-se dos extratáveis em água (26,4%), as proteínas (18,8%) e os taninos (13,8%). Relativamente ao folhelho branco observou-se uma elevada percentagem de extratáveis em água (48,0%). Os extratáveis em água (na sua maioria açúcares e hemiceluloses) podem ser utilizados como substrato na transformação bioquímica para diferentes fins, nomeadamente para a produção de bioetanol. Pela análise dos extratáveis em diclorometano de ambos os folhelhos conclui-se que são constituídos maioritariamente por ácidos gordos e terpenos, principalmente pelo ácido oleanólico, que pode ser útil para aplicações biomédicas. A celulose do folhelho branco mostrou-se mais cristalina (72,8%), mas menos abundante do que no folhelho tinto. Em ambos os folhelhos observou-se a presença de material

ceroso e cuticular. Este material cuticular pode ser interessante na aplicação de biocompósitos.

Agradecimentos

Agradece-se à Fundação para a Ciência e Tecnologia - FCT (projeto PTDC/AGR-AAM/104911/2008) e ao Programa Operacional Fatores de Competitividade – COMPETE (referência FCOMP-01-0124-FEDER-008734) pelo apoio financeiro. Os autores gostariam também de agradecer à Adega Cooperativa de Silgueiros e à Quinta do Serrado (grupo FTP Vinhos-Tavfer) por terem fornecido as amostras de bagaço de uva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CE - Comissão Europeia (2008). *Reforma do sector vitivinícola: Proposta da Comissão*. Disponível em: <http://ec.europa.eu/agriculture/capreform/wine/index3_pt.htm>. Consultado em Novembro de 2008.
- IVV - Instituto do Vinho e da Vinha (2012). *Evolução da Produção Nacional de Vinho por Região Vitivinícola*. [cited 2012 08 de Agosto]; Available from: <<http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/163.html>>.
- CCE - Comissão das Comunidades Europeias (2006). Para um sector vitivinícola sustentável. In: *Comunicação da Comissão ao Conselho e ao Parlamento Europeu (PT)*. Bruxelas. p. 319.
- Ping, L., Brosse, N., Chrusciel, L., Navarrete, P. & Pizzi, A. (2011). Extraction of condensed tannins from grape pomace for use as wood adhesives. *Ind. Crop. Prod.* 33: 253-257.
- Prozil, S. O., Evtuguin, D. V. & Lopes, L. P. C. (2012). Chemical composition of grape stalks of *Vitis vinifera* L. from red grape pomaces. *Ind. Crop. Prod.* 35: 178-184.
- Silva, L. M. (2003). Caracterização dos Subprodutos da Vinificação. *Millenium*, 28: 123-133.
- Bustamante, M. A., Paredes, C., Moral, R., Moreno-Caselles, J., Perez-Murcia, M. D., Perez-Espinosa, A. & Bernal, M.P. (2007). Co-composting of distillery and winery wastes with sewage sludge. *WaterSci. Technol.* 56: 187-192.
- Spigno, G., Pizzorno, T. & De Faveri, D. M. (2008). Cellulose and hemicelluloses recovery from grape stalks. *Bioresour. Technol.* 99: 4329-4337.
- Mendes, J. A. S., Prozil, S. O., Evtuguin, D. V., & Cruz-Lopes, L. P. (2013). Towards comprehensive utilization of winemaking residues: Characterization of grape skins from red grape pomaces of variety Touriga Nacional. *Ind. Crop. Prod.*, 43: 25-32.
- TAPPI (2000). Ash in wood - T 211 om-93. In: Technical Association of Pulp and Paper Industry. *Tappi Standard Method*. Atlanta: TAPPI, 2000. CD-ROM. Tappi.
- TAPPI (2000). Solvent extractives of wood and pulp - T204 om-88. In: Technical Association of Pulp and Paper Industry. *Tappi Standard Method*. Atlanta: TAPPI, 2000. CD-ROM. Tappi.
- Browning, B. L. (1967). *Methods in Wood Chemistry*. New York: Interscience Publishers.
- Neto, C. P., Seca, A., Fradinho, D., Coimbra, M. A., Domingues, F., Evtuguin, D., Silvestre, A. & Cavaleiro, J. A. S. (1996). Chemical composition and structural features of the macromolecular components of *Hibiscus cannabinus* grown in Portugal. *Industrial Crops and Products*, 5(3): 189-196.
- Figueiredo, A., Evtuguin, D. & Saraiva, J. (2010). Effect of high pressure treatment on structure and properties of cellulose in eucalypt pulps. *Cellulose*, 17(6): 1193-1202.
- Blakeney, A. B., Harris, P. J., Henry, R. J. & Stone, B. A. (1983). A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydr. Res.* 113: 291-299.
- Selvendran, R. R., March, J. F. & Ring, S. G. (1979). Determination of aldoses and uronic acid content of vegetable fiber. *Anal. Biochem.* 96: 282-292.
- Lopes, M. H., Neto, C. P., Barros, A. S., Rutledge, D., Delgadillo, I. & Gil, A. M. (2000). Quantitation of aliphatic suberin in *Quercus suber* L. cork by FTIR spectroscopy and solid-state ¹³C-NMR spectroscopy. *Biopolymers* 57: 344-351.
- Mendes, J. A. S., Xavier, A. M. R. B., Evtuguin, D. V., Cruz-Lopes, L. P. (2013). Integrated utilization of grape skins from white grape pomaces. *Ind. Crops Prod.* 49: 286-291.

- Varandas, S., Teixeira, M. J., Marques, J. C., Aguiar, A., Alves, A. & Bastos, M. M. S. M. (2004). Glucose and fructose levels on grape skin: interference in Lobesita botrana behaviour. *Anal. Chim. Acta* 513: 351-355.
- Monagas, M., Hernandez-Ledesma, B., Gomez-Cordoves, C. & Bartolome, B. (2006). Commercial dietary ingredients from Vitis vinifera L. leaves and grape skins: antioxidant and chemical characterization. *J. Agric. Food Chem.* 54: 319-327.
- Pinelo, M., Arnous, A. & Meyer, A. S. (2006). Upgrading of grape skins: significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends Food Sci. Technol.* 17: 579-590.
- Prozil, S. O., Mendes, J. A. S., Evtuguin, D. V. & Cruz-Lopes L. P. (2013). Caracterização Química e Estrutural do Engaço da Uva e Avaliação do seu Potencial Como Matéria-Prima Lenhocelulósica. *Millenium*, 44: 23-40.
- Ping, L., Brosse, N., Sannigrahi, P. & Ragauskas, A. (2011). Evaluation of grape stalks as a bioresource. *Industrial Crops and Products*, 33(1): 200-204.
- Oliveira, L., Cordeiro N., Evtuguin, D. V., Torres, I. C. & Silvestre A. J. D. (2007). Chemical composition of different morphological parts from "Dwarf Cavendish" banana plant and their potential as a non-wood renewable source of natural products. *Industrial Crops and Products*, 26(2): 163-172.
- Hernes, P. J. & Hedges, J. I. (2004). Tannin signatures of barks, needles, leaves, cones, and wood at the molecular level. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 68(6): 1293-1307.
- Ioelovitch, M. Y., Tupureine A. D. & Veveris, G. P. (1989). Study on the cellulose crystallinity in plant materials. *Khimiya Drevesiny*, 5: 3-9.
- Pinto, P.C., Evtuguin, D.V., Neto, C.P., 2005. Effect of structural features of wood biopolymers on hardwood pulping and bleaching performance. *Ind. Eng. Chem. Res.* 44: 9777-9784.

Recebido: 14 de novembro de 2013.

Aceite: 12 de fevereiro de 2014.