

DETERMINAÇÃO DO PODER ANTI-RADICALAR DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DAS PERAS FRESCAS E SECADAS DE S. BARTOLOMEU. AVALIAÇÃO DA SUA BIODISPONIBILIDADE AO LONGO DO TRACTO GASTROINTESTINAL

Lisete M. Silva^{1,2}; Pedro A.C.O. Lopes^{1,2}; Pedro R.T. Cunha^{1,2}; Sílvia M. Rocha¹, Raquel P.F. Guiné²; Manuel A. Coimbra¹

¹QOPNA, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal

²CI&DETS/ Escola Superior Agrária de Viseu, Instituto Politécnico de Viseu, 3500-606 Viseu, Portugal

Resumo

As procianidinas são os principais compostos fenólicos da pêra de S. Bartolomeu (*Pyrus communis* L.). Com o processamento a pêra passa de Viseu, o conteúdo em compostos fenólicos diminui 64%, verificando-se que as procianidinas aumentam o seu grau de polimerização e diminuem a sua extractabilidade.

Com o objectivo de avaliar o poder anti-radicalar dos compostos fenólicos presentes nas peras de S. Bartolomeu frescas e secadas e a sua biodisponibilidade ao longo do tracto gastrointestinal, foram analisadas peras secadas pelo método tradicional com exposição solar directa, peras secadas em estufa solar de convecção forçada e peras secadas em túnel a 40 °C sem exposição solar. Os compostos fenólicos foram extraídos com soluções de metanol e de acetona/água (6:4 v/v). Os testes de avaliação do poder anti-radicalar das amostras foram feitos em soluções simulantes da saliva (1% α -amilase, pH 6,5), do suco gástrico (1% pepsina, pH 2) e do meio líquido do duodeno (0,15% sais biliares e 3% pancreatina, pH 7), a 37 °C. Os testes foram realizados individualmente nas três condições e também de modo sequencial, simulando o percurso pelo aparelho digestivo. A actividade anti-radicalar foi medida pelo teste de DPPH.

Cada um dos simulantes, quando analisado individualmente, não apresenta efeitos significativos na actividade anti-radicalar dos extractos. No entanto, a acção sequencial dos três simulantes reduz para metade a capacidade anti-radicalar. Estes resultados permitem inferir que os compostos fenólicos existentes nos vários extractos de pêra fresca e secada apresentam biodisponibilidade, resistindo parcialmente à degradação pela saliva, suco gástrico e meio líquido do duodeno.

1. INTRODUÇÃO

A *Pêra Passa de Viseu* é um produto agro-alimentar tradicional português, resultante da secagem de uma variedade de peras, a pêra de S. Bartolomeu (*Pyrus communis* L.). É um fruto pequeno, de cor castanho-avermelhada e com características organolépticas únicas (Ferreira *et al.*, 2002). Ao contrário da maioria das peras, que possuem um sabor doce e macio, a pêra de S. Bartolomeu apresenta-se amarga e um pouco adstringente, tornando o seu paladar menos agradável ao seu consumo em fresco. No entanto, quando a pêra de S. Bartolomeu é secada por exposição directa ao sol, esta pêra torna-se organolepticamente muito agradável. A cor, o sabor e a textura são as propriedades organolépticas que influenciam a qualidade do produto final e, deste

modo, o seu valor comercial. As alterações da cor e do sabor dos frutos, que ocorrem durante o seu processamento estão associados à presença de compostos fenólicos.

1.1. Compostos fenólicos da pêra e o seu poder antioxidante

Os compostos fenólicos constituem um dos grupos de compostos mais abundantes nas plantas. São considerados como uma das principais classes de metabolitos secundários, que apresentam propriedades sensoriais (como a cor e o sabor), e nutricionais muito peculiares (Naczka *et al.*, 2006). Quimicamente, os compostos fenólicos são substâncias que contêm, ligados a um anel benzénico, um ou mais grupos hidroxilo, designando-se por fenóis ou polifenóis, respectivamente. Estes compostos podem estar ligados a outros compostos, tais como açúcares ou ácidos orgânicos. São conhecidos milhares de compostos fenólicos nas plantas, que podem ser divididos em diversas classes, tendo em conta a sua estrutura química. No caso da pêra, estes compostos podem ser divididos em: fenóis simples (ex. arbutina), ácidos fenólicos, em que os mais estudados são os ácidos hidroxicinâmicos (ex. ácido clorogénico) e seus derivados e os flavanóides. Dentro destes últimos, os mais estudados na polpa da pêra têm sido os 3-favanóis, nomeadamente as catequinas monoméricas e os dímeros das procianidinas. As procianidinas são os principais compostos fenólicos da pêra de S. Bartolomeu (*Pyrus communis* L.). Os compostos fenólicos responsáveis pela alteração da cor e do sabor que ocorrem em geral nos frutos processados, como é o caso da pêra passa de Viseu, são o ácido cafeoilquínico, a (+)-catequina, a (-)-epicatequina e as proantocianidinas (Macheix *et al.*, 1990; Wrolstad *et al.*, 1991). Nas pomóideas, de que é exemplo a pêra (Spanos *et al.*, 1992; Pascual-Teresa *et al.*, 2000), as proantocianidinas são, essencialmente, procianidinas compostas principalmente por (-)-epicatequina. No entanto, com o processamento a pêra passa de Viseu, o conteúdo em compostos fenólicos diminui 64%, verificando-se ainda que as procianidinas aumentam o seu grau de polimerização e diminuem a sua extractabilidade (Ferreira *et al.*, 2002). Para além das procianidinas, as peras possuem também ácido clorogénico, derivados de isorhamnetina, canferol e quercetina, compostos com potencial antioxidante (Silva *et al.*, 2010b).

Os compostos fenólicos são considerados essenciais na dieta humana por apresentarem uma vasta gama de propriedades fisiológicas, entre as quais o poder antioxidante (Heim *et al.*, 2002). A actividade antioxidante destes compostos, isto é, a capacidade que estes têm para “captar” radicais livres, doar átomos de hidrogénio ou

electrões ou quelatar catiões metálicos, depende da sua estrutura, em particular, do número e das posições dos grupos hidroxilo e da natureza das substituições nos anéis aromáticos (Afanas'ev *et al.*, 1989; Amarowicz, *et al.* 2004).

1.2. Biodisponibilidade dos compostos fenólicos

O carácter antioxidante dos compostos fenólicos permite-lhes neutralizar as espécies reactivas de oxigénio resultantes, em grande parte, da peroxidação lipídica (Halliwell *et al.*, 1995). Esta propriedade confere aos compostos fenólicos uma vasta actividade biológica, destacando-se a diminuição do risco de doenças cardiovasculares, como a aterosclerose (através da diminuição da oxidação das LDL) (Silva *et al.*, 2010a), a redução do risco de desenvolvimento da doença de Alzheimer (Orgogozo *et al.*, 1997), a prevenção de alguns tipos de cancro (Santos-Buega *et al.*, 2000) e o retardamento do envelhecimento celular (Howitz *et al.*, 2003).

Os possíveis benefícios para a saúde devido a uma dieta rica em compostos fenólicos dependem da sua absorção e do seu metabolismo, que por sua vez, são determinados pela sua estrutura, incluindo a conjugação com outros fenólicos, o grau de glicosilação/acetilação, o tamanho molecular e a solubilidade (Bravo, 1998). Assim, os compostos fenólicos de baixo peso molecular podem ser mais facilmente absorvidos, transportados e metabolizados no organismo, estando por esta razão mais biodisponíveis. Por outro lado, os compostos fenólicos de alto peso molecular têm, à partida, maior dificuldade em ser absorvidos devido à sua dimensão e à sua capacidade de interacção com as proteínas, permanecendo no tracto gastrointestinal, formando, com estas, complexos de grandes dimensões (Hagerman, 2001). Acreditou-se, inicialmente, que a ausência de enzimas responsáveis pela ruptura de ligações glicosídicas no intestino, significava que apenas as agliconas conseguissem atravessar as paredes intestinais (Kuhnau, 1976). Contudo, Hollman *et al.* (1995), mostraram a absorção de glicósidos em humanos. Segundo estes autores, a absorção do glicósido de quercetina de cebolas fritas é maior (52%) do que a sua aglicona quando administrada oralmente (24%). Tal facto sugere que a biodisponibilidade dos glicósidos da quercetina depende dos açúcares ligados à estrutura fenólica, como por exemplo a conjugação da glucose, que aumenta a biodisponibilidade (Hollman *et al.*, 1999). A biodisponibilidade dos compostos fenólicos pode também ser afectada pelas diferenças existentes nas estruturas das paredes celulares, localização dos glicósidos nas células e pelas ligações dos compostos fenólicos na matriz alimentar (Hollman *et al.*, 1997). Muitos dos estudos

relacionados com a biodisponibilidade dos compostos fenólicos efectuados anteriormente concentravam-se, essencialmente, nas dietas ricas em quercetina e favonóides. Contudo, muitos progressos nesta área têm sido conseguidos, de forma a compreender a absorção e o metabolismo de muitas outras classes de compostos fenólicos. Estes estudos são focados nas antocianinas, nas flavanonas, nas catequinas, nas proantocianidinas e nos ácidos hidroxicinâmicos e hidroxibenzóicos, tendo sido revistos por Manach *et al.* (2004). As diversas biotransformações enzimáticas que ocorrem ao longo do tracto gastrointestinal que resultam, geralmente, na conjugação dos grupos hidroxilo, originam metabolitos com actividade antioxidante mais reduzida mas ainda biodisponíveis (Hollman, 2001; Manach *et al.*, 2004).

2. EXPERIMENTAL

Com o objectivo de se avaliar o poder anti-radicalar dos compostos fenólicos presentes nas peras de S. Bartolomeu frescas e secadas e a sua biodisponibilidade ao longo do tracto gastrointestinal, foram analisadas as seguintes amostras (tabela 1):

Tabela 1. Caracterização das amostras

Amostra	Condições de secagem	Propriedades organolépticas
Fresca	-	Pêra branca e bastante adstringente
Coimbra	Túnel de ar quente, 40°C, sem exposição solar	Pêra branca com zonas acastanhadas, pouco elástica, não brilhante e com alguma adstringência
Viseu	Estufa solar de convecção forçada	Pêra castanha-avermelhada, elástica, brilhante e com alguma adstringência
Tradicional	Método de secagem tradicional, com exposição solar directa	Pêra castanha-avermelhada, elástica, brilhante e com alguma adstringência

2.1. Extracção e purificação dos compostos fenólicos

O material exterior vermelho da pêra secada foi separado e imerso em azoto líquido, tendo sido posteriormente liofilizado. A amostra foi lavada com 200 mL de *n*-hexano (95%) à temperatura ambiente sob agitação magnética, durante 20 minutos para a remoção de lípidos. O material insolúvel foi extraído com 3 x 200 mL de metanol à temperatura ambiente, sob agitação magnética durante 20 minutos, extraíndo, deste modo, os polifenóis de baixo peso molecular, e dissolvendo os açúcares e ácidos orgânicos. Os extractos de metanol foram filtrados, concentrados (Ferreira *et al.*, 2002) e extraídos com 3 x 200 mL de uma solução acetona/água (6:4, v/v) à temperatura

ambiente, para a extracção dos compostos fenólicos polimerizados. As soluções foram centrifugadas e os sobrenadantes concentrados (extractos de acetona). O material insolúvel foi congelado e liofilizado (resíduo da extracção). À excepção do tratamento com *n*-hexano, todas as extracções foram realizadas sob condições ácidas (2% ácido acético, v/v), evitando assim a oxidação dos compostos fenólicos. Os açúcares existentes nos extractos de metanol e de acetona foram removidos por extracção em fase sólida com uma coluna C18 (SPE, Supelco-Discovery 10 g), pré-condicionada com 20 mL de metanol, seguido de 20 mL de água. Os extractos (metanol e acetona) foram eluídos pela coluna C18 e lavados com 2% de ácido acético para remover os açúcares (a presença de açúcares foi seguida pelo teste de Dubois, por reacção com ácido sulfúrico concentrado na presença de fenol, a quente). Os compostos fenólicos foram recuperados com metanol, concentrados e liofilizados (extractos de metanol e acetona livres de açúcares) (Passos *et al.*, 2007).

2.2. Determinação do poder anti-radicalar (ARP) das amostras ricas em compostos fenólicos

A actividade antioxidante dos extractos das várias amostras foi determinada a partir do seu poder anti-radicalar. Este foi medido pelo teste de DPPH \cdot . Para cada amostra, foram testadas diferentes concentrações (expressas em mg de amostra por mL de solução). Foram adicionados 0,1 mL de extracto de metanol ou acetona a 3,9 mL de solução de DPPH \cdot , 6×10^{-5} mol/L de metanol. As absorvâncias foram determinadas num espectrofotómetro UV/VIS, a 515 nm após 30 minutos de reacção (Brand Williams *et al.*, 1995).

2.3. Testes de biodisponibilidade dos compostos fenólicos

Segundo Silva *et al.* (2010b), os compostos fenólicos existentes na pêra fresca não sofrem alterações significativas após o processamento, pelo que poderão estar biodisponíveis ao longo do tracto gastrointestinal.

Dependendo da sua estrutura, os compostos fenólicos podem reagir com proteínas/enzimas, alterando várias propriedades destes polímeros e deles mesmos. Com o intuito de se obter mais informações a esse respeito, vários testes foram efectuados para avaliar o poder antioxidante das várias amostras, inicialmente na boca, no estômago e no intestino e posteriormente, de um modo sequencial, simulando o percurso do aparelho digestivo. Durante esta análise, a temperatura utilizada foi de

37°C, para simular a temperatura do corpo humano. As concentrações de todas as enzimas utilizadas foram as concentrações que existem no corpo humano. As soluções das enzimas foram preparadas em NaCl 0,01 M, a um pH específico. Na tabela 2, encontram-se descritas as condições utilizadas nos testes de biodisponibilidade. Para uma mais correcta comparação, o poder anti-radicalar (ARP) foi sempre comparado as amostras medidas ao pH do simulante (extracto, nas figuras).

Tabela 2. Condições utilizadas nos testes de biodisponibilidade

	Boca	Estômago	Intestino
Enzima	α -amilase	Pepsina 1%	Sais biliares 0,15% Pancreatina 3%
pH	6,5	2	7
Temperatura (°C)	37	37	37
Amostra/Enzima	1/1	1/1	1/1

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Determinação do poder anti-radicalar (ARP) dos extractos ricos em compostos fenólicos

Na figura 1 encontram-se representados os valores que nos permitem avaliar o poder anti-radicalar (ARP) dos extractos de metanol e acetona para as diferentes amostras. Assim, podemos observar que a amostra de pêra fresca foi a que apresentou um ARP superior às restantes amostras processadas. As amostras secadas extraídas com acetona apresentaram um ARP superior, comparativamente às amostras extraídas com metanol.

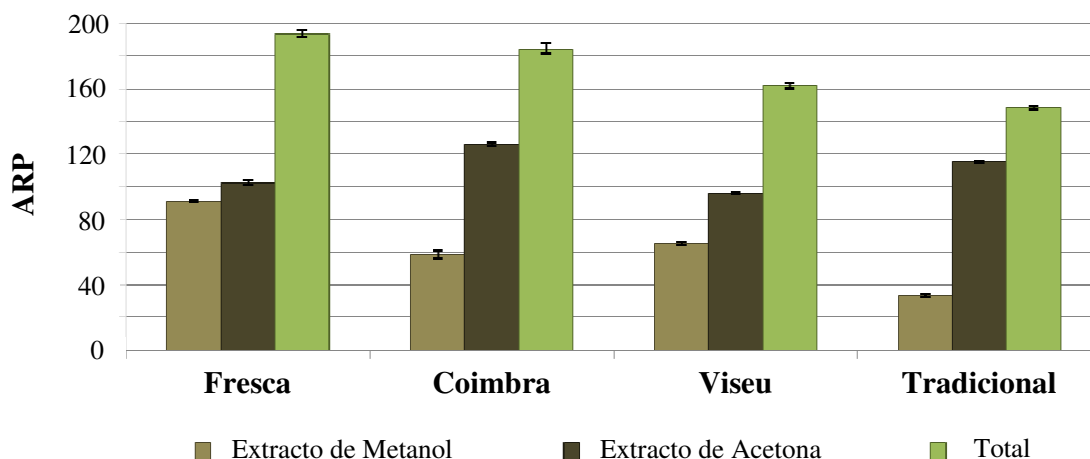


Figura 1. Poder anti-radicalar dos extractos de metanol, acetona e valores totais para as diferentes amostras.

3.2. Biodisponibilidade dos compostos fenólicos

As figuras 2 a 6 mostram os resultados dos testes de biodisponibilidade realizados para os extractos de metanol e de acetona das várias amostras. Inicialmente, os testes foram efectuados utilizando os simulantes da boca, estômago e intestino, individualmente (fig. 2-5). Em todas as figuras, mostra-se o ARP das amostras medidas ao pH do simulante sem enzima (extracto) e com enzima (extracto+enzima).

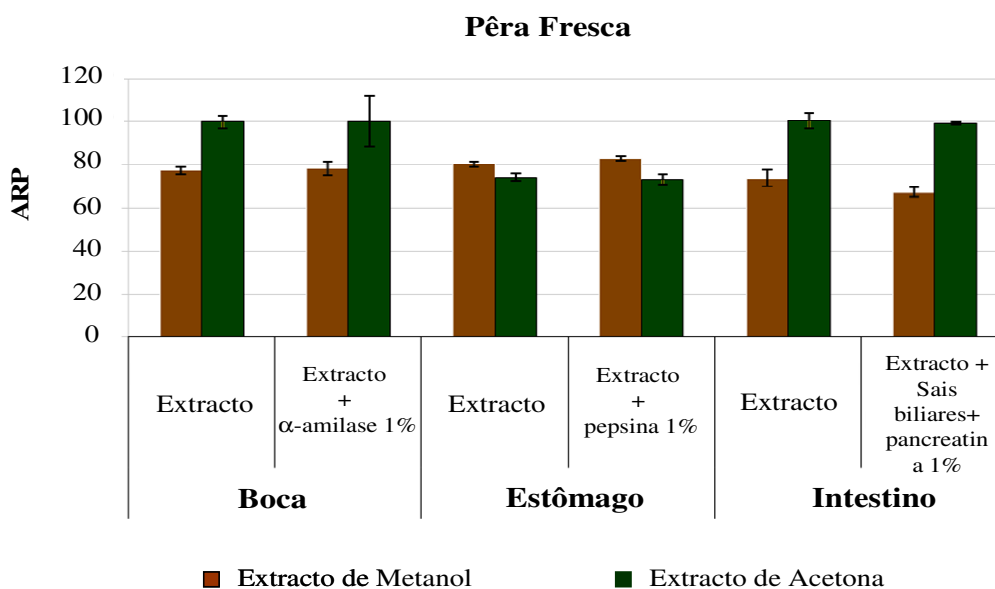


Figura 2. Poder anti-radicalar dos extractos de metanol e acetona inicial e após os ensaios na boca, no estômago e no intestino, individualmente, para a amostra de pêra fresca.

No que respeita à amostra da pêra fresca, pode observar-se que ao pH neutro da boca e do intestino, os extractos de acetona possuem uma actividade anti-radicalar superior, relativamente aos extractos de metanol. Ao pH ácido do estômago, essa actividade é ligeiramente inferior. No entanto, tendo em conta a comparação com o extracto inicial para cada um dos simulantes testados, pode dizer-se que a adição do simulante não afectou a amostra.

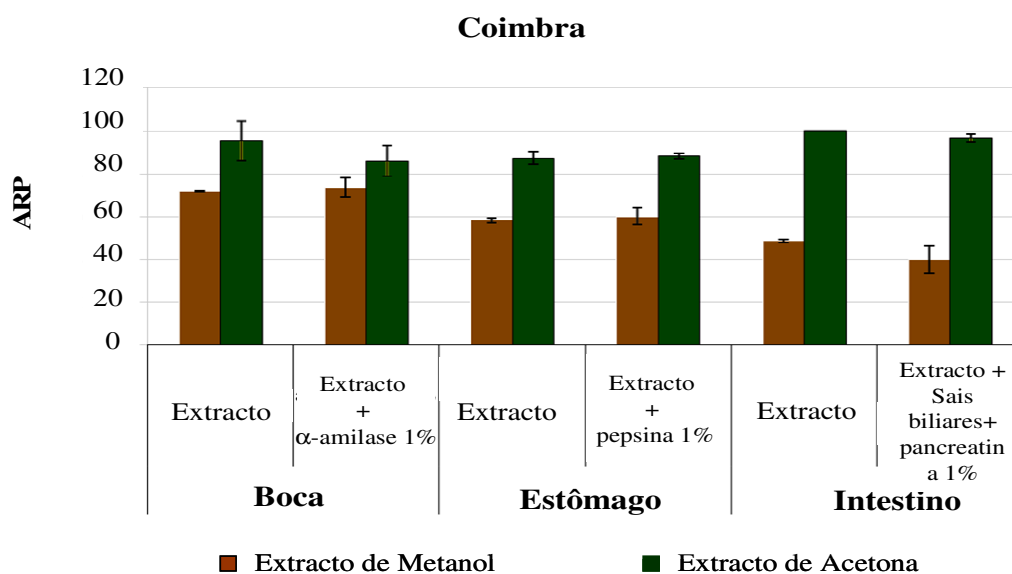


Figura 3. Poder anti-radicalar dos extractos de metanol e acetona inicial e após os ensaios na boca, no estômago e no intestino, individualmente, para a amostra de pêra secada em túnel, sem exposição solar directa (Coimbra).

Nas amostras de pêra secadas em túnel (Coimbra), os valores de ARP dos extractos de acetona são superiores aos valores de ARP dos extractos de metanol. Pode observar-se ainda que para os extractos de metanol, a actividade anti-radicalar vai diminuindo ligeiramente, à medida que se passa da boca para o intestino. A adição dos simulantes na boca e no intestino, reduziu ligeiramente o valor de ARP do extracto de acetona e metanol, respectivamente.

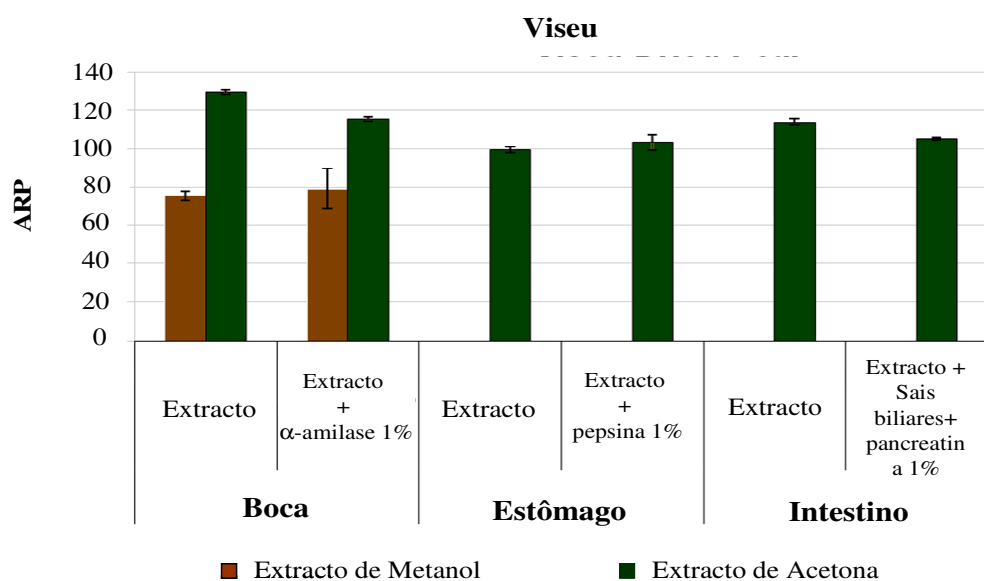


Figura 4. Poder anti-radicalar dos extractos de metanol e acetona inicial e após os ensaios na boca, no estômago e no intestino, individualmente, para a amostra de pêra secada em estufa de convecção forçada, com exposição solar directa (Viseu).

No caso das amostras de pêra secadas em estufa com luz solar directa e de convecção forçada (Viseu), constata-se que na análise efectuada na boca, os extractos de metanol possuem um valor de ARP inferior, relativamente aos extractos de acetona. No entanto, verifica-se que após a adição do simulante, o valor do ARP nos extractos de metanol foi ligeiramente superior e nos extractos de acetona ligeiramente inferior, relativamente aos extractos iniciais. Estes testes não puderam ser realizados nas restantes zonas, devido à falta de extracto de metanol desta amostra.

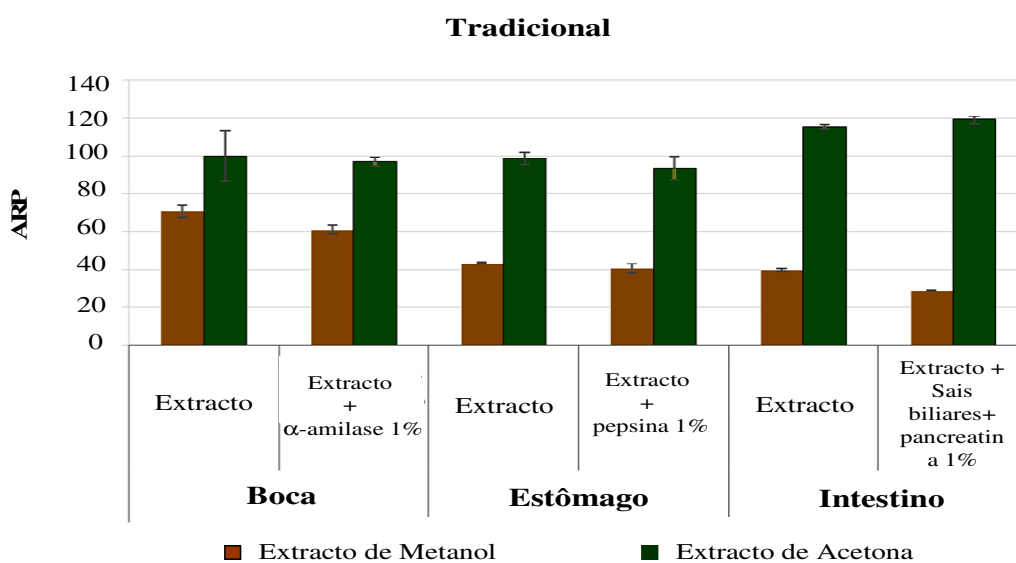


Figura 5. Poder anti-radicalar dos extractos de metanol e acetona inicial e após os ensaios na boca, no estômago e no intestino, individualmente, para a amostra de pêra secada tradicionalmente, com exposição solar directa (Tradicional).

À semelhança do que se verificou nas amostras de pêra secada na estufa solar de convecção forçada, os extractos de acetona das pêras secadas tradicionalmente possuem uma actividade anti-radicalar superior aos extractos de metanol em todos os simulantes analisados individualmente. Nos extractos de metanol, essa actividade é superior na boca, diminuindo, ligeiramente, até ao intestino. Comparando o ARP das soluções dos extractos com as dos extractos+enzima, pode observar-se uma ligeira diminuição do valor de ARP após a adição da α -amilase a ambos os extractos (metanol e acetona), após a adição da pepsina ao extracto de acetona, assim como após a adição dos sais biliares e pancreatina ao extracto de metanol.

A figura 6 mostra a biodisponibilidade dos compostos antes e após a acção sequencial, com o intuito de simular o seu percurso pelo aparelho digestivo. Verifica-se

a perda de 35% do ARP nos extractos de metanol da pêra fresca. O extracto de acetona não sofreu perda de actividade nesta amostra. Dada a ausência de extractos de metanol para as amostras das peras secadas em Coimbra e em Viseu, analisaram-se apenas os extractos de acetona. Assim, verificou-se a perda do ARP de 18% e de 38% nas amostras de Coimbra e de Viseu, respectivamente. No caso das peras secadas tradicionalmente, verificou-se a perda de 18% do ARP nos extractos de acetona e de apenas 4% nos extractos de metanol.

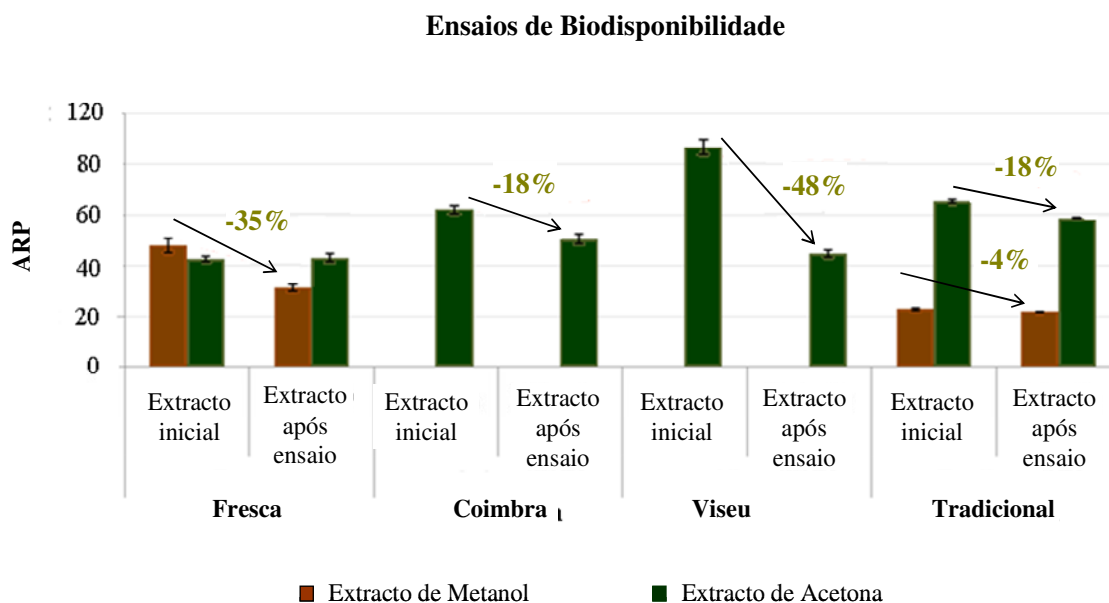


Figura 6. Poder anti-radicalar dos extractos de metanol e acetona inicial e após os ensaios de biodisponibilidade, para as várias amostras de peras.

4. CONCLUSÃO

A amostra de pêra não processada apresentou uma actividade anti-radicalar superior às amostras de peras processadas. Estas últimas, extraídas com uma solução de acetona/água, apresentaram um valor de ARP superior aos extractos de metanol.

Os testes de biodisponibilidade dos compostos fenólicos presentes nas diferentes amostras mostraram que cada um dos simulantes, quando analisados individualmente, não apresentou efeitos significativos na actividade anti-radicalar dos extractos. No entanto, a acção sequencial dos 3 simulantes reduz a capacidade anti-radicalar, sobretudo nos extractos de Viseu, em que a redução foi cerca de metade do valor inicial.

Estes resultados permitem inferir que os compostos fenólicos existentes nos vários extractos de pêra fresca e secada apresentam biodisponibilidade, resistindo parcialmente, à degradação pela saliva, suco gástrico e meio líquido do duodeno.

Agradecimentos: Os autores agradecem à FCT o apoio financeiro através do projecto PTDC/AGR-ALI/74587/2006 e à Unidade de Investigação 62/94 QOPNA.

Referências

- Afanas'ev, I. B., Dorozhko, A. I.; Brodskii, A. V.; Kostyuk, V. A.; Potapovitch, A. I. (1989). "Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation". *Biochemical Pharmacology*, 38, 1763-1769.
- Amarowicz, R.; Pegg, R. B.; Rahimi-Moghaddam, P.; Barl, B.; Weil, J. A. (2004). "Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies". *Food Chemistry*, 84, 551-562.
- Brand-William, W.; Cuvielier, M. E.; Berset, C. (1995). "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity". *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28, 25-30.
- Bravo, L. (1998). "Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance". *Nutrition Reviews*, 56, 317-337.
- Hagerman, A. E. (2001). "Are dietary polyphenols available for bioactivity?". *Polyphenols Actualités*, 21, 18-23.
- Halliwell, B.; Aeschbach, R.; Loliger, J.; Arvoma, O. I. (1995). "The characterization of antioxidants". *Food and Chemical Toxicology*, 33 (71), 601-617.
- Heim, K. E.; Tagliaferro, A. R.; Bobilya, D. J. (2002). "Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure – activity relationships". *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.
- Hollman, P. C. H. (2001). "Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects?". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 842-852.
- Hollman, P. C. H.; de Vries, J. H. M.; van Leeuwen, S. D.; Mengelers, M. J. B.; Katan, M. B. (1995). "Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers". *American Journal of Chemical Nutrition*, 62, 1276-1282.
- Hollman, P. C. H.; Katan, M. B. (1999). "Dietary flavonoids: intake, health, effects and bioavailability". *Food and Chemical Toxicology*, 37, 937-942.
- Hollman, P. C. H.; van Trijp, J. M. P.; Buysman, M. N. C. P.; Gaag, M. S.; Mengelers, M. J. B.; de Vries, J. H.; M. B. Katan (1997). "Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man". *FEBS Letters*, 418, 152-156.
- Howitz, K. T.; Bitterman, K. J.; Cohen, H. Y.; Lamming, D. W.; Lavu, S.; Wood, J. G.; Zipkin, R. E.; Chung, P.; Kisielewski, A.; Zhang, L. L.; Scherer, B.; Sinclair, D. A. (2003). "Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan". *Nature*, 425, 191-196.
- Kuhnau, J. (1976). "The flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Review in Nutrition and Dietetics*, 24, 117-191.
- Macheix, J-J; Fleuriet, A., Billot, J. (1990). "The main phenolics of fruit". Em *Fruit Phenolics*; CRC Press, Inc.:Boca Raton, Florida, 17-41.
- Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L. (2004). "Polyphenols food sources and bioavailability". *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727-747.
- Naczki, M.; Shahidi, F. (2006). "Phenolic in cereals, fruits and vegetables. Occurrence, extraction and analysis", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41 (5),

1523-1542.

- Orgogozo, J. M.; Dartigues, J. F.; Lafont, S.; Letenneur, L.; Commerges, D.; Salamon, R.; Renaud, S.; Breteler, M. (1997). "Wine consumption and dementia in the elderly: A prospective community study in the Bordeaux area". *Revue Neurologique*, 153 (3), 185-192.
- Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J. C. (2000). "Quantitative analysis of flavan-3-ols in Spanish foodstuffs and beverages". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5331-5337.
- Passos, C., Cardoso, S. M., Domingues, M. R., Domingues, P., Silva, C. M., Coimbra, M. A. (2007). "Evidence for galloylated type A procyanidins in grape seeds". *Food Chemistry*, 105, 1457-1467.
- Santos-Buelga, C.; Scalbert, A. (2000). "Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 (7), 1094-1177.
- Silva, L.; Garcia, B.; Paiva-Martins, F. (2010b). "Oxidative stability of olive oil and its polyphenolic compounds after boiling vegetable process". *LWT – Food Science and Technology*, 43, 1336-1344.
- Silva, L.; Lopes, P.; Domingues, M. R.; Guiné, R.; Coimbra, M. A. (2010a). "Compostos fenólicos das peras de S. Bartolomeu" – *1º Encontro Português de Secagem de Alimentos*, Viseu, Portugal.
- Spanos, G. A., Wrolstad, R. E. (1992). "Phenolics of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage" – A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1478-1487.
- Wrolstad, R. E., Lombard, P. B., Richardson, D. G. (1991). "The pear". *Quality and Preservation of Fruits*; Ed. Eskin, N.A.; CRC Press: Boca Raton, 67-95.