

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM BIOTECNOLOGIA E GESTÃO**  
**VITIVINÍCOLA**

UTILIZAÇÃO DOS RESÍDUOS DA ELABORAÇÃO DE SUCO DE  
UVA ORGÂNICO NA PRODUÇÃO DE FARINHAS E COGUMELOS  
COMESTÍVEIS

**BRUNA MARA POSTINGHER**

Caxias do Sul

2015

**BRUNA MARA POSTINGHER**

**UTILIZAÇÃO DOS RESÍDUOS DA ELABORAÇÃO DE SUCO DE UVA  
ORGÂNICO NA PRODUÇÃO DE FARINHAS E COGUMELOS  
COMESTÍVEIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção de grau de Mestre em Biotecnologia e Gestão Vitivinícola.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mirian Salvador

Co-orientador: Prof. Dr. Aldo José Pinheiro Dillon

**Caxias do Sul**

**2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Universidade de Caxias do Sul  
UCS - BICE - Processamento Técnico

P857u Postinger, Bruna Mara, 1989-

Utilização dos resíduos da elaboração de suco de uva orgânico na produção de farinhas e cogumelos comestíveis / Bruna Mara Postinger. – 2015.

79 f. : il. ; 30 cm

Apresenta bibliografia.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2015.

Orientadora: Profa. Dra. Mirian Salvador ; Coorientador: Prof. Dr. Aldo José Pinheiro Dillon.

1. Suco de uva. 2. Antioxidantes. 3. Resíduos. 4. Vitis labrusca. 5. Cogumelos comestíveis. I. Título.

CDU 2. ed.: 634.8.077

Índice para o catálogo sistemático:

1. Suco de uva	634.8.077
2. Antioxidantes	66.094.3-097.8
3. Resíduos	628.4
4. Vitis labrusca	634.842.1
5. Cogumelos comestíveis	635.8

Catalogação na fonte elaborada pela bibliotecária  
Ana Guimarães Pereira – CRB 10/1460

BRUNA MARA POSTINGHER

UTILIZAÇÃO DOS RESÍDUOS DA ELABORAÇÃO DE SUCO DE UVA ORGÂNICO NA  
PRODUÇÃO DE FARINHAS E COGUMELOS COMESTÍVEIS

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em  
Biotecnologia e Gestão Vitivinícola da Universidade de Caxias do Sul,  
visando à obtenção de grau de Mestra em Biotecnologia e Gestão  
Vitivinícola.

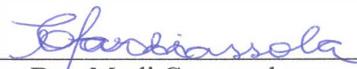
Orientadora: Dra. Mirian Salvador

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 29 DE MAIO DE 2015.

\_\_\_\_\_  
Dra. Mirian Salvador  
Orientadora

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Caroline Dani

\_\_\_\_\_  
Dra. Luciani Tatsch Piemolini Barreto

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Marli Camassola

Dedico este trabalho aos meus  
incentivadores: meus pais Luiz Postinger e  
Deomira A. P. Postinger e meus irmãos  
César L. Postinger e Fabrício J. Postinger.

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por todos os dias me abençoar com a saúde e a paz de espírito necessárias para seguir em frente, e por ter colocado em meu caminho tantas pessoas maravilhosas que tornaram possível a conclusão desta jornada.

À minha orientadora, professora **Miriam Salvador**, não apenas por seu inventivo e paciência, mas por ser sobretudo um exemplo de pessoa e profissional que sabe conduzir sua equipe com grande maestria, extrema competência, e incomparável sensibilidade, respeitando as possibilidades e talentos de cada um e conduzindo-os a explorar o seu melhor. Minha eterna gratidão por jamais ter medido esforços em me auxiliar em todos os momentos, e minha admiração pela brilhante líder que é.

Ao meu co-orientador, professor **Aldo José Pinheiro Dillon**, por ter enriquecido este trabalho com suas ideias e pontos de vista, que me inspiraram a explorar áreas jamais imaginadas e que contribuíram imensamente com minha formação.

Aos professores **Marli Camassola** e **Sidnei Moura**, pela disponibilidade de fazerem parte de minha banca de acompanhamento, e por desta forma terem agregado importantes contribuições a este trabalho.

Aos colegas, professores e colaboradores do **Mestrado Profissional em Biotecnologia e Gestão Vitivinícola** por todos os conhecimentos compartilhados, pelas experiências trocadas, e pelos ótimos momentos vividos ao longo destes dois anos.

Ào Laboratório de Enzimas e Biomassa, e de forma especial à sempre dedicada e prestativa **Roselei Claudete Fontana**, por ter emprestado seu tempo e conhecimentos para a execução de importantes etapas de meus estudos.

Aos colegas e ex-colegas do Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, em especial aos queridos **Adriana Stolfo**, **Camila D. de Col**, **Caroline Calloni**, **Cátia Branco**,

**Elisa Pavão, Émilin D. de Lima, Fábio S. Marcon, Gabriela Gambato, Juliane Sene, Luana S. Martínez, Luciana B. A. Toguinha, Luciana F. Santos, Marina Rigotti, Marisa de Campos Santana, Natalia Stedile, Rafaela Dall Agnol, e Tiago Selau Rodrigues,** minha imensa gratidão e admiração por terem me acolhido com tanto carinho e por formarem uma equipe sempre disposta a colaborar uns com os outros, por vibrarem com as conquistas dos colegas, pela alegria com que conduzem seu dia-a-dia, e por terem tornado minha jornada mais leve e repleta de histórias e amigos. Vocês serão para sempre parte de um capítulo muito importante da minha vida.

Um agradecimento especial à aquela que deixa de ser minha estagiária para ser para sempre minha eterna grande amiga. **Kelly Todescatto**, minha gratidão pela dedicação, competência, disponibilidade, confiança, paciência, carinho e amor com que conduziste suas tarefas, e por teres se tornado tão especial no meu caminho.

Aos colegas da empresa **Econatura**, pela paciência, colaboração, e compreensão, e principalmente pelo enorme incentivo que me impulsiona em todos os momentos.

Aos meus **familiares e amigos** que sempre incentivaram minha evolução em todos os sentidos, agradeço por compreenderem minhas ausências e por sempre torcerem pelas minhas conquistas.

Aos meus irmãos, **César e Fabrício**, sobretudo pela compreensão, paciência e carinho, e por serem meus grandes amigos e me encorajarem a ser uma pessoa sempre melhor.

Por fim, minha gratidão eterna e infinita aos grandes responsáveis por eu sempre buscar o melhor de mim. **Deomira Ana Piccinini Postinger** e **Luiz Postinger**, meus pais, meus ídolos, meus exemplos, e meus incentivadores. Muito obrigada por sempre acreditarem em mim, por me apoiarem em todas as minhas escolhas, por acreditarem em meus sonhos e por não medirem esforços para torná-los possíveis.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
2.1. Produção de uvas no Brasil.....	3
2.3. Resíduos da produção vinícola .....	7
2.4. Utilização dos resíduos vitivinícolas pela indústria de alimentos .....	10
2.5. Compostos fenólicos da uva .....	13
2.6. Metodologias para avaliação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.....	17
2.7. Cogumelos comestíveis .....	18
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>25</b>
3.1. Objetivo geral.....	25
3.2. Objetivos específicos .....	25
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
Artigo 1 – Organic grape juice pomace as raw material for development of an antioxidant edible flour .....	27
Artigo 2 – Enrichment in phenolic content and antioxidant activity of the edible mushroom <i>Pleurotus albidus</i> .....	41
<b>5. DISCUSSÃO GERAL.....</b>	<b>52</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>59</b>
<b>7. PERSPECTIVAS .....</b>	<b>61</b>
<b>8. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>62</b>
<b>9. ANEXO .....</b>	<b>79</b>
Autorização de coleta de amostras.....	79

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Produção de uvas (em toneladas) nos Brasil e nos principais estados produtores (safras de 2009 a 2013).....	3
<b>Tabela 2</b> - Composição física de diferentes amostras de bagaço de uva ( <i>Vitis vinifera</i> ). 8	
<b>Tabela 3</b> - Quantificação de macronutrientes e fibras em cogumelos <i>Pleurotus</i> ssp.....	21
<b>Tabela 4</b> - Quantificação de vitaminas em cogumelos do gênero <i>Pleurotus</i> ssp.....	22
<b>Tabela 5</b> - Quantificação de minerais em cogumelos do gênero <i>Pleurotus</i> ssp. ....	23
<b>Tabela 6</b> - Efeito de diferentes temperaturas nos compostos antioxidantes de resíduos d elaboração de vinhos e sucos de uva. ....	56
<b>Tabela 7</b> - Determinação de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante pelo método DPPH• de cogumelos do gênero <i>Pleurotus</i> . ....	57

## LISTA DE TABELAS DOS ARTIGOS

### **Organic grape juice pomace as raw material for the development of an antioxidant edible flour**

Table 1 – Characterization of <i>V. labrusca</i> L. organic grape pomace.....	33
Table 2 - Total phenolic content and antioxidant capacity of the organic grape pomace.....	33
Table 3 – Physicochemical and microbiological analysis of flour obtained from organic grape pomace .....	34
Table 4 - Heating time and temperature effects on total phenolic compounds (mg GAE/g) of the flour obtained from organic grape pomace.....	35

### **Enrichment in phenolic content and antioxidant activity of the edible mushroom *Pleurotus albidus***

Table 1 - Phenolic compounds and antioxidant capacity of the mushrooms <i>Pleurotus albidus</i> cultivated in substrates containing different percentages of grape pomace (GP), grape stalks (GS) and sawdust (S) of <i>Pinus</i> sp. ....	47
--	----

### LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Processo simplificado de elaboração de suco de uva através do método Welch e etapas de obtenção do engaço e bagaço .....	6
<b>Figura 2</b> - Produção (em milhões de litros) de suco de uva no Rio Grande do Sul .....	6
<b>Figura 3</b> - Cogumelos da espécie <i>P. albidus</i> .....	19

### LISTA DE FIGURAS DOS ARTIGOS

#### **Enrichment in phenolic content and antioxidant activity of the edible mushroom *Pleurotus albidus***

Figure 1 - Yield, biological efficiency and productivity of the mushrooms <i>Pleurotus albidus</i> cultivated in media containing different percentages of grape pomace (GP), grape stalks (GS) and sawdust (S) of <i>Pinus</i> sp. ....	48
--	----

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Compostos fenólicos e atividade biológica de resíduos vitivinícolas de uvas Isabel e Bordô ( <i>Vitis labrusca</i> L.).....	9
<b>Quadro 2</b> - Características dos alimentos enriquecidos com resíduos provenientes da elaboração de vinhos e sucos de uva. ....	12
<b>Quadro 3</b> - Principais classes de flavonoides, suas estruturas básicas e principais representantes de cada classe.....	14

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS <sup>•+</sup>	2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
BE	<i>Biological efficiency</i> (Eficiência biológica)
CD	<i>Cultivation days</i> (dias de cultivo)
CDW	<i>Compost dry weight</i> (Peso seco do composto)
CFU	<i>Colony formation unit</i> (Unidades formadoras de colônia)
DPPH <sup>•</sup>	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
GAE	<i>Gallic acid</i> – Ácido gálico
GP	<i>Grape pomace</i> (bagaço de uva)
GPF	<i>Grape pomace flour</i> (Farinha de bagaço de uva)
GS	<i>Grape stalks</i> (engajo de uva)
MFW	<i>Mushroom fresh weight</i> (Peso úmido do cogumelo)
MPN	<i>Most probable number</i> (Número mais provável)
P	<i>Productivity</i> (produtividade)
RS	Rio Grande do Sul
SD	<i>Standart derivation</i> (Desvio padrão)
TPC	<i>Total phenolic content</i> (Conteúdo fenólico total)
Y	<i>Yield</i> (Rendimento)

## RESUMO

Embora parte dos resíduos gerados a partir da produção de sucos de uva e vinhos sejam utilizados para elaboração de bebidas destiladas, de ração animal ou de adubo, boa parcela destes é descartada na natureza, podendo causar contaminação ambiental. Alguns estudos já têm demonstrado o potencial da utilização destes resíduos pela indústria de alimentos, tendo por finalidade enriquecer nutricionalmente e melhorar a conservação de uma série de produtos alimentícios. Outras pesquisas demonstram, ainda, a possibilidade de utilizar o bagaço de uva como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis, porém a influência desta prática na composição dos fungos cultivados é pouco explorada. Desta forma, o presente estudo teve por objetivo comparar resíduos das variedades Bordô e Isabel (*Vitis labrusca L.*), provenientes de diferentes empresas produtoras de suco de uva orgânico e elaborar uma farinha a partir da amostra de resíduos da elaboração de suco de uva orgânico com maior teor antioxidante. Em seguida, buscou-se caracterizar a farinha obtida quanto a seu teor de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante, avaliar aspectos físico-químicos e microbiológicos da mesma e a estabilidade de seus compostos fenólicos quando submetidos a diferentes tempos e temperaturas. Além disso, os resíduos (bagaço e engaço) foram empregados na produção de cogumelos comestíveis *Pleurotus albidus*, com a finalidade de comparar a eficiência de cultivo e o teor de compostos fenólicos totais presentes nos cogumelos cultivados nestes resíduos. Os resultados mostraram que as amostras de resíduos da variedade Bordô apresentaram maior teor de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante quando comparados aos da variedade Isabel. A partir de resíduos da variedade Bordô foi elaborada uma farinha composta por 47,21% de fibras e 133,05mg GAE/g de compostos fenólicos totais. Esta análise de teor de compostos fenólicos totais não apresentou perdas significativas quando a farinha foi aquecida por 20 minutos a 150°C. A comparação do teor de

compostos fenólicos totais dos cogumelos cultivados nos resíduos e em serragem, demonstrou que quando provenientes do cultivo em bagaço e engaço de uva, os cogumelos apresentaram teor de compostos fenólicos até 2,2 vezes superior, e até 3,4 vezes mais capacidade antioxidante do que os cultivados em serragem. Também observou-se maiores valores em todos os parâmetros de produtividade avaliados, demonstrando assim ser esta uma possível maneira de aproveitamento destes resíduos. Este trabalho demonstrou que a elaboração de farinha e o cultivo de cogumelos podem ser alternativas para o aproveitamento de resíduos da elaboração de suco de uva orgânico.

**Palavras-chave:** Suco de uva, antioxidantes, resíduos, polifenóis, *Vitis labrusca*, cogumelos comestíveis, *Pleurotus albidus*.

## ABSTRACT

Although part of the waste generated from the production of grape juice and wine is used for the preparation of liquor, as animal feed or as fertilizer, good portion of these is discarded in nature, and may cause environmental contamination. Some studies have already demonstrated the potential of using such waste for the food industry, in order to nutritionally enhance and improve conservation of a number of food products. Other studies also demonstrated the possibility of using grape pomace as a substrate for growing edible mushrooms, although the influence of this practice in the composition of cultivated fungi is little explored. Thus, this study aimed to compare the waste of variedades Bordô and Isabel (*Vitis labrusca L.*), from different organic grape juice producer companies and prepare a flour from the organic grape juice waste sample with the highest antioxidant content. Next, we sought to characterize the flour obtained regarding its total phenolics content and antioxidant capacity, evaluate physicochemical and microbiological aspects of it and the stability of their phenolic compounds when subjected to different times and temperatures. Furthermore, waste (pomace and stems) were used for the production of edible mushroom *Pleurotus albidus*, in order to compare the cultivation efficiency and the content of phenolic compounds present in these mushrooms cultivated on the residues. The results showed that the waste samples of Bordô variety had higher content of phenolic compounds and better antioxidant capacity when compared to the variety Isabel. From waste of variety Bordô a flour was prepared consisting of 47.21% fiber and 133,05mg GAE/g of total phenolic compounds. This content analysis of phenolic compounds showed not significant losses when the flour was heated for 20 minutes at 150 ° C. The total phenolic compounds comparison among mushrooms grown in wastes and sawdust, showed that when cultivated in grape pomace and grape stalks, mushrooms presented phenolic compounds content until 2.2 times higher, and antioxidant capacity until 3.4

times better than those cultivated on sawdust. It was observed higher values in all productivity parameters evaluated, thus demonstrating that this is a possible way to utilize these wastes. This work demonstrated that the production of flour and mushroom cultivation can be alternatives for organic grape juice production waste recovery.

**Keywords:** Grape juice, antioxidants, waste, polyphenols, *Vitis labrusca*, edible mushrooms, *Pleurotus albidus*.

## 1. INTRODUÇÃO

As uvas estão entre as frutas mais cultivadas em todo o mundo, com extensas áreas de cultivo em diversos países. No Brasil, o Rio Grande do Sul (RS) é o maior produtor de uvas, bem como de seus derivados (Andrade, 2012; Mello, 2014). Paralelamente às uvas cultivadas convencionalmente, vem crescendo a produção de uvas orgânicas, que são utilizadas especialmente para a produção de sucos, embora a produção orgânica desta bebida corresponda a apenas cerca de 2,5% do total produzido no Brasil (Tipa, 2012; Ascar, 2014).

No RS destaca-se a produção de suco de uva através do método Welch, no qual o calor é o principal meio de extração das substâncias presentes nos grãos (Marzarotto, 2005). Durante o processo de elaboração são obtidas quantidades significativas de resíduos, que correspondem a cerca de 25% da massa inicial da uva (Lalevic *et al.*, 2013; Yu & Ahmedna, 2013). Estes resíduos são compostos principalmente por engaço (caules que formam a estrutura dos cachos) e bagaço (composto basicamente por cascas e sementes) (Schieber *et al.*, 2002; Marzarotto, 2005). Atualmente, parte destes resíduos é utilizada para a produção de *grappa*, como ingrediente para ração animal, como combustível para caldeiras, ou ainda como fertilizante. Entretanto, uma parcela significativa acaba sendo descartada no meio ambiente, podendo gerar contaminação ambiental (Pirra, 2005; Arvanitoyannis *et al.*, 2006).

As quantidades elevadas de fibras e antioxidantes presentes nos resíduos da elaboração de derivados da uva, podem transformá-los em produtos de alto valor agregado, com potencial para contribuir tanto para a saúde humana quanto para a conservação de alimentos (Llobera & Cañellas, 2007). Estudos já realizados com resíduos provenientes da elaboração de vinhos e sucos de uva demonstram que estes são

ricos em compostos fenólicos. Assim, a sua utilização poderia contribuir com o aumento do valor nutritivo da dieta humana (Lester & Saftner, 2011; Fontana *et al.*, 2013).

Outra alternativa para o aproveitamento destes resíduos é sua utilização como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis (Vieira *et al.*, 2007). O gênero *Pleurotus* possui um grande número de espécies comestíveis, entre as quais encontra-se o *Pleurotus albidus*. Por ser pouco conhecida e explorada comercialmente, são escassos os estudos a respeito desta espécie (Putzke, 2002; Lechner & Albertó, 2011). Embora o consumo de cogumelos seja baixo no Brasil quando comparado a outros países, sabe-se que muitas espécies destes possuem excelente valor nutritivo e potencial antioxidante, sendo inclusive atribuído aos cogumelos propriedades funcionais e nutracêuticas (Furlani & Godoy, 2005; Barros *et al.*, 2008).

Em vista disso, considera-se relevante o estudo de diferentes formas de aproveitamento dos resíduos da produção de suco de uva orgânico a fim de possibilitar a utilização destes pela indústria de alimentos e no cultivo de cogumelos, aumentando o valor agregado dos mesmos.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Produção de uvas no Brasil

De acordo com dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) no ano de 2013 a produção de uvas encontrava-se em décimo sexto lugar no *ranking* mundial de quantidade de produção de alimentos cultivados. Entre as frutas, a área total de cultivo de uvas obteve o segundo lugar, sendo superada apenas pela área cultivada de bananas (FAO, 2013).

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no Brasil a área utilizada para produção de uvas é menor apenas do que a destinada ao cultivo de laranjas e bananas, e a produção de uvas corresponde a 3,2% da quantidade total de frutas produzidas no país (Andrade, 2012). Em relação aos demais estados produtores de uvas, o Rio Grande do Sul está em primeiro lugar, conforme descrito na Tabela 1.

**Tabela 1 - Produção de uvas (em toneladas) nos Brasil e nos principais estados produtores (safras de 2009 a 2013).**

Local	Ano				
	2009	2010	2011	2012	2013
<b>Brasil</b>	1.345.719	1.295.442	1.463.481	1.461.056	1.412.854
<b>Rio Grande do Sul</b>	737.363	692.692	829.589	840.251	808.267
<b>Pernambuco</b>	158.515	168.225	208.660	224.758	228.727
<b>São Paulo</b>	177.934	177.538	177.227	176.902	172.868
<b>Santa Catarina</b>	67.546	66.214	67.767	70.909	53.153
<b>Paraná</b>	102.080	101.900	105.000	70.500	79.052
<b>Bahia</b>	90.508	78.283	65.435	62.292	52.808
<b>Minas Gerais</b>	11.773	10.590	9.804	10.107	12.734
<b>Goiás</b>	n.i.	n.i.	n.i.	4.570	4.581
<b>Ceará</b>	n.i.	n.i.	n.i.	767	664

n.i.: não informado

Mello, 2014

Na Serra Gaúcha, aonde concentra-se a maior parte da produção de uvas no Brasil, destacam-se as variedades Isabel e Bordô (*Vitis labrusca L.*) como as mais utilizadas na produção de sucos tintos (Marzarotto, 2005). A espécie *V. labrusca L.* é de origem norte

americana, ocorrendo desde o Canadá até a Carolina do Sul nos Estados Unidos (EUA), apresentando características mais rústicas quanto à suscetibilidade a doenças (Agostini, 2011).

A cultivar Isabel é originária da região sudeste dos EUA, tendo chegado ao Rio Grande do Sul trazida por Thomas Maister entre 1839 e 1842 (Sousa, 1996). Possui como uma de suas características a notável capacidade de acumular açúcar, variando geralmente entre 15° e 19° Brix., representa a variedade mais produzida no Brasil (Mazza, 2007; Mello & Machado, 2013).

A cultivar Bordô, originária dos EUA, é bastante rústica, dispensando maiores cuidados no cultivo. Seu rendimento é menor em relação aos demais tipos de uva utilizados na elaboração de sucos, porém proporciona grande intensidade de cor, de aroma, e seu teor de açúcar varia de 14° a 17° Brix, sendo esta a segunda variedade de uva mais produzida no Rio Grande do Sul (Marzarotto, 2005; Mello & Machado, 2013).

Apesar das extensas áreas utilizadas no cultivo destas e outras variedades, no mundo apenas 4% da área vitícola é destinada às uvas orgânicas. Desde 2004, quando estes dados começaram a ser registrados até o ano de 2012, esta área apresentou um crescimento de cerca de três vezes, chegando a 7 milhões de hectares. Não existem dados oficiais que indiquem a área plantada de uvas orgânicas no Brasil (FIBL/IFOAM, 2014). Porém, dados não oficiais apontam que enquanto no ano de 2006 a Serra Gaúcha produzia 700 toneladas de uva orgânica, no ano de 2012 cerca de 4.970 toneladas de uvas foram produzidas sem a utilização de agrotóxicos na mesma região (Tipa, 2012). Já no ano de 2014, estima-se que tenham sido produzidos de 7.000 a 8.000 toneladas de uvas orgânicas no Estado, representando um aumento de mais de dez vezes em um período de oito anos (Ascar, 2014).

Este avanço na produção de uvas orgânicas deve-se principalmente à crescente demanda por este tipo de produto por parte dos consumidores, que são motivados principalmente pela preocupação com a própria saúde bem como com a preservação do meio ambiente (Smolinski *et al.*, 2011).

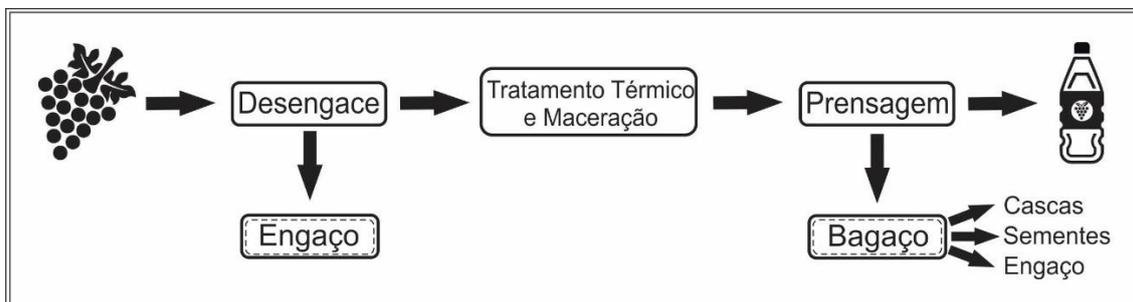
## **2.2. Suco de Uva**

No Brasil, o método Welch é o mais utilizado para a elaboração de suco de uva. Neste método, após a recepção das uvas na indústria, os frutos são inspecionados a fim de verificar aspectos de qualidade. Em seguida, as uvas são encaminhadas a uma desengaçadeira, equipamento que realiza a separação do engaço. Após, os grãos de uva são submetidos ao tratamento térmico (temperaturas entre 65°C e 80°C) através da troca indireta de calor, com a finalidade de facilitar a extração de componentes existentes no interior dos grãos e da casca. Um período de maceração dos grãos ocorre em seguida, momento no qual poderão ser adicionados preparados enzimáticos que possuem a função de facilitar a ruptura celular da casca. Ao final da maceração, o conteúdo sólido é separado e submetido à prensagem, ocorrendo a extração do suco e pigmentos restantes. A prensagem dá origem ao bagaço, que é composto de cascas, sementes e uma quantidade residual de engaço. Em seguida, o suco pode ser filtrado para que seja separado o restante dos sólidos em suspensão, e após é submetido à estabilização tartárica, a fim de separar os sais tartáricos. O suco pode tanto ser engarrafado imediatamente após a elaboração, quanto armazenado em tanques para posterior engarrafamento (Marzarotto, 2005).

Durante o processo de elaboração de suco de uva, são gerados dois tipos principais de resíduos, o engaço e o bagaço. A Figura 1 ilustra de maneira simplificada o processo de

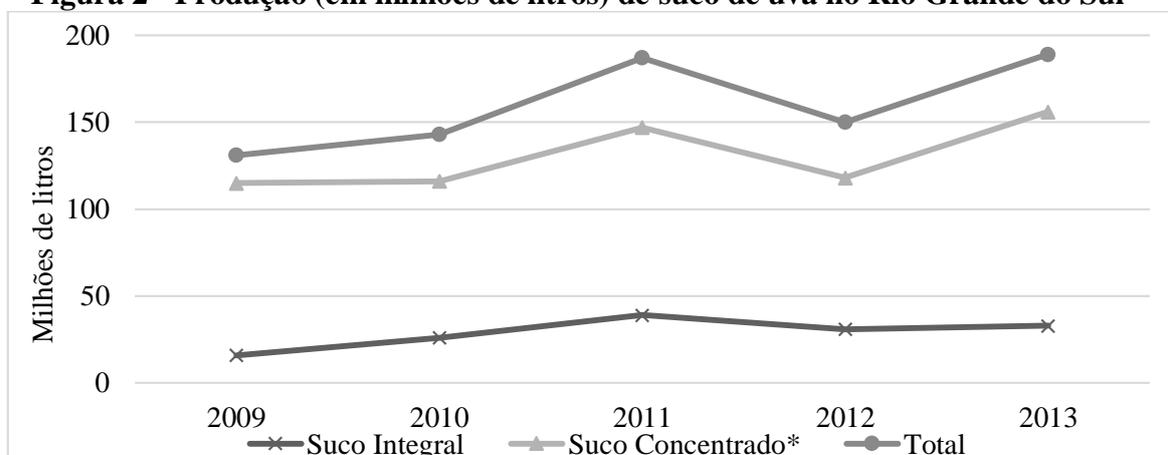
elaboração de suco de uva através do método Welch e as etapas nas quais o engaço e bagaço são obtidos.

**Figura 1 - Processo simplificado de elaboração de suco de uva através do método Welch e etapas de obtenção do engaço e bagaço**



Segundo o Instituto Brasileiro do Vinho (Ibravin), o Rio Grande do Sul produziu no ano de 2013 cerca de 34 milhões de litros de suco de uva integral, o que representa um aumento de mais de duas vezes em relação a produção do ano de 2009. A elaboração de suco de uva concentrado que em 2008 foi de cerca de 115 milhões litros, chegou a 156 milhões litros no ano 2013 (Figura 2). No ano de 2013 foram produzidos cerca de 3,2 milhões de litros de suco de uva a partir de uvas orgânicas, o que corresponde a apenas cerca de 2,5% da produção total de suco de uva no estado (Vindima, 2013).

**Figura 2 - Produção (em milhões de litros) de suco de uva no Rio Grande do Sul**



\*Transformados em litros de suco simples  
Adaptado de: Mello (2014).

### 2.3. Resíduos da produção vinícola

Os subprodutos do processamento de vegetais, embora muitas vezes considerados um problema no que diz respeito ao seu descarte pela indústria, podem representar uma fonte de compostos com importante potencial tecnológico e nutritivo. No caso da uva, cerca de 25% da quantidade processada se transforma em resíduos, principalmente cascas, sementes e engaço (Prozil *et al.*, 2012; Lalevic *et al.*, 2013; Yu & Ahmedna, 2013).

O engaço, formado pela parte lenhosa que compõe o cacho é obtido após o processo de desengace das uvas, etapa que ocorre logo no início do processo. Formado por cerca de 80% de água, o engaço é composto principalmente por fibras (lignina, celulose e hemicelulose) e uma elevada porcentagem de minerais, especialmente nitrogênio e potássio (Bertran *et al.*, 2004).

O bagaço, por sua vez, é gerado após a prensagem dos grãos de uva para a extração final do suco, e é constituído por cascas, sementes e uma quantidade residual de engaço. O bagaço de uva pode ser classificado como bagaço doce ou bagaço fermentado. O bagaço doce é proveniente da elaboração de suco de uva e de vinhos que não fermentam na presença de mosto, os chamados vinhos de “bica aberta”, e por isso, este tipo de possui pouco ou nenhum resíduo de etanol. Já o bagaço fermentado é proveniente da fermentação com maceração, quando o mosto fermenta em contato com as partes sólidas, e mesmo após a prensagem o bagaço permanecerá com certa quantidade de etanol. O bagaço é tido como o principal resíduo gerado pela indústria vitivinícola (Silva, 2003; Wendler, 2009).

A composição dos resíduos depende da variedade da uva, condições climáticas, safras, sistema de cultivo e processo de produção entre outros fatores (Leeuwen *et al.*, 2004; Ky *et al.*, 2014). A Tabela 2 compara as proporções de casca, semente e engaço obtidas em amostras de bagaço de uva *V. vinífera* provenientes da elaboração de vinhos.

**Tabela 2 - Composição física de diferentes amostras de bagaço de uva (*Vitis vinifera*)**

<b>Variedade</b>	<b>Casca</b>	<b>Semente</b>	<b>Engaço</b>
Cabernet Sauvignon	77,41%	20,91%	1,68%
Merlot	83,18%	14,98%	1,84%
Morio Moscato	85,99%	12,77%	1,25%
Muller Thurgau	90,67%	7,84%	1,49%
Pinot Noir	73,35%	12,34%	0,54%
<b>Média</b>	<b>82,12%</b>	<b>13,77%</b>	<b>1,36%</b>

Adaptado de Jiang *et al.*, (2010).

Atualmente, uma pequena parte dos resíduos provenientes da elaboração de derivados da uva são utilizados para a elaboração de um destilado de uva conhecido como *grappa*, ou *graspa*. Outra parte é utilizada como fonte de fibras e proteínas para ração animal, ou ainda como combustível para caldeiras após sua peletização (Rotava *et al.*, 2009; Vindima, 2013). Uma proporção destes resíduos é utilizada como fertilizante (Arvanitoyannis *et al.*, 2006; Oliveira, 2010), e em alguns casos as sementes são utilizadas para extração de óleo. Entretanto, uma proporção significativa é descartada no meio ambiente, sem que haja algum destino que agregue valor e evite a contaminação ambiental. O acúmulo destes materiais no solo pode prejudicar a germinação de plantas graças à grande concentração de compostos fenólicos e taninos (Northup *et al.*, 1998). Os subprodutos da elaboração de vinho e sucos de uva são ricos em matéria orgânica, possuem em geral pH ácido e contém diferentes microrganismos, como leveduras e bactérias. Após serem descartados no meio natural, especialmente quando depositados nas proximidades de cursos d'água, a matéria orgânica é degradada pelos microrganismos que acabam consumindo o oxigênio presente na água, e desta forma indisponibilizando-o para a fauna e flora presente na água. Assim, a poluição gerada deve-se a um conjunto de fatores que causam alterações no meio, e que de forma conjunta ou isolada, interferem em características como o pH, temperatura, limpidez, introdução de produtos nocivos e

tóxicos ou introdução de carga orgânica, e podem atrair vetores de doenças (Pirra, 2005; Arvanitoyannis *et al.*, 2006).

A fim de identificar as potencialidades destes subprodutos da indústria de vinhos e sucos de uva, uma série de pesquisas tem sido desenvolvidas a partir das mais diversas espécies e variedades de uvas. A maior parte destes estudos foi realizada com resíduos resultantes da elaboração de vinhos, sendo estes, em sua maioria, da espécie *V. vinifera*. Entretanto, também existem trabalhos realizados a partir de subprodutos da espécie *V. labrusca L.*, comumente utilizada para a elaboração de suco de uva. Os resultados dos estudos com *V. labrusca L.* indicaram a presença de importantes compostos fenólicos nestes resíduos, conforme descrito no Quadro 1.

**Quadro 1 - Compostos fenólicos e atividade biológica de resíduos vitivinícolas de uvas Isabel e Bordô (*Vitis labrusca L.*)**

Variedade de uva	Tipo de resíduo	Compostos bioativos identificados	Atividade Biológica	Referências
Bordô	Bagaço	Antocianinas monoméricas, quercetina, canferol, catequina, epicatequina, trans resveratrol e ácido gálico.	Antioxidante <i>in vitro</i>	Rockenbach <i>et al.</i> , 2011
	Semente	Catequina, epicatequina, epigallocatequina, procianidinas (B1, B2, B3 e B4), ácido gálico,	Antioxidante <i>in vitro e in vivo</i>	Scola <i>et al.</i> , 2010
Isabel	Bagaço	Antocianinas monoméricas, quercetina, camferol, catequina, epicatequina, trans resveratrol e ácido gálico.	Antioxidante <i>in vitro</i>	Ishimoto, 2008; Rockenbach <i>et al.</i> , 2011
	Casca	Antocianinas, flavonóis, trans-resveratrol	Antioxidante <i>in vitro.</i>	Soares <i>et al.</i> , 2008
	Semente	Catequina, epicatequina, epigallocatequina, procianidinas (B1, B2, B3 e B4), ácido gálico.	Antioxidante <i>in vitro e in vivo</i>	Scola <i>et al.</i> , 2010

Além dos compostos fenólicos, também é reconhecido o elevado teor de fibras presentes no bagaço de uva, podendo chegar a 60% de sua massa (Valiente *et al.*, 1995). No organismo humano, o consumo de fibras contribui com a redução do colesterol, regulação dos níveis séricos de glicose, manutenção do equilíbrio gastrointestinal,

aumento da biodisponibilidade de cálcio e das funções imunológicas (Tunland & Meyer, 2002; Anderson *et al.*, 2009; Satija & Hu, 2012).

Devido à combinação da alta concentração de compostos fenólicos com a grande quantidade de fibras presentes no bagaço de uva, estes resíduos foram classificados por Saura-Calixto (1998) como fibras dietéticas antioxidantes. Estas fibras possuem características estruturais diferentes daquelas provenientes dos cereais, pois encontram-se associadas à substâncias como taninos condensados, ácidos fenólicos e flavonoides, reforçando ainda mais a importância do bagaço da uva como possível ingrediente alimentar (Saura-Calixto, 1998).

As fibras dietéticas antioxidantes da uva, como tem sido denominadas, podem contribuir com a melhoria da saúde gastrointestinal através da modulação da microbiota (López-Oliva *et al.*, 2010; Saura-Calixto, 2011; Tourino *et al.*, 2011; Pozuelo *et al.*, 2012) e por meio de seu efeito antioxidante (López-Oliva *et al.*, 2010). Outras importantes funções incluem seu efeito na prevenção de alguns tipos de câncer (Nguyen *et al.*, 2009; Lizarraga *et al.*, 2011; Sánchez-Tena *et al.*, 2013), atividade antibacteriana (Tseng & Zhao, 2012), atividade antioxidante (Llobera & Cañellas, 2007; Pérez-Jiménez *et al.*, 2009) e atividade anticolesterolêmica (Bobek, 1999; Martín-Carrón *et al.*, 1999).

#### **2.4. Utilização dos resíduos vitivinícolas pela indústria de alimentos**

Estudos realizados com resíduos de *V. vinifera* demonstraram importantes efeitos biológicos, tais como: atividade anti-mutagênica, anti-carcinogênica (Parry *et al.*, 2011), anti-inflamatória, antioxidante (Hogan *et al.*, 2010; Scola *et al.*, 2010, 2011; Álvarez *et al.*, 2012; Doshi *et al.*, 2013), prevenção de doenças cardiovasculares (Bagchi *et al.*, 2003; Karthikeyan *et al.*, 2007), aumento da expectativa de vida e diminuição de doenças relacionadas ao envelhecimento (Paredes-López *et al.*, 2010).

Os resíduos da indústria vitivinícola também podem atuar na melhoria da conservação de diversos alimentos, devido à inibição e diminuição da oxidação (Fontana *et al.*, 2013), capacidade antimicrobiana, prevenção da rancificação, melhora na estabilidade de cor, aroma e pH, aumentos da quantidade de fibras e do teor de antioxidantes, conforme descrito no Quadro 2.

O processamento de alimentos pode incluir ações que implicam em aumento de temperatura, como cozinhar, assar, fritar, entre outros. Nestas condições, muitos compostos bioativos podem ser alterados, resultando em degradação, isomerização, polimerização, entre outras modificações, o que pode ocasionar perdas em sua atividade biológica e/ou a formação de substâncias tóxicas (Yu & Ahmedna, 2013). Alguns estudos têm avaliado a estabilidade térmica, e em geral, estes indicam a ocorrência de perdas no teor de compostos fenólicos totais e redução da capacidade antioxidante dos alimentos que passam por estes processos (Larrauri *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2006; Khanal *et al.*, 2010; Ross *et al.*, 2011).

A utilização de farinhas como complementos para a alimentação humana tem sido uma prática bastante comum. Seu uso pode ser feito principalmente com a adição das mesmas em preparações comuns como granolas, cereais, bolos, pães, frutas, entre outros, tornando-se alimentos bastante versáteis e fáceis de incorporar na alimentação. Atualmente o mercado dispõe de uma enorme variedade de opções de farinhas, e o consumo destas tem sido relacionado a uma série de benefícios a saúde (Mota, *et al.*, 2000; Braga, *et al.*, 2010; Parry *et al.*, 2011).

A carência de nutrientes é cada vez mais prevalente na população como um todo (Brasil, 2007). Portanto, o consumo de alimentos ricos em compostos antioxidantes pode ser uma estratégia para auxiliar na melhoria das condições de saúde de indivíduos que possuam deficiências destes nutrientes.

**Quadro 2 - Características dos alimentos enriquecidos com resíduos provenientes da elaboração de vinhos e sucos de uva.**

<b>Alimento Suplementado</b>	<b>Resíduo/extrato adicionado</b>	<b>Efeito observado</b>	<b>Referência</b>
Balas	Farinha de bagaço	Melhora na textura, aumento de antocianinas, flavonóis e procianidinas e aumento da atividade antioxidante.	Cappa <i>et al.</i> , 2014
Barra de cereais	Extrato de bagaço	Aumento no teor de fibras	Balestro <i>et al.</i> , 2011
Barras de cereais, panquecas e <i>noodles</i>	Farinha de semente de uva	Aumento da capacidade antioxidante	Rosales Soto <i>et al.</i> , 2012
Biscoitos	Farinha de bagaço	Aumento no teor de fibras	Piovesana <i>et al.</i> , 2013
Carne crua e cozida de frango	Extrato de sementes e cascas	Aumento da capacidade antioxidante	Selani <i>et al.</i> , 2011
Carne de frango refrigerada	Farinha de bagaço	Aumento da capacidade antioxidante	Sáyago-Ayerdi <i>et al.</i> , 2009
Cereal matinal	Farinha de bagaço	Aumento no teor de fibras e compostos bioativos	Oliveira <i>et al.</i> , 2013
Empanadas de carne bovina	Extrato de bagaço	Atividante antimicrobiana	Sagdic <i>et al.</i> , 2011
Filé de peixe congelado	Bagaço (liofilizado e extrato)	Aumento da capacidade antioxidante	Sánchez-Alonso <i>et al.</i> , 2008
Hambúrguer de carne de porco	Extrato de bagaço	Aumento da capacidade antioxidante	Garrido <i>et al.</i> , 2011
Iogurte e molho de salada	Bagaço (Farinha, extrato e extrato liofilizado)	Aumento no teor de fibras Aumento da capacidade antioxidante	Tseng & Zhao, 2013
Macarrão	Farinha de engação	Aumento no teor de fenólicos totais, taninos condensados, antocianinas monoméricas e capacidade antioxidante.	Sant'Anna <i>et al.</i> , 2014
Pão	Farinha de bagaço de uva	Aumento no teor de polifenóis totais e capacidade antioxidante	Hayta <i>et al.</i> , 2014; Mildner-Szkudlarz <i>et al.</i> , 2011
Pão	Extrato de semente	Aumento no teor de polifenóis totais Diminuição na formação de CML (carboximetil-lisina)	Peng <i>et al.</i> , 2010
Pão e Muffin	Farinha de bagaço	Aumento no teor de fibras	Walker, 2013
Pão, muffin e brownie	Farinha de bagaço	Aumento de fibras, polifenóis totais e aceitação sensorial.	Walker <i>et al.</i> , 2014
Queijo	Extrato de uva inteira	Aumento da capacidade antioxidante	Han <i>et al.</i> , 2011
Salsichas	Farinha de semente de uva	Aumento de proteínas, fibras e água. Aumento da capacidade antioxidante	Özvural & Vural, 2011
Sorvete e Sorbet	Farinha de bagaço	Aumento no teor de polifenóis totais Aumento no teor de fibras	Ishimoto <i>et al.</i> , 2007
Suco de uva	Sementes de uva	Aumento no teor de polifenóis totais Aumento da capacidade antioxidante Aumento de minerais (K, Na, Mg, Ca, Mn, Zn)	Toaldo <i>et al.</i> , 2013

## 2.5. Compostos fenólicos da uva

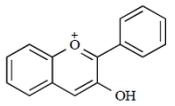
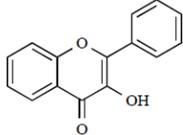
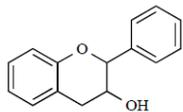
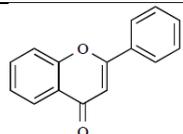
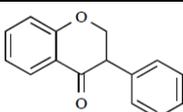
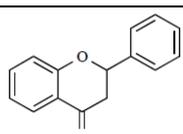
Os compostos fenólicos são metabólitos secundários encontrados na maioria dos vegetais. Eles possuem uma série de funções que incluem a proteção das plantas contra predadores, proteção ultra-violeta, atração de animais polinizadores e dispersores de sementes, entre outros. Ao todo, mais de 8000 diferentes estruturas de compostos fenólicos já foram identificadas (Soares *et al.*, 2008).

Para que ocorra a formação de compostos fenólicos nas plantas, existem duas vias metabólicas principais. Estas fornecem precursores para a síntese de um grande número de compostos que são subdivididos em diversas classes (Balasundram *et al.*, 2006). Estas vias são a do ácido chiquímico (que forma principalmente fenilpropanoides) e a via do ácido acético (na qual são produzidos principalmente fenóis simples) (Giada, 2013). Os compostos fenólicos podem ser classificados em não flavonoides e flavonoides (Del Rio *et al.*, 2013).

Entre os não flavonoides encontram-se os estilbenos, fitoalexinas produzidas por plantas em resposta a doenças, lesões e *stress*. O mais conhecido dos estilbenos é o resveratrol, que pode ocorrer tanto como isômero *cis* quanto *trans*, além de seus conjugados como o *trans*-resveratrol-3-*O*-glicosídeo (Del Rio *et al.*, 2013). A uva e seus derivados são a mais importante fonte conhecida de resveratrol, sendo que este estilbeno está presente principalmente na casca da fruta (Liu & Zhang, 2007). Foi demonstrado que o resveratrol atua no controle da proliferação celular, na ativação da apoptose e autofagia, na modulação da inflamação, na prevenção de doenças coronarianas, síndrome metabólica e doenças neurodegenerativas, entre outros. Além dos estilbenos, também os ácidos fenólicos são outra classe de não-flavonoides encontrados nas uvas e seus derivados, sendo o ácido gálico seu principal representante (Borriello *et al.*, 2014).

Os flavonoides, por sua vez, são compostos fenólicos formados por 15 moléculas de carbono com dois anéis aromáticos conectados por uma ligação de três carbonos (C6–C3–C6) (Hichri *et al.*, 2011). Os flavonoides podem ocorrer em suas fontes naturais nas formas livre (aglicona) ou na forma hidroxilada, metoxilada e/ou glicosilada. São subdivididos em grupos, sendo que destes, os mais encontrados em uvas e seus derivados são as antocianinas, flavonóis e flavan-3-óis (do qual fazem parte os taninos) (Balasundram, *et al.* 2006; Tsao, 2010; González-Paramás *et al.*, 2011; Álvarez *et al.*, 2012). O Quadro 3 apresenta as classes de flavonoides.

**Quadro 3 - Principais classes de flavonoides, suas estruturas básicas e principais representantes de cada classe.**

Classe	Estrutura Básica	Principais Compostos
Antocianinas		Cianidina, delphinidina, malvidina, pelargonidina, petunidina e peonidina
Flavonol		Quercetina, canferol e miricetina
Flavan-3-ol (Monômeros)		(Epi)catequina, (epi)gallocatequina, taninos.
Flavona		Apigenina e luteolina
Isoflavonas		Genisteína e daidzeína
Flavanona		Hesperidina e naringenina

Fonte: adaptado de González-Paramás *et al.*, 2011

As antocianinas representam um importante grupo de pigmentos solúveis em água que proporcionam uma grande diversidade de cores nas flores e cascas de frutos (Mazza,

2007; Jaakola, 2013). Sintetizadas a partir da glicosilação das antocianidinas, as antocianinas são produzidas pelas plantas como um mecanismo de proteção contra fatores ambientais de estresse, como a radiação ultravioleta, temperaturas frias e períodos de seca (Chalker-Scott, 1999). Em estudos *in vitro*, este flavonoide demonstrou principalmente atividade anti-cancerígena e protetora contra doenças cardiovasculares (Wang & Stoner, 2008; Wallace, 2011).

Os flavonóis são a classe de flavonoides mais amplamente distribuídos nos alimentos e possuem cores que variam do branco ao amarelo, acumulando-se principalmente nas cascas e folhas de vegetais (Manach *et al.*, 2004). Fatores ambientais possuem forte relação com a quantidade de flavonóis presentes nas uvas, sendo a incidência de luz solar o aspecto de maior influência, já que estes flavonoides possuem importante papel fotoprotetor devido à sua capacidade de absorver raios ultravioleta (Flamini *et al.*, 2013). Os flavonóis mais comuns são o canferol, a quercetina e a miricetina e ocorrem naturalmente conjugados com um ou mais açúcares (Simões, 2010). Nas uvas tintas, os principais flavonóis encontrados são a quercetina e miricetina, e em uvas brancas há predominância da quercetina (Mattivi *et al.*, 2006).

Os flavan-3-óis constituem a mais complexa classe de flavonoides, podendo ocorrer de simples monômeros até as formas oligoméricas e poliméricas (proantocianidinas), também conhecidas como taninos condensados, que podem ser apresentados na forma de polímeros de até 50 unidades. Entre os isômeros formados a partir de seus monômeros, estão a catequina e epicatequina, sendo estes os principais flavan-3-óis presentes nas uvas (Del Rio *et al.*, 2013). Os flavan-3-óis possuem uma série de efeitos biológicos, incluindo a varredura de radicais livres, a modulação de enzimas antioxidantes e quelação de metais de transição (Sangeetha *et al.*, 2005, Scola *et al.*, 2010).

Outra classe de flavonoides, as flavonas, são estruturalmente semelhantes aos flavonóis, porém são menos comuns. As isoflavonas, conhecidas por sua presença em leguminosas, possuem estrutura semelhante ao hormônio estrogênio, sendo portanto classificadas como fitoestrógenos. Já as flavanonas estão presentes especialmente em frutas cítricas, sendo por vezes responsáveis por seu sabor ácido (Del Rio *et al.*, 2013).

Embora os compostos fenólicos estejam presentes, a princípio, em todos os vegetais, algumas frutas como uva, maçã e mirtilo são extremamente ricas nestes compostos bioativos. No caso das uvas, eles se encontram principalmente nas cascas, sementes e caules (Rodríguez *et al.*, 2006; Poudel *et al.*, 2008). O bagaço de uva é especialmente rico em polifenóis, sendo que os compostos mais encontrados são as antocianinas, catequinas, procianidinas, flavonóis, ácidos fenólicos e estilbenos (Rodríguez *et al.*, 2006; Makris *et al.*, 2007). A quantidade e variedade de compostos fenólicos presentes nas uvas depende da variedade de uva (Rockenbach *et al.*, 2011) bem como de outros fatores como a localização, clima, maturidade e processamento (Kennedy *et al.*, 2000; Shi *et al.*, 2003; Rodríguez *et al.*, 2006).

Em geral, os produtos orgânicos apresentam maiores teores de polifenóis, provavelmente em função das situações de estresse abiótico (estresse hídrico, radiação solar, supressão de nutrientes, etc.) ou biótico (pragas e doenças) aos quais são submetidos com maior frequência quando comparados aos alimentos convencionais. (Bennett & Wallsgrove, 1994; Barański *et al.*, 2006; Almuayrifi, 2013). Além disso também foram encontradas evidências de que a utilização de fertilizantes sintéticos (especialmente os ricos em N) podem provocar a diminuição da produção de polifenóis pelas plantas. Assim, acredita-se que quando cultivadas de forma orgânica, e portanto sem a utilização destes fertilizantes, as plantas apresentem maiores quantidades de antioxidantes (Stewart *et al.*, 2001; Brandt *et al.*, 2011; Almuayrifi, 2013).

Um estudo de metanálise baseado em 343 trabalhos que investigaram as diferenças entre as quantidades de antioxidantes em alimentos orgânicos e convencionais mostrou que, além de apresentarem dez vezes menos resíduos de pesticidas, os alimentos orgânicos apresentaram níveis superiores de ácidos fenólicos, flavanonas, estilbenos, flavonóis e antocianinas (Barański *et al.*, 2014). Em suco de uva, também já foi demonstrada a maior quantidade de compostos fenólicos totais e resveratrol em amostras de suco orgânico quando comparado ao suco de uva convencional (Dani *et al.*, 2007).

## **2.6. Metodologias para avaliação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante**

A complexidade e diversidade estrutural dos compostos fenólicos fazem com que a determinação quantitativa e qualitativa dos mesmos seja dificultada. Entretanto, uma série de métodos vem sendo utilizados para avaliar o teor destes compostos em extratos vegetais. Para a determinação do conteúdo de compostos fenólicos totais, o reagente mais utilizado é o Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965), metodologia que geralmente fornece dados relativamente exatos e específicos para o total de compostos fenólicos (Singleton & Rossi, 1965; Blainski *et al.*, 2013).

A capacidade antioxidante de extratos pode ser determinada *in vitro*, o que representa uma alternativa simples aos testes *in vivo*, que por sua vez são altamente complexos. Dentre as metodologias de determinação da atividade antioxidante *in vitro*, pode-se destacar os ensaios de determinação da capacidade de redução dos radicais DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS•• (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), os quais são radicais estáveis que apresentam coloração e têm sido amplamente empregados para a avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais. O DPPH• é

um ensaio colorimétrico no qual existe a mudança da cor púrpura para amarelo na presença de antioxidantes, a qual pode ser lida espectrofotometricamente a 517nm (Niki, 2010). Já o ensaio de ABTS<sup>•+</sup> envolve a oxidação inicial do 2,2-azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato] para um radical cátion intensamente colorido, o ABTS<sup>•+</sup>, que na presença de antioxidantes perde essa coloração. O ensaio de ABTS<sup>•+</sup> é muito utilizado para testar extratos de alimentos, já que o ABTS<sup>•+</sup> tem uma absorção máxima em 734 nm e a maioria dos extratos de alimentos são altamente coloridos, mas não absorvem luz a 734 nm (Re *et al.*, 1999; Carochó & Ferreira, 2013).

## **2.7. Cogumelos comestíveis**

Os fungos são organismos eucarióticos não fotossintetizantes, o que os diferencia das plantas. Em geral possuem parede celular composta por hexoses e hexoaminas, sendo que alguns possuem parede rica em quitina e outros possuem complexos polissacarídeos e proteínas (Boa, 2004; Rampinelli, 2009).

Os fungos terrestres, os mais conhecidos, são divididos em quatro classes, chamadas de Zigomicetos, Deuteromicetos, Ascomicetos e Basidiomicetos. Os cogumelos comestíveis estão incluídos nas classes Ascomicetos e Basidiomicetos e se reproduzem sexuadamente por meio de esporos ou assexuadamente através da multiplicação de seus fragmentos (Kavanagh, 2011).

Os cogumelos comestíveis e medicinais podem crescer em uma grande variedade de resíduos agrícolas. Os fungos podem utilizar estes substratos lignocelulósicos em função de sua capacidade de secretar enzimas lignocelulósicas como as celulases, hemicelulases, lacases e lignina peroxidases (Fu *et al.*, 1997).

Estima-se que existam cerca de 140.000 espécies de cogumelos conhecidas no mundo, dos quais 2.000 são descritas como comestíveis. No total, cerca de 25 espécies de cogumelos comestíveis são cultivadas comercialmente, sendo que os países asiáticos são responsáveis por 60% da produção mundial (Taveira & Novaes, 2007). Entre os mais conhecidos está incluso o gênero *Pleurotus* do qual fazem parte espécies como Shimeji (*P. ostreatus*), Cardoncello (*Pleurotus eryngii*), entre outras (Gonçalves *et al*, 2014).

Os fungos do gênero *Pleurotus* possuem um corpo de frutificação com estirpe ligada ao píleo, o qual se abre para cima, lembrando o formato de uma ostra, e por isso são popularmente conhecidos como “cogumelos-ostra” (Putzke & Putzke, 2004). No Brasil, existem pelo menos 15 espécies de *Pleurotus* documentadas. Entre elas, o cogumelo *Pleurotus albidus* (Figura 3) é reconhecido como um das espécies nativas do Brasil com crescimento nos estados do Rio Grande do Sul, Amapá e Amazonas (Putzke, 2002). É conhecida por apresentar grande rendimento e, por isso, possui potencial para o cultivo industrial. Entretanto, por se tratar de uma espécie pouco conhecida e pouco explorada comercialmente, existem poucos estudos realizados com *P. albidus* (Lechner & Albertó, 2011).



**Figura 3 - Cogumelos da espécie *Pleurotus albidus***

Segundo dados da Embrapa, cada brasileiro ingere cerca 160g de cogumelos por ano, apresentando-se bastante inferior a outros países como Itália (1,3kg *per capita*/ano) França (2kg *per capita*/ano) e Alemanha (4kg *per capita*/ano). Já em países orientais,

aonde a utilização de cogumelos na alimentação é bastante tradicional, o consumo chega a 8kg *per capita*/ano (Diniz, 2013).

Os cogumelos representam uma fonte rica em proteínas e carboidratos, com baixo teor de gorduras, sendo ainda fontes de fibra alimentar, vitaminas e minerais. Estudos já demonstraram que os cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus*, em geral, apresentam todos ou quase todos os aminoácidos essenciais (Sturion & Oetterer, 1995; Ranzani & Sturion, 1998; Furlani & Godoy, 2005).

O componente principal dos cogumelos é a água, podendo representar de 73% a 94% do peso dos cogumelos *in natura* (Furlani & Godoy, 2005). Os carboidratos são o segundo elemento mais abundante, e os lipídeos, por sua vez, aparecem em pequenas quantidades, sendo que a maior parte consiste em ácidos graxos insaturados (Bernaś *et al*, 2006; Ribeiro *et al*, 2009). A quantidade de fibras pode variar de acordo com a espécie, mas também sofre influência significativa do meio em que os cogumelos são cultivados (Furlani & Godoy, 2005; Michael *et al.*, 2011; Paz *et al.*, 2012). Na Tabela 3 são demonstrados os teores de macronutrientes e fibras encontrados em espécies de cogumelos *Pleurotus ssp.* cultivados em diferentes substratos.

Quanto aos micronutrientes, é possível perceber que podem existir grandes diferenças entre as quantidades de vitaminas e minerais encontrados nos cogumelos. Além da diferença entre espécies, esta discrepância também pode ser atribuída ao tipo de substrato, grau de maturação, armazenamento e conservação (Furlani & Godoy, 2005). No que se refere às vitaminas, os cogumelos não podem ser considerados ricos nestes microelementos, entretanto são descritos como fontes de vitamina B1, B2, niacina, biotina e vitamina C e D (Furlani & Godoy, 2005, Bernaś *et al*, 2006, Koyyalamudi *et al.*, 2009). Alguns estudos que avaliaram quantidades de vitaminas presentes em cogumelos *Pleurotus ssp*, têm seus resultados apresentados na Tabela 4.

**Tabela 3 - Quantificação de macronutrientes e fibras em cogumelos do gênero *Pleurotus* ssp.**

Espécie	Origem	Proteína (%)*	Carboidrato (%)*	Lípido (%)	Fibra (%)	Referência
<i>P. pulmonarius</i>	Produzido em grãos de arroz com casca	27,08	8,08	3,75	8,15	Adebayo <i>et al.</i> (2014)
<i>P. cornucopiae</i>	Produzido em grãos de arroz com casca	34,01	9,67	2,01	8,71	Adebayo <i>et al.</i> (2014)
<i>P. sapidus</i>	Produzido em grãos de arroz com casca	17,77	9,21	3,10	6,95	Adebayo <i>et al.</i> (2014)
<i>P. ostreatus roseus</i>	Comercial	27,0	16,0	3,2	46,0	De Pauli, (2010)
<i>P. florida</i>	Produzido em palha de trigo	33,83	32,53	1,82	11,04	Michael <i>et al.</i> (2011)
	Produzido em palha de feijão	35,29	30,66	2,39	11,78	Michael <i>et al.</i> (2011)
<i>P. sajor-caju</i>	Comercial	14,8	31,4	2,0	45,6	De Pauli, (2010)
	Produzido em palha de feijão	16,30	53,62	3,26	16,55	Da Paz <i>et al.</i> (2012)
	Produzido em bagaço de maçã	24,44	49,80	3,84	10,58	Da Paz <i>et al.</i> (2012)
	Produzido em bagaço de uva	27,83	35,59	3,12	19,60	Da Paz <i>et al.</i> (2012)
	Produzido em palha de trigo	35,88	29,68	1,89	12,86	Michael <i>et al.</i> (2011)
	Produzido em palha de feijão	37,63	31,29	2,55	9,33	Michael <i>et al.</i> (2011)
	Palha de banana	18,4	43,00	5,26	7,60	Bonatti <i>et al.</i> (2004)
	Palha de arroz	13,0	42,8	4,99	9,60	Bonatti <i>et al.</i> (2004)
	<i>P. osteratus</i>	Produzido em grãos de arroz com casca	21,52	5,89	2,77	7,67
Comercial		22,22	65,82	4,30	39,62	Furlani, Godoy, (2007)
Coletado em meio natural		16,96	62,27	3,21	n.a.	Akata <i>et al.</i> (2012)
Comercial		24,8	23,4	3,4	41,0	De Pauli, (2010)
Produzido em palha de banana		16,9	47,0	5,97	9,41	Bonatti <i>et al.</i> (2004)
Produzido em palha de arroz		13,1	47,6	6,32	9,86	Bonatti <i>et al.</i> (2004)
Produzido em palha de trigo		30,04	32,33	1,74	13,29	Michael <i>et al.</i> (2011)
Produzido em palha de feijão		31,79	30,47	1,61	10,91	Michael <i>et al.</i> (2011)

\*Quantidades referentes à base seca dos cogumelos

n.a.: não avaliado.

**Tabela 4- Quantificação de vitaminas em cogumelos do gênero *Pleurotus ssp***

Espécie	Origem	Vitamina (mg/100g em base seca)					Autor
		B1	B2	B3	B6	C	
<i>P. ostreatus roseus</i>	Comercial	0,35	0,56	18,60	0,08	n.a.	De Pauli, (2010)
<i>P. sajor-caju</i>	Comercial	0,12	0,19	n.a.	0,02	n.a.	De Pauli, (2010)
<i>P. ostreatus</i>	Comercial	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	6,50	Prado <i>et al.</i> (2007)
	Comercial	0,48	0,41	0,24	31,90	n.a.	De Pauli, (2010)

\*Quantidades referentes à base seca dos cogumelos  
n.a.: não avaliado.

Em geral, muitos cogumelos podem ser considerados fontes de potássio (K), cobre (Cu) e fósforo (P), e possuem baixo teor de sódio (Na). Assim, por serem fonte de K sem Na, poderiam ser indicados para realçar o sabor de alimentos para pacientes com restrição ao consumo de Na (Sturion & Ranzani, 2000). Na Tabela 5 é apresentada a quantificação de alguns minerais encontrados em cogumelos *Pleurotus ssp*.

Os cogumelos possuem, em geral, quantidades de antioxidantes semelhantes ao dos vegetais. Os compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonoides) são os principais compostos antioxidantes encontrados, seguidos pelo tocoferol, ácido ascórbico e carotenoides (Ferreira *et al.*, 2009).

Os cogumelos vêm sendo utilizados ao longo da história em terapias tradicionais orientais, sendo cada vez mais explorados no tratamento de uma série de doenças (Lindequist *et al.*, 2005; Guillamón *et al.*, 2010). Diversos estudos *in vitro* realizados com várias espécies de cogumelos demonstraram atividade antioxidante, sugerindo que estes poderiam ser utilizados como fonte natural de antioxidantes ou ainda como suplemento alimentar ou na indústria farmacêutica. Na maioria dos casos, a atividade antioxidante é atribuída, principalmente, à presença de compostos fenólicos (Elmastas *et al.*, 2007; Ferreira *et al.*, 2009; Preeti *et al.*, 2012; Adebayo *et al.*, 2014; Silva & Jorge, 2014; Woldegiorgis *et al.*, 2014)

**Tabela 5- Quantificação de minerais em cogumelos do gênero *Pleurotus* ssp.**

Espécie	Produção	Mineral (mg/kg)							Autor
		Zn	P	K	Mg	Fe	Na	Ca	
<i>P. pulmonarius</i>	Em grãos de arroz com casca	10,36	86,67	69,56	56,91	8,06	74,71	56,91	Adebayo <i>et al.</i> (2014)
<i>P. eryngyii</i>	Em serragem de eucalipto, fibra de arroz e de trigo	99,00	n.a.	17540,0	3480,00	102,00	65,00	59,00	Gonçalves <i>et al.</i> (2014)
<i>P. cornucopiae</i>	Em grãos de arroz com casca	11,31	151,31	120,00	96,37	6,04	68,36	81,16	Adebayo <i>et al.</i> (2014)
<i>P. sapidus</i>	Em grãos de arroz com casca	8,91	96,93	93,31	89,61	6,71	89,93	55,99	Adebayo <i>et al.</i> (2014)
<i>P. ostreatus roseus</i>	Comercial	114,00	7084,00	15,01	1,19	85,00	28,00	94,00	De Pauli, (2010)
<i>P. florida</i>	Em palha de trigo	65,98	1536,00	n.a.	n.a.	556,00	n.a.	n.a.	Michael <i>et al.</i> (2011)
	Em palha de feijão	54,61	1389,00	n.a.	n.a.	564,00	n.a.	n.a.	Michael <i>et al.</i> (2011)
<i>P. sajor-caju</i>	Comercial	55,00	7070,00	18,64	1,08	73,00	130,00	49,00	De Pauli, (2010)
	Em palha de trigo	55,16	1490,00	n.a.	n.a.	566,00	n.a.	n.a.	Michael <i>et al.</i> (2011)
	Em palha de feijão	63,33	1443,00	n.a.	n.a.	556,00	n.a.	n.a.	Michael <i>et al.</i> (2011)
<i>P. ostreatus</i>	Em grãos de arroz com casca	12,41	105,51	110,56	103,21	8,41	76,06	60,71	Adebayo <i>et al.</i> (2014)
	Comercial	n.a.	1090,00	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	Prado <i>et al.</i> (2007)
	Comercial	84,00	10580,0	30,64	1,28	93,00	55,00	72,00	De Pauli, (2010)
	Em palha de trigo	62,80	1239,00	n.a.	n.a.	502,00	n.a.	n.a.	Michael <i>et al.</i> (2011)
	Em palha de feijão	55,65	1355,00	n.a.	n.a.	486,00	n.a.	n.a.	Michael <i>et al.</i> (2011)
	Em serragem de eucalipto, fibra de arroz e de trigo	65,00	n.a.	24580,0	2410,00	76,00	50,00	n.a.	Gonçalves <i>et al.</i> (2014)

n.a.: não avaliado

Os cogumelos comestíveis podem ser encontrados naturalmente em florestas temperadas, tropicais e subtropicais, porém as espécies do gênero *Pleurotus* ssp. são bastante versáteis para o cultivo artificial e de forma relativamente simples, especialmente em resíduos agrícolas (Zadrazil & Kurtzman, 1982, Philippoussis, 2009, Lechner & Albertó, 2011). Estudos têm sido feitos para avaliar diferentes substratos para o cultivo de cogumelos, como palha de arroz e milho (Ragunathan *et al.*, 1996), bagaço de cana de açúcar (Ragunathan *et al.*, 1996), polpa de côco, folhas de avelã, tília e álamo (Yildiz *et al.*, 2002), cascas de semente de girassol, borra de café (Philippoussis, 2009), além do bagaço de uva (Pardo *et al.*, 2007), entre outros (Ragunathan & Swaminathan, 2003; Lechner & Albertó, 2011).

Embora a literatura já disponha de uma série de estudos onde foram utilizados cascas, sementes, folhas ou engaço de uvas na elaboração de produtos alimentícios e no cultivo de cogumelos, a maior parte destes estudos fizeram uso de resíduos de vinificação de uvas de cultivo convencional e não da produção de suco de uva orgânico (Özvural & Vural, 2011; Ross *et al.*, 2011; Rosales Soto *et al.*, 2012; Tseng & Zhao, 2013; Walker *et al.*, 2014).

Desta forma, são relevantes pesquisas a respeito da utilização de resíduos da elaboração de suco de uva, e que portanto não passaram pela fermentação que ocorre com os resíduos de uvas utilizadas na elaboração de vinhos. Além disso, a utilização de resíduos provenientes do sistema orgânico possui a vantagem de não apresentarem possíveis resíduos de agrotóxicos presentes nas uvas de cultivo convencional (Cabras & Angioni, 2000; Čuš, 2010).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

Analisar a possibilidade de utilização dos resíduos da produção do suco de uva orgânico para elaboração de farinha alimentícia antioxidante e para o cultivo de cogumelos comestíveis.

#### 3.2. Objetivos específicos

- Caracterizar os resíduos mais representativos obtidos na indústria de produção de suco da uva (espécie *V. labrusca L.* variedades Isabel e Bordô) da região nordeste do Rio Grande do Sul, quanto à sua composição (cascas, sementes e caules).

- Avaliar o teor de polifenóis totais e capacidade antioxidante destes resíduos.

- Elaborar uma farinha utilizando resíduos da produção de suco de uva orgânico.

- Caracterizar a farinha elaborada quanto ao seu teor de polifenóis, atividade antioxidante, e análises físico químicas e microbiológicas.

- Avaliar a estabilidade térmica desta farinha em diferentes temperaturas (ambiente, 100°C, 150°C e 180°C) e em diferentes tempos.

- Avaliar a produtividade, eficiência biológica e rendimento da produção de cogumelos comestíveis de *P. albidus* cultivados em serragem de *Pinus* sp. bagaço e engaço de *V. labrusca L.*, isoladamente e em combinações;

- Avaliar o teor de polifenóis totais e a capacidade antioxidante de *P. albidus* cultivados em serragem de *Pinus* sp. bagaço e engaço de *V. labrusca L.*

#### 4. RESULTADOS

Os resultados desta dissertação estão apresentados na forma de dois artigos científicos intitulados “**Organic grape juice pomace as raw material for the development of an antioxidant edible flour**” e “**Enrichment in phenolic content and antioxidant activity of the edible mushroom *Pleurotus albidus***” os quais serão submetidos à publicação pela Revista Latinoamericana Ambiente e Saúde.

**Artigo 1 – Organic grape juice pomace as raw material for development of an antioxidant edible flour**

**Farinha de Casca de Uva**

**Organic grape juice pomace as raw material for development of an antioxidant edible flour**

**Farinha de bagaço de uva orgânica como matéria prima para o desenvolvimento de uma farinha comestível antioxidante.**

2015

Bruna M. POSTINGHER<sup>1</sup>

Kelly TODESCATTO<sup>1</sup>

Roselei C. FONTANA<sup>2</sup>

Tiago S. RODRIGUES<sup>1</sup>

Aldo J. P. DILLON<sup>2</sup>

Mirian SALVADOR<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes. Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul – UCS.

<sup>2</sup> Universidade de Caxias do Sul – UCS. Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul – UCS.

\* **Correspondence to:** Mirian Salvador. Campus Sede, Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, 95070-560, Caxias do Sul, RS, Brasil. **Phone:** 55 (54) 3218 21 05 **e-mail:** [msalvado@ucs.br](mailto:msalvado@ucs.br).

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi elaborar e caracterizar (parâmetros antioxidantes, físico-químicos e microbiológicos, e estabilidade térmica) de uma farinha antioxidante obtida a partir de bagaço proveniente da elaboração de suco de uva orgânico. Para tanto, amostras de bagaço de uva orgânica da espécie *Vitis labrusca L.* (variedades Isabel e Bordô) foram utilizadas no estudo. Foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas da farinha. Para caracterizar a estabilidade térmica, a farinha foi submetida a diferentes tempos de aquecimento e os níveis de compostos fenólicos foram determinados. O conteúdo fenólico total foi quantificado pelo método de Folin-Ciocalteu e a capacidade antioxidante foi avaliada pela capacidade de varredura dos radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil livre (DPPH •) e 2,2'-azinobis- (3- etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS •+). A amostra de bagaço da variedade Bordô sem sementes apresentou o maior teor de compostos fenólicos e foi escolhida para elaborar a farinha antioxidante. Esta farinha apresentou um importante conteúdo fenólico (133,05mg GAE/g), alta concentração de fibras (47,21g/100g) e baixo teor de gorduras (7,37g/100g). Seus parâmetros microbiológicos foram adequados à segurança alimentar. A avaliação da estabilidade térmica mostrou que o aquecimento a 150°C durante 20 minutos não afetou o conteúdo fenólico total. Aquecimento a temperaturas e tempos mais elevados provocou de 30% a 65% de diminuição do conteúdo fenólico total. A farinha obtida a partir de bagaço de uva proveniente a elaboração suco orgânico mostrou um teor de compostos fenólicos importante e elevado poder antioxidante, provando ser uma alternativa para aumentar o valor nutricional dos alimentos.

**Termos de indexação:** bagaço de uva, farinha antioxidante, atividade antioxidante, conteúdo fenólico.

## ABSTRACT

The aim of this study was to elaborate and characterize (antioxidant, physicochemical and microbiological parameters, and thermal stability) an edible antioxidant flour obtained from organic grape juice pomace. Organic grape pomace from *Vitis labrusca L.* (Isabel and Bordô varieties) was used in the study. Physicochemical and microbiological analysis of the flour were performed. To characterize the thermal stability, the flour was submitted to different heating times and the levels of phenolic compounds were determined. The total phenolic content (TPC) was quantified by the Folin-Ciocalteu method, and the antioxidant capacity was evaluated by the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>) and 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS<sup>•+</sup>) scavenger capacities. The deseeded Bordô variety pomace presented the highest content of phenolic compounds and was chosen to elaborate the antioxidant edible flour. This flour showed an important phenolic content (133.05mgGAE/g), high fiber concentration (47.21g/100g) and low fats content (7.37g/100g). Its microbiological parameters were adequate to food safety. The thermal stability evaluation showed that heating at 150°C during 20 minutes did not affect the total phenolic content. Heating using higher temperatures or times decreased total phenolic content in a range from 30% to 65%. The flour obtained from organic grape juice pomace showed an important phenolic content and antioxidant power, proving to be an alternative to enhance the nutritional value of foods by use of an organic flour.

**Indexing terms:** grape pomace, antioxidant flour, antioxidant activity, phenolic content.

## INTRODUCTION

The Rio Grande do Sul is the main producer of grape juice in Brazil. Grape juices are produced mainly from *Vitis labrusca L.* Isabel and Bordô varieties. According to the Brazilian Wine Institute (Ibravin), Rio Grande do Sul produced approximately 33,000 liters of integral grape juice in 2013 (MARZAROTTO, 2005; MELLO, 2014), but official data about organic grape juice production are not available. Juice elaboration results in high amounts of waste, composed mostly by stems (which form the structure of the grape bunch) and pomace (basically composed by skins and seeds). The amount of residues obtained during the grape juice processing may represent 20 to 30% of the initial grape weight (PROZIL; EVTUGUIN; LOPES, 2012; YU; AHMEDNA, 2013). Currently, part of this waste is used to produce grappa (distilled alcoholic beverage), as an ingredient for animal feed, as fuel for boilers, to grape seed oil extraction or as fertilizer. However, part of this waste is being discarded in the nature, which may cause environmental contamination (ARVANITTOYANNIS; LADAS; MAVROMATIS, 2006; PIRRA, 2005).

It has been shown that grape pomace is rich in fiber and phenolic compounds which turn it into a high value added products, contributing to both human health and food preservation (LLOBERA; CAÑELLAS, 2007; TEIXEIRA et al., 2014). In fact, the utilization of grape pomace from the wine production to nutritionally enrich several types of food preparation, such as cookies (PIOVESANA; BUENO; KLAJN, 2013), cereal bars (BALESTRO; SANDRI; FONTANA, 2011), breakfast cereal (OLIVEIRA et al., 2013), bread (HAYTA et al., 2014; MILDNER-SZKUDLARZ et al., 2011), muffins (WALKER, 2013), ice cream (ISHIMOTO et al., 2007), yogurt and salad dressing (TSENG; ZHAO, 2013) is already established, but studies evaluating organic grape juice production residues are not known.

Food processing may include actions that cause temperature increase. In these conditions, many bioactive compounds can be changed, and may result in losses of its biological activity (YU; AHMEDNA, 2013). Thus, it is important to know the heating effects in the phenolic compounds present in food.

Therefore, this study aims to elaborate and to characterize an antioxidant flour obtained from organic grape juice pomace, studying its phenolic content, physicochemical and microbiological profile, and its thermal stability.

## METHODS

### Characterization of the organic grape pomace

The organic grape pomace was donated by organic grape juice companies located in Caxias do Sul and Garibaldi, Rio Grande do Sul, Brazil. Samples were collected immediately after the grapes pressing for juice production and were classified as “integral” when composed by the whole pomace or “deseeded”, when originated by the process of a company that performs the separation of seeds by sieving to grape seed oil extraction. Four *V. labrusca L.* samples were collected, two of them being Isabel variety (named I1 and I2) and two of Bordô variety (named B1 and B2). All the samples were dried in an oven with air circulation at 70°C until reaching 10% moisture and stored in the dark. The pomace samples were characterized according to their composition in skins, seeds and stalks.

### Total phenolic content and antioxidant capacity determination of organic grape pomace (raw and flour)

Aqueous extracts from organic grape pomace and flour were obtained by decoction at 10% (w/v) during 15 minutes. Extracts were immediately used to evaluate total phenolic content and the antioxidant capacity. The total phenolic content was performed following the colorimetric method Folin–Ciocalteu with modifications (SINGLETON; ROSSI, 1965). Briefly, 200 µL of each sample was mixed with 800 µL of sodium carbonate (7.5%) and 1000 µL of Folin–Ciocalteu reagent (1 M). After 30 min in the dark, the absorbance was measured at 765 nm in a spectrophotometer (UV-1700 spectrophotometer, Shimadzu, Kyoto, Japan). Phenolic content was expressed as mg of gallic acid equivalents per gram (mg GAE/g). For the antioxidant determination, it was used the DPPH<sup>•</sup> (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) radicals reduction assays. The DPPH<sup>•</sup> assay was performed using a modified method of Yamaguchi (1998). Briefly, each sample was diluted to different concentrations (0.1%, 0.5%, 1.0% and 5.0%) and added to Tris-HCl buffer (100 mM, pH 7.0) containing 250 µmol of DPPH<sup>•</sup> dissolved in ethanol. The tubes were stored in the dark for 20 min and then the absorbance was measured at 517 nm. (YAMAGUCHI et al., 1998). The results were expressed as IC<sub>50</sub> (mg mL<sup>-1</sup> needed to scavenge 50% of the radical DPPH<sup>•</sup>). The capacity of the extract to reduce ABTS<sup>•+</sup> radical

cation was determined following a previously published method, with modifications (RE et al., 1999). First, the ABTS<sup>•+</sup> radical cation was generated by reacting an aqueous solution of ABTS<sup>•+</sup> (7mM) with a potassium persulfate solution (140 mM). This solution was kept in the dark at room temperature for 12–16 h before use. Then, the ABTS<sup>•+</sup> solution was diluted with ethanol (99.5%) to an absorbance of  $0.70 \pm 0.02$  at 734 nm. Then, 3.0 mL of diluted ABTS<sup>•+</sup> solution was added to 30  $\mu$ L of the different concentrations of the samples (0.1%, 0.5%, 0.75% and 1.0%) and the absorbance was read 6 min after mixing. Results were expressed as IC<sub>50</sub> (mg/mL needed to scavenge 50% of the radical ABTS<sup>•+</sup>).

### **Elaboration and characterization of the antioxidant edible flour**

The sample that showed the higher phenolic content and the better antioxidant activity (B2) was used to prepare a flour. The pomace was milled in a mill with 0.3mm sieve (Vieira MCS 280) to a very fine grinding, and assayed to both physicochemical and microbiological characterization, phenolic content and antioxidant activity. It was performed the macronutrients determination (AOAC, 2012a, 2012b; BRASIL, 2003a; LUTZ, 2008), peroxide value (ANIMAL, 2005), moisture and volatile substances at 105°C (ANIMAL, 2005) and total fiber (AOAC, 2012a). Microbiological assays included *Bacillus cereus* count, total count of aerobic mesophilic viable microorganisms, MPN of coliforms at 45°C and *Salmonella* spp. (BRASIL, 2003b). Total phenolic content and antioxidant activity were performed as described above.

### **Flour thermal stability analysis**

Grape pomace flour (GPF) (6g) was placed in a single layer in a Pyrex Petri dish (8 cm diameter) left at room temperature and then heated at 100°C, 150°C and 180°C for 20, 40 and 60 minutes, in an oven (*DeLeo*, model 48 TLK, Brazil). After heat treatment, flours were naturally cooled and stored at room temperature inside a desiccator until total phenolic compounds and antioxidant activity determination.

### **Statistical Analysis**

Results were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD) from at least three independent experiments. The results were determined to be parametrical by using the Kolmogorov-Smirnoff test. Data were subjected to the analysis of variance (ANOVA)

and Tukey's post hoc. The software SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) was used for all statistical analysis.

## RESULTS

Our study was conducted with three integral pomace samples, and one of them obtained from a company that processes the grape seeds for vegetal oil extraction, thus this pomace had only a residual amount of seeds, and was classified as "deseeded". On the other hand, the integral pomace presented a great percentual of seeds. The deseeded sample showed a higher content of skins (Table 1).

**Table 1 – Characterization of *V. labrusca* L. organic grape pomace**

Code	Company	Variety	Type	City	Stalks (%)	Skins (%)	Seeds (%)
I1	1	Isabel	Integral	Garibaldi	1.85±1.53 <sup>d</sup>	24.35±3.64 <sup>c</sup>	73.79±5.16 <sup>a</sup>
I2	2	Isabel	Integral	Caxias do Sul	14.34±0.65 <sup>b</sup>	32.32±1.02 <sup>b</sup>	53.33±0.42 <sup>b</sup>
B1	2	Bordô	Integral	Caxias do Sul	20.13±1.09 <sup>a</sup>	29.18±1.16 <sup>b,c</sup>	50.68±1.03 <sup>b</sup>
B2	3	Bordô	Deseeded	Garibaldi	8.47±0.98 <sup>c</sup>	91.22±1.13 <sup>a</sup>	0.30±0.17 <sup>c</sup>

Data are expressed as mean ± SD. Different superscript letters indicate significant differences with P <0.05 by Tukey test.

The greatest total phenolic content was found in the deseeded sample B2. **Both Bordô pomace varieties (B1 and B2) presented higher phenolic content than those observed in Isabel pomace varieties (I1 and I2).** The samples of Isabel variety did not differ from each other in any of the evaluated parameters. Superior antioxidant activity was noticed in Bordo samples in both assays used (Table 2).

**Table 2 - Total phenolic content and antioxidant capacity of the organic grape pomace**

Sample	Total phenolics (mg GAE/g)	DPPH* (IC <sub>50</sub> mg/ml <sup>-1</sup> )	ABTS* <sup>+</sup> (IC <sub>50</sub> mg/ml <sup>-1</sup> )
I1	80.17±1.02 <sup>c</sup>	0.704±0.00 <sup>b</sup>	1.14±0.00 <sup>c</sup>
I2	82.31±1.13 <sup>c</sup>	0.631±0.03 <sup>b</sup>	1.09±0.00 <sup>c</sup>
B1	101.17±0.86 <sup>b</sup>	0.515±0.02 <sup>a</sup>	0.73±0.02 <sup>a</sup>
B2	122.39±4.24 <sup>a</sup>	0.463±0.01 <sup>a</sup>	0.85±0.00 <sup>b</sup>

IC<sub>50</sub>: mg/mL<sup>-1</sup> of pomace (dry weight) needed to scavenge 50% of DPPH\* or ABTS\*<sup>+</sup> radicals. I: Isabel 1 and 2 samples; B: Bordô 1 and 2 samples. Data are expressed as mean ± SD. Different superscript letters indicate significant differences with P <0.05 by Tukey test.

Considering the high phenolic content presented, B2 pomace was chosen for the development of an antioxidant flour. This flour showed 133.05 mg GAE/g of total phenolics and IC<sub>50</sub> of 0.68mg/mL<sup>-1</sup> and 0.40 mg/mL<sup>-1</sup> on ABTS<sup>•+</sup> and DPPH<sup>•</sup> assays respectively. The physicochemical and microbiological analysis of the flour (Table 3) show that the flour is low in calories, fat and carbohydrates, being composed by high amount of fibers. According to Brazilian health ministry (Anvisa), the parameters are adequate to food safety, indicating that the flour is suitable to food development (BRASIL, 2001, 2005).

**Table 3 – Physicochemical and microbiological analysis of flour obtained from organic grape pomace**

Assays	Results
Caloric value	190.33 Kcal/100g
Carbohydrates	21.62 g/100g
Protein	9.38 g/100g
Total fat	7.37 g/100g
Total fiber	47.21 g/100g
Ash content	3.62 g/100g
Moisture and volatile substances at 105°C	10.80 g/100g
Sodium	8.52mg/100g
Peroxid value	< 1.00 meq/1000g
Saponification value	154.37 mg KOH/g
MPN of coliforms at 45°C	< 3.00 MPN/g
Search of <i>Salmonella</i> ssp.	Absent in 25 g
<i>Bacillus cereus</i> count	< 1.0 × 10 <sup>2</sup> CFU/g

CFU: colony-formation unit; MPN: most probable number.

Since one of the uses of grape pomace flours is on nutritional enrichment of bakery products such as cookies, breads and cakes, different temperatures and times were used to test its effects on the phenolic content and antioxidant activity of the flour. Heating the flour at 150° C for 20 min did not caused statistical change on the total phenolic content showing the potential of the flour to be used in bakery foods. The samples submitted at 150° C during 40 and 60 min had a decrease around 30% and 50%, respectively, on phenolics level. The higher loss was observed at 180° C (Table 4).

**Table 4- Heating time and temperature effects on total phenolic compounds (mg GAE/g) of the flour obtained from organic grape pomace**

Temperature	Heating time	Total Phenolics (mg GAE/g)
<b>Room temperature</b>	20 minutes	135.84±2,59 <sup>a,b</sup>
	40 minutes	129.9±6,43 <sup>b,c</sup>
	60 minutes	133.4±4,09 <sup>a,b</sup>
<b>100 °C</b>	20 minutes	135.12±7,08 <sup>a,b</sup>
	40 minutes	144.29±3,10 <sup>a</sup>
	60 minutes	126.18±3,17 <sup>b,c</sup>
<b>150 °C</b>	20 minutes	125.95±4,45 <sup>b,c</sup>
	40 minutes	92.12±2,71 <sup>d</sup>
	60 minutes	64.29±0,77 <sup>e</sup>
<b>180 °C</b>	20 minutes	73.79±4,67 <sup>e</sup>
	40 minutes	43.95±1,39 <sup>f</sup>
	60 minutes	46.45±1,55 <sup>f</sup>

Data are expressed as mean ± SD. Different letters in columns indicate significance with P <0.05 by Tukey test.

### Discussion

Previous studies from our group (SCOLA et al., 2011) and others (LESTER; SAFTNER, 2011; YU; AHMEDNA, 2013) showed that grape wastes samples are rich in phenolic compounds, which are recognized as important antioxidants. The antioxidant compounds may contribute positively to human health, especially when they come from organic grapes which and do not present pesticide residues.

In this study four samples of organic grape juice pomace from Bordô and Isabel varieties were evaluated, which were used to grape juice production in Brazil (MELLO; MACHADO, 2013). There is no official data available, but according to information provided by the companies, these three industries are responsible for the production of more than 70% of all organic grape juice made in the region. Three pomace samples were classified as integral, since they present skins, seeds and stalks. The other one was deseeded and presented minimal amounts of stalks and seeds. It was observed a significant difference in the composition (percentage of skins, seeds and stalks) of these pomace, probably due to differences such as the grape variety, cropping system and production process.

Samples from Bordô variety presented higher phenolic content than Isabel variety, supporting results observed by our previous studies (SCOLA et al., 2010, 2011) and other studies (ROCKENBACH et al., 2011). The values obtained for Bordô variety samples (101.17 and 122.39 mg GAE/g for B1 and B2 samples respectively) are higher than those obtained by Rockenbach (2011) for Bordô winemaking wastes (63.31 mg GAE/g.) During vinification, grape pomace remained in contact with wine in fermentation process allowing the extraction of some phenolic compounds present in skins and seeds, increasing the amount of polyphenols in wine and decreasing the amount in the pomace. In the case of grape juice, fermentation does not occur, resulting in increased total phenolic content in the pomace.

As already shown, grape pomace from Isabel and Bordô varieties are rich in catechin, epicatechin, epigallocatechin, procyanidins (B1, B2, B3 and B4) and gallic acid (SCOLA et al., 2010), which antioxidant activity is related to the prevention of several health problems such as cardiovascular diseases, cancers, diseases related to aging, among others (XIA et al., 2010).

Bordô deseeded pomace was chosen to elaborate an edible flour, which presented high phenolic content (133.05 mg GAE/g). This value is higher than that found for whole oat flour (0.82 mg/g) and wheat whole flour (0.90 mg/g) (NEVEU et al., 2009). Besides, our antioxidant flour presented physicochemical values similar to other studies that investigated flours made with wastes from several grape varieties (IORA et al., 2014; LLOBERA; CAÑELLAS, 2007; YI et al., 2009). When compared to other foods known as fiber fonts, our flour fiber content (47.21%) is higher than observed on oat flakes (9.1%), almonds (11.6%), sesame seeds (11.9%), rye flour (15.5%) and linseeds (33.5%). However, considering the carbohydrates amount found at the flour obtained at this study (21.62 g/100g), this is lower than observed in the other flours, like oat flakes (66.6 g/100g), wheat flour (75.1g/100g), rye flour (73.3 g/100g) and linseeds (43,3 g/100g) (TACO, 2011).

In several food preparation, thermal processing is used to cook and bake, although this method of food processing may cause thermal degradation of the phenolic compounds present in food (KIM et al., 2006). Thus, it is important to know the best time and temperature combination to minimize the thermal degradation of the antioxidants. Heating our flour at 150° C for 20 min did not change its total phenolic content, showing the potential of the flour to be used in bakery foods.

## Conclusion

Organic grape juice pomace is a suitable raw material for the development of an antioxidant flour, due to the important phenolic content and antioxidant power. Therefore, it can be considered an environmentally friendly and rich in nutrients alternative to enhance the nutritional value of foods. Even after submitted to heating, the flour may also be regarded as an antioxidant food, being able to enhance the antioxidant and fiber contents of various preparations such as breads, cookies, pasta, and others.

## Acknowledgements

The researchers appreciate the assistance from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), and Universidade de Caxias do Sul as financial supporters, and special thanks to Econatura Produtos Ecológicos e Naturais, Vinícola Nova Aliança and Cooperativa Vinícola Garibaldi as providers of the winery wastes.

## References

ANIMAL, C. B. D. A. **Métodos analíticos**. 2. ed. Sindirações, p.120-121 São Paulo: 2005.

AOAC. AOAC Official Method 991.43 -. **Association of Official Analysis Chemists International**, v. 19, 2012a.

AOAC. AOAC Official Method 2001.11. **Association of Official Analysis Chemists International**, v. 19, 2012b.

ARVANITTOYANNIS, I. S.; LADAS, D.; MAVROMATIS, A. Potential uses and applications of treated wine waste: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, n. 5, p. 475–487, maio 2006.

BALESTRO, E. A.; SANDRI, I. G.; FONTANA, R. C. Utilização de bagaço de uva com atividade antioxidante na formulação de barra de cereais. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 2, p. 203–209, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Diário Oficial União**, Brasília, DF, de 10 de janeiro de 2001, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. **Diário Oficial União**, Brasília, DF, de 26 de dezembro de 2003, 2003a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Defesa, Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. **Diário Oficial União**, Brasília, DF, de 18 de setembro de 2003, 2003b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. **Diário Oficial União**, Brasília, DF, de 23 de setembro de 2005, 2005.

HAYTA, M. et al. Effect of Grape (*Vitis Vinifera* L.) Pomace on the Quality, Total Phenolic Content and Anti-Radical Activity of Bread. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, n. 3, p. 980–986, 14 jun. 2014.

IORA, S. R. F. et al. Evaluation of the bioactive compounds and the antioxidant capacity of grape pomace. **International Journal of Food Science & Technology**, p. 1–8, maio 2014.

ISHIMOTO, E. et al. Bagaço de uva como ingrediente funcional: elaboração e caracterização de sorbet e picolé. **Nutrire**, v. 32, p. 126–126, out. 2007.

KIM, S. et al. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. **Food Chemistry**, v. 97, n. 3, p. 472–479, ago. 2006.

LESTER, G. E.; SAFTNER, R. A. Organically versus conventionally grown produce: common production inputs, nutritional quality, and nitrogen delivery between the two systems. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 19, p. 10401–6, 12 out. 2011.

LLOBERA, A.; CAÑELLAS, J. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 659–666, jan. 2007.

LUTZ, I. A. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos físicos e químicos para análise de alimentos. 4. ed. São Paulo, 2008.

MARZAROTTO, V. Suco de Uva. In: **Em: Venturini Filho, Waldemar Gastoni. Tecnologia de Bebidas**. Matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação, mercado. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. p. 311–327.

MELLO, L. M. R. DE; MACHADO, C. A. E. Área Cultivada com Videiras no Rio Grande do Sul, Documentos 87. Bento Gonçalves, **Embrapa Uva e Vinho**. Bento Gonçalves, 2013.

MELLO, L. M. R. Viticultura Brasileira: Panorama 2013. Comunicado Técnico 156, **Embrapa Uva e Vinho**. Bento Gonçalves, 2014.

MILDNER-SZKUDLARZ, S. et al. Use of grape by-product as a source of dietary fibre and phenolic compounds in sourdough mixed rye bread. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 7, p. 1485–1493, jul. 2011.

NEVEU, V. et al. Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. **Database : the journal of biological databases and curation**, v. 2010, p. 9, jan. 2009.

OLIVEIRA, D. M. et al. Sensory analysis and chemical characterization of cereal enriched with grape peel and seed flour. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 35, n. 3, p. 427–431, 21 jun. 2013.

PIOVESANA, A.; BUENO, M. M.; KLAJN, V. M. Elaboração e aceitabilidade de biscoitos enriquecidos com aveia e farinha de bagaço de uva. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 1, p. 68–72, mar. 2013.

PIRRA, A. J. D. **Estudos de tratabilidade aeróbia de efluentes vinícolas na Região Demarcada do Douro**. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro: Vila Real, Portugal 2005.

PROZIL, S. O.; EVTUGUIN, D. V.; LOPES, L. P. C. Chemical composition of grape stalks of *Vitis vinifera* L. from red grape pomaces. **Industrial Crops and Products**, v. 35, n. 1, p. 178–184, jan. 2012.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231–1237, maio 1999.

ROCKENBACH, I. I. et al. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 174–179, jul. 2011.

SCOLA, G. et al. Flavan-3-ol compounds from wine wastes with in vitro and in vivo antioxidant activity. **Nutrients**, v. 2, n. 10, p. 1048–59, out. 2010.

SCOLA, G. et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of winery wastes seeds of *Vitis labrusca*. **Ciência Rural**, v. 4, n. 7, p. 1233–1238, jul. 2011.

SINGLETON, V.; ROSSI, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

TACO. Tabela brasileira de composição de alimentos. **NEPA - Unicamp**, p. 161, 2011.

TEIXEIRA, A. et al. Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: a review. **International journal of molecular sciences**, v. 15, n. 9, p. 15638–78, jan. 2014.

TSENG, A.; ZHAO, Y. Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. **Food chemistry**, v. 138, n. 1, p. 356–65, maio 2013.

WALKER, R. M. **Feasibility of developing wine grape pomace fortified baked goods for health promotion**. Tese de doutorado (Baccalaureate of Science in Food Science and Technology) - Oregon State University, University Honors College, Oregon, Estados Unidos, 2013.

XIA, E.-Q. et al. Biological activities of polyphenols from grapes. **International journal of molecular sciences**, v. 11, n. 2, p. 622–46, jan. 2010.

YAMAGUCHI, T. et al. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging of foods by using 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 62, n. 6, p. 1201–1204, jun. 1998.

YI, C. et al. Fatty acid composition and phenolic antioxidants of winemaking pomace powder. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 570–576, 15 maio 2009.

YU, J.; AHMEDNA, M. Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, n. 2, p. 221–237, 1 fev. 2013.

**Artigo 2 – Enrichment in phenolic content and antioxidant activity of the edible mushroom *Pleurotus albidus***

**Cogumelos em bagaço de uva**

**Enrichment in phenolic content and antioxidant activity of the edible mushroom *Pleurotus albidus***

**Aumento no teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de cogumelos comestíveis *Pleurotus albidus***

2015

Bruna M. POSTINGHER<sup>1</sup>

Kelly TODESCATTO<sup>1</sup>

Roselei C. FONTANA<sup>2</sup>

Tiago S. RODRIGUES<sup>1</sup>

Aldo J. P. DILLON<sup>2</sup>

Mirian SALVADOR<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes. Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul – UCS.

<sup>2</sup> Universidade de Caxias do Sul – UCS. Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul – UCS.

\* **Correspondence to:** Mirian Salvador. Campus Sede, Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, 95070-560, Caxias do Sul, RS, Brasil. **Phone:** 55 (54) 3218 21 05 **e-mail:** [msalvado@ucs.br](mailto:msalvado@ucs.br).

## RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a possibilidade de aumentar a produção de corpos de frutificação, conteúdo fenólico e atividade antioxidante do cogumelo comestível *Pleurotus albidus* cultivado em resíduos da elaboração de uva orgânico (*Vitis labrusca* L.). Cogumelos da espécie *P. albidus* foram cultivados em sete compostos de cultivo contendo diferentes proporções de bagaço de uva, engaço de uva e serragem de *Pinus* sp. O conteúdo fenólico total foi quantificado utilizando o método de Folin-Ciocalteu e a capacidade antioxidante foi avaliada utilizando a capacidade de varredura do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil. A produção de corpos de frutificação foi medida através da avaliação da eficiência biológica, rendimento e produtividade. Os cogumelos cultivados em resíduos de suco de uva orgânico mostraram maior produção de todos os parâmetros avaliados, conteúdo de fenólicos totais (até 2,2 vezes maior) e capacidade antioxidante (até 3,9 vezes maior) do que a cultivada em serragem de *Pinus* sp. com resultados mais promissores observados em cogumelos uva cultivados em bagaço de uva. O cultivo de *P. albidus* em resíduos da produção de suco de uva aumenta a produtividade e promove o enriquecimento dos corpos de frutificação em relação aos compostos fenólicos e atividade antioxidante quando comparados àqueles cultivados em serragem de *Pinus* sp.

**Termos de indexação:** cogumelos comestíveis, resíduos suco de uva, atividade antioxidante, conteúdo fenólico

## **ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate the possibility to enhance fruit bodies production, phenolic content and antioxidant activity of the edible mushroom *Pleurotus albidus* cultivated on organic grape (*Vitis labrusca L.*) juice waste. *P. albidus* species was grown on seven cultivation composts containing different proportions of grape pomace, grape stalks and *Pinus* sp. sawdust. The total phenolic content was quantified using the Folin-Ciocalteu method, and the antioxidant capacity was evaluated using the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenger capacity. Fruit bodies production was measured through biological efficiency, yield and productivity evaluation. The mushrooms cultivated on organic grape juice waste showed higher production to all parameters evaluated, total phenolic content (until 2.2 times higher) and antioxidant capacity (until 3.9 times better) than that cultivated in *Pinus* sp. Sawdust, with the best results observed on grape mushrooms cultivated on grape pomace. The cultivation of *P. albidus* on wastes of grape juice production enhance the productivity and promotes the enrichment of the fruit bodies in phenolic compounds and antioxidant activity when compared to those cultivated on *Pinus sp* sawdust.

**Indexing terms:** edible mushrooms, grape juice wastes, antioxidant activity, phenolic content

## INTRODUCTION

Mushrooms, known for its uses in both food and medicine industries, have been valued for its tasty and nutritional aspects. They present higher protein content than vegetables, dietary fiber and essential amino acids with a low fat content (BARROS et al., 2008). Some mushroom species showed a significant antioxidant capacity, which is mainly related to its phenolic compounds (ELMASTAS et al., 2007; FERREIRA; BARROS; ABREU, 2009; MAU; LIN; CHEN, 2002). It is already known that the consumption of antioxidant foods provides protection against various pathologies, including cancer, and cardio- and cerebrovascular diseases (HALLIWELL, 2007).

*Pleurotus* genus, a group of edible mushrooms, present at least 15 documented species. Among them, *Pleurotus albidus* is a native specie with production in Brazil and other countries, such as Mexico and Argentina (PUTZKE, 2002).

Efficient cultivation methods for mushrooms are been studied to optimize their edible and medicinal characteristics, such as growing under different substracts and conditions (MAU; LIN; CHEN, 2002; PAZ et al., 2012). Southern Brazil (Serra Gaúcha) is the main brazilian grape producer, using both conventional and organic growing systems (ANDRADE, 2012; MELLO; MACHADO, 2013). Besides the consumption *in natura*, grapes are processed to the elaboration of derivates (basically wine and juice), which result in large amounts of waste (around 20-30% of the initial grape weight) (LALEVIC et al., 2013; PROZIL; EVTUGUIN; LOPES, 2012; YU; AHMEDNA, 2013). Although part of the residues are used to produce grappa (distilled alcoholic beverage), animal food, fuel for boilers or fertilizers, much of them are discarded in the nature, generating environmental contamination (ARVANITTOYANNIS; LADAS; MAVROMATIS, 2006; PIRRA, 2005).

An alternative application of waste from the production of wine and grape juice, is the utilization of these materials as substrates for the cultivation of edible mushrooms (VIEIRA; PAZ; GIOVANNI, 2007). In fact, the use of wine production wastes for mushrooms cultivation was already studied (VIEIRA; PAZ; GIOVANNI, 2007). Thus, this work had the objective to evaluate the possibility to enhance fruit bodies production, phenolic content, and antioxidant activity of mushrooms cultivated on organic grape juice wastes. These results can contribute to the rational use of grape juice waste along with a health-promoting use of *P. albidus*.

## Methods

### Grape juice waste

Organic grape juice waste from Bordô variety (*Vitis labrusca L.*) was originated in a company located at Serra Gaúcha, Brazil. Two types of waste were used, the first one called grape pomace (GP) composed by 91% of grape skins, 0.5 % of seeds and 8.5% of stalks, and the second one named stalks (GS), 100% of grape stalks. Wastes were collected immediately after the grapes processing, then dried in an oven with air circulation at 70°C until reaching 10% moisture and stored to further mushroom cultivation.

### Production of edible *P. albidus*

*P. albidus* from the collection of the Laboratory of Enzymes and Biomass, Institute of Biotechnology, University of Caxias do Sul were grown in seven cultivation medium, using different proportions of the two wastes (pomace and stalks) and the sawdust of *Pinus* sp. The strain was maintained by periodic cultivation in medium formulated with: sawdust of *Pinus* sp. (mostly *Pinus taeda L.*), 2% (w/v); wheat bran, 2% (w/v); CaCO<sub>3</sub>, 0.2 % (w/v); agar 2% (w/v) and distilled H<sub>2</sub>O to a final volume of 100 mL. The cultivation medium were named and codified as follows: S100 (100% of sawdust), GP100 (100% of grape pomace), GP50 (50% of grape pomace plus 50% of sawdust), GP25 (25% of grape pomace plus 75% of sawdust), GS100 (100% of grape stalks), GS50 (50% of pomacegrape stalks plus 50% of sawdust) and GS25 (25% of grape stalks plus 75% of sawdust). Each treatment was prepared with 94% (w/w) of the respective substrate, supplemented with 5% wheat bran (w/w), 1% CaCO<sub>3</sub> (w/w) and distilled H<sub>2</sub>O to obtain 66% (m/v) of moisture. The medium were homogenized with the addition of distilled water to 1 kilogram (kg) of dry basis for cultivation. The cultivation bags were sealed and sterilized in an autoclave for 2 hours at 1 atm. After cooling, they were inoculated with 5% inoculum, previously prepared using grains of wheat, closed and kept in a growth chamber at 25 ± 2° C until complete colonization. All conditions were performed in five replications.

Biological efficiency, yield and productivity were determinate according to the method proposed by Yildiz et al. (2002) at the end of the harvesting period to each treatment. Biological efficiency (BE) was determined from the relation between mushroom fresh weight (MFW) and compost dry weight (CDW) according to the

equation:  $BE = MFW/CDW \times 100$ . To yield (Y) determination, the MFW and compost fresh weight (CFW) relation was calculated using the equation:  $Y = MFW/CFW \times 100$ . The Y and BE results are expressed in percentage. Productivity (P) was determined according to equation:  $P = BE/CD$ , where CD corresponds to total cultivation days. Productivity results are expressed in g/d (grams/day) (YILDIZ et al., 2002).

### **Total phenolic content and antioxidant activity of mushrooms**

Mushrooms were cleaned to remove any residual substrate and subsequently dried in the oven at 50° C for about 3 hours. All of the dried mushrooms were ground to fine powder and stored in desiccators at room temperature for further analysis. One gram of each dried mushroom was mixed with 10 mL of boiled water, sonicated for 15 min and centrifuged at 2000g for 15 min (PUTTARAJU et al., 2006). Supernatants were separated and were immediately used to evaluate total phenolic content and the antioxidant capacity. The total phenolic content was performed according to the colorimetric method Folin–Ciocalteu with modifications (SINGLETON; ROSSI, 1965). Results were expressed as mg/g of gallic acid equivalents (mg GAE/g) of dry mushrooms. The same procedures were employed to analyze the total phenolic content of the materials used to compose the substrates. The antioxidant activity of the samples was carried out using the DPPH<sup>\*</sup> (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical reduction assay (YAMAGUCHI et al., 1998). Briefly, each sample was diluted to different concentrations (ranging from 0.1% to 2.0%) and added to Tris-HCl buffer (100 mM, pH 7.0) containing 250 µmol of DPPH<sup>\*</sup> dissolved in ethanol. The tubes were stored in the dark for 20 min and then the absorbance was measured at 517 nm. The results were expressed as IC<sub>50</sub> (extract concentration needed to scavenge 50% of the radical DPPH<sup>\*</sup>).

### **Statistical Analysis**

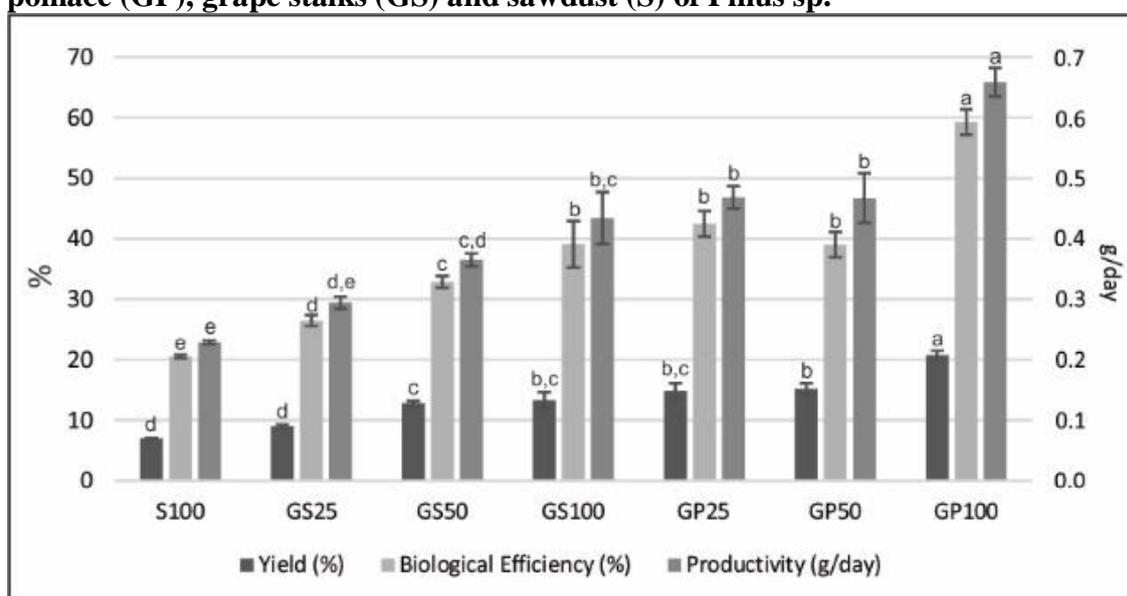
Results were expressed as mean ± standard deviation (SD) from at least three independent experiments. The results were determined to be parametrical by using the Kolmogorov-Smirnoff test. Data were subjected to the analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post hoc test or Student t-test. The software SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) was used for all statistical analysis.

## Results

The analysis conducted with the material used to compose the substrates demonstrated that grape pomace, grape stalks and sawdust had  $122.39 \pm 4.24$  mg EAG/g,  $59.120 \pm 2.55$  and  $3.473$  mg EAG/g of total phenolic content respectively.

Our data showed that mushrooms cultivated on grape waste (both pomace and stalks) presented greater results on production assays than that grown in sawdust, with the highest values for GP100 (Y= 20,74%  $\pm$ 0,74; BE= 59,28%  $\pm$ 2,12; P= 0.65g/d  $\pm$ 0,02) and GS100 (Y= 13.28%  $\pm$ 1,31; BE= 39,07%  $\pm$ 3,86; P= 0.43g/d  $\pm$ 0,04). Mushrooms cultivated on S100 held the lowest values to yield (6,99%  $\pm$ 0,09), biological efficiency (20.56%  $\pm$ 0,28) and productivity (0.22 g/d<sup>-1</sup>  $\pm$  0,03), as shown in Figure 1.

**Figure 1 - Yield, biological efficiency and productivity of the mushrooms *Pleurotus albidus* cultivated in media containing different percentages of grape pomace (GP), grape stalks (GS) and sawdust (S) of *Pinus* sp.**



S100: 100% of sawdust; GS25: 25% of grape stalks; GS50: 50% of pomace grape stalks plus 50% of sawdust; GS100: 100% of grape stalks; GP25: 25% of grape pomace plus 75% of sawdust; GP50: 50% of grape pomace plus 50% of sawdust; GP100: 100% of grape pomace. Different letters indicate significant differences among the media at the same parameter with  $P < 0.05$  by Tukey test.

All the mushrooms grown in grape waste presented higher dose-independent values of phenolic compounds (reaching around 2.2 higher) and antioxidant activity (reaching 3.4 higher) than those observed for cultivation on 100% sawdust. Mushroom

cultivated in grape pomace showed high values of phenolic compounds and antioxidant activity than those found for mushrooms from grape stalks (Table 1).

**Table 1 - Phenolic compounds and antioxidant capacity of the mushrooms *Pleurotus albidus* cultivated in substrates containing different percentages of grape pomace (GP), grape stalks (GS) and sawdust (S) of *Pinus* sp.**

Cultivation substrate	Total phenolic content (mg EAG/g)	Antioxidant activity (IC <sub>50</sub> )
S100	25.33±1.59	12.07±0.01
GP25	55.74±3.23*	3.04±0.04*
GP50	54.68±2.07*	3.28±0.57*
GP100	55.06±2.00*	4.45±0.16*
GS25	35.62±3.46*#	4.53±0.90*#
GS50	41.70±2.93*#	5.96±0.19*#
GS100	43.17±2.62*#	5.68±0.18*#

IC<sub>50</sub>: mg/mL<sup>-1</sup> of mushrooms (dry weight) needed to scavenge 50% of the radical DPPH<sup>•</sup>. Data are expressed as mean ± SD. \* different from the S100 substrate. # different from the respective grape pomace (GP) substrate on Tukey test, p<0.05

## Discussion

Studies showed that the consumption of mushrooms has been consistently associated with a low incidence of various chronic diseases including cancer (BARROS et al., 2008; FERREIRA; BARROS; ABREU, 2009; MAU; LIN; CHEN, 2002). It is not known for sure which elements of the foods are responsible for this association, but it is assumed that antioxidants may have a protective effect against these diseases (HALLIWELL, 2007).

Mushrooms are nutritious food suitable for low-fat diets. Moreover, the antioxidants present in dietary mushrooms are of great interest as possible protective agents to help the human body to reduce oxidative damage. However, the composition of the mushrooms can be modified according to the cultivation substrates, as well as their growing performance (YILDIZ et al., 2002; PAZ et al., 2012). Therefore, the aim of our study was to verify a possible improvement of growing efficiency, enrichment in phenolic content and in the antioxidant activity of *P. albidus* grown on organic (free of pesticides) grape waste.

Our study showed that *P. albidus* cultivated on grape waste presented an increase in total phenolic content. Grape waste are rich in phenolic compounds (SCOLA et al., 2010), including cinnamic and benzoic acids and flavonoids, such as catechin, epicatechin and their polymers (SHI et al., 2003). This is the first study to compare the phenolic content of *P. albidus* grown in different substrates. However, it was already shown that *P. sajor-caju* cultivated on grape pomace presented higher phenolic content than those cultivated on bean straw and apple pomace (PAZ et al., 2012). These data taken together suggest that the mushrooms could absorb part of the phenolic compounds from the substrate or metabolize these compounds as a response to growing conditions, but these mechanisms need to be investigated. Besides, our study demonstrated that grape pomace seems to be a better substrate than the grape stalks with respect to antioxidant activity and total phenolic content. These differences could be due to the basal levels of phenolic compounds found in the materials used to compose the substrates.

Along with a higher phenolic content, mushrooms from grape waste showed an improvement in their antioxidant activity, which was evaluated through the DPPH<sup>•</sup> assay, one of the most used and reproducible antioxidant assays. In this test, the ability of one compound to donate electrons to the stable radical DPPH<sup>•</sup> is evaluated (YAMAGUCHI et al., 1998). Mushrooms cultivated on substrates containing proportions of grape wastes, showed antioxidant activity among 2.02 and 3.4 better than the mushrooms cultivated on sawdust. It is possible that the antioxidant improvement observed in mushrooms from grape waste could be due to the phenolic compounds, as already described (PAZ et al., 2012).

Considering the results, the production of mushrooms from pomace and grape stalks is viable and can be a great alternative to the recovery of waste from juice and wine industry. In addition, Brazil processes about 830 tons of grapes per year (MELLO, 2014), highlighting the wide availability of this raw material.

## **Conclusion**

The results obtained in the present study allow us to conclude that the addition of grape waste, mainly pomace, to substrate composition is able to enhance the phenolic content and the antioxidant activity of the edible mushroom *P. albidus*. Therefore, the use of these mushrooms could be considered nutritionally beneficial to human diet and encouraged among the population.

## Acknowledgements

The researchers appreciate the assistance from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), and Universidade de Caxias do Sul as financial supporters, and Econatura Produtos Ecológicos e Naturais LTDA. as provider of the winery wastes.

## References

ANDRADE, P. F. DE S. Fruticultura - Análise da Conjuntura Agropecuária. **SEAB/DERAL**, 2012.

ARVANITOYANNIS, I. S.; LADAS, D.; MAVROMATIS, A. Potential uses and applications of treated wine waste: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, n. 5, p. 475–487, maio 2006.

BARROS, L. et al. Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 8, p. 2742–7, ago. 2008.

ELMASTAS, M. et al. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3-4, p. 337–345, maio 2007.

FERREIRA, I.; BARROS, L.; ABREU, R. Antioxidants in Wild Mushrooms. **Current Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 12, p. 1543–1560, abr. 2009.

HALLIWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. **Biochemical Society transactions**, v. 35, n. Pt 5, p. 1147–50, nov. 2007.

LALEVIC, B. et al. Environmental impact of viticulture: biofertilizer influence on pruning and wine waste. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 19, n. 5, p. 1027–1032, 2013.

MAU, J.-L.; LIN, H.-C.; CHEN, C.-C. Antioxidant Properties of Several Medicinal Mushrooms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 6072–6077, 2002.

MELLO, L. M. R. DE; MACHADO, C. A. E. Área Cultivada com Videiras no Rio Grande do Sul, Documentos 87. Bento Gonçalves, **Embrapa Uva e Vinho**. Bento Gonçalves, 2013.

MELLO, L. M. R. Viticultura Brasileira: Panorama 2013. Comunicado Técnico 156, **Embrapa Uva e Vinho**. Bento Gonçalves, 2014.

PAZ, M. DA et al. Determining the basic composition and total phenolic compounds of *Pleurotus sajor-caju* cultivated in three different substrates by solid state bioprocess. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 2, p. 11–14, maio 2012.

PIRRA, A. **Caracterização e tratamento de efluentes vinícolas da Região Demarcada do Douro**. Vila Real: Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 2005.

PROZIL, S. O.; EVTUGUIN, D. V.; LOPES, L. P. C. Chemical composition of grape stalks of *Vitis vinifera* L. from red grape pomaces. **Industrial Crops and Products**, v. 35, n. 1, p. 178–184, jan. 2012.

PUTTARAJU, N. G. et al. Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 26, p. 9764–9772, dez. 2006.

PUTZKE, J. Os gêneros *Pleurotus* e *Lentinus* (Agaricales, Basidiomycota, fungos) no Brasil - I: lista de espécies e chaves de identificação. **Caderno de Pesquisa série Biologia**, v. 14, n. 1, p. 67–75, jan. 2002.

SCOLA, G. et al. Flavan-3-ol compounds from wine wastes with in vitro and in vivo antioxidant activity. **Nutrients**, v. 2, n. 10, p. 1048–59, out. 2010.

SHI, J. et al. Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. **Journal of medicinal food**, v. 6, n. 4, p. 291–9, jan. 2003.

SINGLETON, V.; ROSSI, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

VIEIRA, E.; PAZ, M. F. DA; GIOVANNI, R. N. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de uva pela técnica Jun-Cao. **CD Room XVI Simpósio Nacional de Bioprocessos**, v. 16, 2007.

YAMAGUCHI, T. et al. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging of foods by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 62, n. 6, p. 1201–1204, jun. 1998.

YILDIZ, C. et al. Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 3, p. 301–306, nov. 2002.

YU, J.; AHMEDNA, M. Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, n. 2, p. 221–237, 1 fev. 2013.

## 5. DISCUSSÃO GERAL

A Serra Gaúcha produz, anualmente, cerca de 7 mil toneladas de uvas orgânicas (Emater, 2012), a partir das quais são geradas cerca de 1,75 mil toneladas de resíduos. Estes resíduos são destinados, principalmente, para a elaboração de ração animal, como adubo ou como matéria-prima para a produção de fertilizantes. Sabe-se, no entanto, que estes resíduos são ricos em compostos bioativos, especialmente compostos fenólicos que poderiam ser utilizados na produção de alimentos, agregando valor aos mesmos e contribuindo para a elaboração de produtos com potencial nutracêutico.

Alguns estudos vêm testado os efeitos da adição de farinhas de bagaço de uva em alimentos, tais como, como barras de cereais (Rosales Soto *et al.*, 2012), biscoitos (Piovesana *et al.*, 2013), cereais matinais (Oliveira *et al.*, 2013), molho de saladas (Tseng & Zhao, 2013), pão (Mildner-Szkudlarz *et al.*, 2011; Hayta *et al.*, 2014; Walker *et al.*, 2014), *brownies*, *muffins* (Walker *et al.*, 2014), sorvetes (Ishimoto *et al.*, 2007) entre outros. Desta forma, é possível notar que esta farinha é bastante versátil, podendo ser utilizada para enriquecer diversos tipos de alimentos sem causar prejuízos na aceitação sensorial dos mesmos. Entretanto, até o momento não foram produzidas farinhas de bagaço da produção de suco de uva orgânica. Além de não apresentarem resíduos de agrotóxicos, de modo geral, uvas orgânicas tendem a apresentar mais conteúdo de compostos fenólicos (Dani *et al.*, 2007; Mulero *et al.*, 2010; Lester & Saftner, 2011; Skrabule *et al.*, 2013; Perin *et al.*, 2014)

O mercado de produtos orgânicos encontra-se em crescente expansão, especialmente nos países da Europa e América do Norte. Os Estados Unidos são responsáveis pelo consumo de cerca de 44% do mercado global de orgânicos, porém o maior consumo per capita ocorre na Suíça, Dinamarca e Luxemburgo (FIBL/IFOAM,

2014). Na América do Sul, o Brasil é o país com maior potencial para o desenvolvimento deste mercado que no ano de 2012 foi avaliado em 750 milhões de dólares (Sahota, 2012). Com crescimento de 35% em 2013, e com manutenção deste índice em 2014, o mercado de orgânicos no Brasil tem aberto cada vez mais espaço para novos empreendimentos, representando oportunidades para diversos segmentos como cosméticos, produtos têxteis, produtos de higiene e limpeza, e especialmente alimentos (Página, 2014; Rabello, 2014).

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi analisar a possibilidade de utilização dos resíduos da produção do suco de uva orgânico para elaboração de farinha alimentícia e cultivo de cogumelos comestíveis. Os resíduos utilizados no estudo foram doados por três empresas que elaboram suco de uva orgânico localizadas nos municípios de Garibaldi e Caxias do Sul, sendo duas amostras provenientes de uvas da variedade Isabel (I1 e I2) e outras duas da variedade Bordô (B1 e B2), sendo ambas as da espécie *V. labrusca L.* Juntas, as três empresas doadoras dos resíduos produzem mais da metade do suco de uva orgânico na região, constituindo, portanto, uma amostra representativa dos resíduos obtidos no setor.

No que se refere às quantidades de cascas, sementes e engaço que constituíram cada uma das amostras, foram observadas diferenças significativas entre elas. Além da variedade da uva, outros fatores que podem causar estas diferenças são o sistema de cultivo, o processo de produção, o clima do local onde as uvas foram cultivadas, entre outros (Leeuwen *et al.*, 2004; Ferrer-Gallego *et al.*, 2012; Ky *et al.*, 2014). No caso da amostra B2, observou-se grande predominância de cascas na composição do resíduo. Este resultado deve-se ao fato de que o processo utilizado pela empresa que forneceu a amostra B2 utiliza um sistema de desengace que separa maior quantidade de engaço das uvas no início do processamento, resultando em quantidade menor da porção lenhosa do cacho de uva no bagaço, assim como observado na amostra I1. A pouca quantidade de sementes

observada nesta mesma amostra deve-se ao fato de que a empresa realiza a separação das sementes presentes no bagaço para que sejam utilizadas na extração de óleo, e portanto o resíduo final gerado no processo resulta em bagaço com quantidade residual de sementes.

As amostras de bagaço variedade Bordô apresentaram maior teor de compostos fenólicos totais e maior atividade antioxidante quando comparadas às da variedade Isabel. Outros estudos que compararam o teor de antioxidantes entre amostras de bagaço destas mesmas variedades provenientes da elaboração de vinhos, também apontaram a variedade Bordô como sendo superior à variedade Isabel (Scola *et al.*, 2010, 2011; Rockenbach *et al.*, 2011).

Para a obtenção da farinha de bagaço de uva, optou-se pela utilização da amostra B2 (bagaço de uva Bordô sem sementes), já que esta apresentou maior conteúdo de compostos fenólicos. A farinha resultante apresentou maiores quantidades de compostos fenólicos totais (133,05 mgGAE/g) do que o observado em outras farinhas alimentícias, como a de cevada (0,72 mg/g) e de aveia integral (0,9 mg/g) (Neveu *et al.*, 2009).

Em estudo realizado por Ishimoto (2008), o teor de compostos fenólicos totais de farinha elaborada com bagaço de uva Isabel (*V. labrusca L.*) proveniente da elaboração de suco de uva apresentou 21 mgGAE/g, e a farinha obtida de bagaço da produção de vinho da variedade Cabernet Sauvignon (*V. vinífera*) apresentou 10 mgGAE/g, enquanto resultados obtidos por Rockenbach (2011) com bagaço de uva Bordô proveniente da elaboração de vinho, apresentou 63,31 mgGAE/g. Outro estudo que avaliou bagaço de uva da variedade Manto Negro (*V. vinífera*), detectou 26 mgGAE/g de compostos fenólicos totais (Llobera & Canelas, 2007). Estas variações detectadas entre diferentes estudos são reflexo das diferentes espécies e variedades de uvas utilizadas, safra, condições de cultivo e processamento, bem como da metodologia empregada nos testes (Ky *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2012) Rockenbach *et al.*, 2011)

Além disso, a farinha elaborada a partir do resíduo B2 apresentou significativo teor de fibras totais (47,21%), sendo que o consumo de 1 colher de sopa (20 gramas) da farinha fornece 38% do total da recomendação diária que é de 25 gramas ao dia (Anvisa, 2002; Brasil, 2014). Outros estudos que analisaram a proporção de fibras solúveis e insolúveis presentes em bagaço de uva demonstraram a predominância de fibras insolúveis, sendo compostas principalmente por celulose e hemicelulose e apresentando ainda um baixo teor de lignina. Já na fração solúvel predominam as substâncias pécicas (Valiente *et al.*, 1995; Ishimoto, 2008; Yu & Ahmedna, 2013). O consumo de fibras insolúveis está relacionado ao adequado funcionamento dos intestinos através do aumento do bolo fecal e promoção da regularidade intestinal (Anderson *et al.*, 2009).

A quantidade de carboidratos que foi encontrada na farinha produzida a partir do resíduo B2 é semelhante à encontrada por Ishimoto (2008), que detectou 25,8% deste macronutriente em amostra de bagaço de uva Isabel proveniente da elaboração de suco. Este mesmo estudo apontou que o bagaço oriundo da elaboração de vinhos possui quantidades de carboidratos significativamente menores dos encontrados em bagaço de suco, visto que durante o processo de fermentação que ocorre para a elaboração de vinho a maior parte dos açúcares presentes na uva (glicose e frutose) são convertidos em etanol (Ishimoto, 2008). O teor de proteínas encontrado na farinha obtida no presente estudo (9,38%) é semelhante ao encontrado em outros trabalhos com bagaço de uvas provenientes de suco da variedade Isabel (9,4%) (Ishimoto, 2008), e da produção de vinho das variedades Cabernet Sauvignon (*V. vinifera*) (11,3%) (Yi *et al.*, 2009), Manto Negro (*V. vinifera*) (12,2%) (Llobera & Cañellas, 2007), Royale Rouge (11,1%) (YI *et al.*, 2009) e Airén (*V. vinifera*) (10,72%) (Valiente *et al.*, 1995).

Em muitos casos é necessário que os produtos elaborados com farinhas sejam submetidos à altas temperatura (cocção), o que pode diminuir o teor de compostos

fenólicos presentes (Khanal *et al.*, 2010; Ross *et al.*, 2011), ou aumentar esta concentração em virtude da hidrólise de proantocianinas (Kim *et al.*, 2006) (Tabela 6). Em nosso estudo, verificou-se que a farinha pode ser aquecida à temperatura de 100 °C por até 60 minutos e a 150 °C por até 20 minutos sem que ocorram perdas significativas no teor de compostos fenólicos totais da mesma. Na temperatura de 180 °C verificou-se decréscimo de 45% do teor de compostos fenólicos com 20 minutos de aquecimento, sendo que em 40 e 60 minutos, a redução chegou a 65%.

**Tabela 6- Efeito de diferentes temperaturas nos compostos antioxidantes de resíduos d elaboração de vinhos e sucos de uva.**

Resíduo	Marcador utilizado	Temperaturas de aquecimento	Efeito observado*	Referência
Casca <i>V. vinifera</i> , variedade Cencidel	Compostos fenólicos totais	60°	Sem alteração	Larrauri <i>et al.</i> , 1997
		100°	Redução	
		140°	Redução	
Bagaço <i>V. labrusca L.</i> , variedade Sunbelt	Total de procianidinas e antocianinas	40°C	Sem alteração	Khanal <i>et al.</i> , 2010
		60°C	Redução	
		105°C	Redução	
Sementes <i>V. vinifera</i> , variedade Campbell	Compostos fenólicos totais	125°C	Redução	Kim <i>et al.</i> , 2006
		50°C	Aumento	
		100°C	Aumento	
		150°C	Aumento	
Farinha de semente <i>V. vinifera</i> , variedade Merlot	Compostos fenólicos totais	200°C	Aumento	Ross <i>et al.</i> , 2011
		120 °C	Aumento	
		150°C	Aumento	
		180°C	Redução	
		210°C	Redução	
		240°C	Redução	

\*em relação à temperatura ambiente

Além da utilização dos resíduos da produção de suco de uva para o preparo de alimentos, demonstrou-se neste trabalho que o bagaço de uva também pode servir como substrato para o cultivo de cogumelos comestíveis. O teor de compostos fenólicos totais encontrados nos cogumelos cultivados em bagaço (GP100, GP50, GP25) apresentaram

em média 55,15mg EAG/g, 40,16mg EAG/g para os cultivados em engajo (GS100, GS50, GS25) e 25,33mg EAG/g quando cultivados em serragem (S100). Quando comparados ao teor de compostos fenólicos totais de cogumelos de outras espécies do gênero *Pleurotus* sp. cultivados em diferentes meios (Tabela 7), os valores obtidos neste estudo demonstram ser superiores, reforçando o potencial da utilização dos cogumelos *P. albidus* como fontes de antioxidantes.

**Tabela 7 - Determinação de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante pelo método DPPH• de cogumelos do gênero *Pleurotus*.**

Espécie	Origem	Compostos Fenólicos Totais*	Capacidade Antioxidante (IC <sub>50</sub> )*	Autor
<i>P. cornucopiae</i>	Coletado na Natureza	3,32 mg GAE/g	n.a.	Kolayli <i>et al.</i> (2012)
<i>P. djamor</i>	Coletado na Natureza	13,3 mgEAG/g	3,00 mg/ml	Puttaraju <i>et al.</i> (2006)
<i>P. eous</i>	Comercial	8,77 mg GAE/g	7,0 mg/ml	Sudha <i>et al.</i> (2012)
<i>P. ostreatusroseus</i>	Comercial	5,9 mgEAG/g	n.a.	De Pauli, (2010)
<i>P. ostreatus</i>	Comercial	4,46 mgEAG/g	n.a.	De Pauli, (2010)
	Coletado na Natureza	4,47 mg GAE/g	8,4 mg/ml	Woldegiorgis <i>et al.</i> (2014)
	Coletado na Natureza	2,74 mg GAE/g	n.a.	Kolayli <i>et al.</i> (2012)
<i>P. sajor-caju</i>	Comercial	2,57 mgEAG/g	n.a	De Pauli, (2010)
	Palha de feijão	0,56 mgEAG/g	n.a.	Paz <i>et al.</i> (2012)
	Bagaço de maçã	0,88 mgEAG/g	n.a.	Paz <i>et al.</i> (2012)
	Bagaço de uva	2,05 mgEAG/g	n.a.	Paz <i>et al.</i> (2012)
	Natureza	14,3 mgEAG/g	1,80 mg/ml	Puttaraju <i>et al.</i> (2006)

\* Quantidades referentes à base seca dos cogumelos. \*\*quantidade necessária do extrato para sequestrar 50% do radical DPPH•. n.a.= não avaliado.

Não é possível, a partir dos dados coletados no presente estudo, esclarecer se o aumento do teor de compostos fenólicos totais observado nos cogumelos cultivados nos resíduos é resultante da maior absorção dos polifenóis presentes no substrato, ou se as condições de cultivo proporcionaram aumento da biossíntese destes compostos por parte dos fungos. Desta forma são necessários maiores estudos que esclareçam os mecanismos responsáveis pelos resultados observados.

Os compostos fenólicos têm sido objeto de diversos estudos, que vinculam seu consumo à uma série de benefícios à saúde. Em especial, eles são capazes de reduzir danos à biomoléculas, os quais são associados à fisiopatologia de doenças como câncer, diabetes e doenças cardiovasculares (Visioli & Davalos, 2011; Ebrahimi & Schluesener, 2012; Mursu *et al.*, 2014). Por isso, é crescente a dedicação da ciência e da indústria em encontrar maneiras de enriquecer a dieta com estes compostos através de processos que os incorporem nos alimentos e que evitem suas perdas durante o processamento. Assim, o presente estudo apresenta alternativas que podem colaborar com estes objetivos, favorecendo ainda a agregação de valor aos resíduos agroindustriais provenientes da elaboração de suco de uva orgânico.

## 6. CONCLUSÕES

Os dados obtidos neste estudo permitem concluir que:

- 6.1. As amostras de resíduos provenientes da elaboração de suco de uva orgânica analisados, apresentaram diferenças significativas em sua composição física, variando de acordo com a variedade de uva e a metodologia de produção utilizada por cada empresa.
- 6.2. O bagaço proveniente da elaboração de suco de uva orgânico da variedade Bordô apresentou maior quantidade de compostos fenólicos e maior atividade antioxidante do que o bagaço da variedade Isabel.
- 6.3. O aquecimento da farinha obtida do bagaço de uva Bordô (B2) até a temperatura de 150°C durante 20 minutos não ocasionou diminuição no teor de compostos fenólicos, e mesmo quando aquecida à temperaturas superiores.
- 6.4. O cultivo de cogumelos comestíveis *P. albidus* em bagaço e engaço provenientes da elaboração de suco de uva orgânico variedade Bordô provoca aumento na produção de corpos de frutificação quando comparado aos cultivados em serragem de *Pinus* sp.
- 6.5. Os cogumelos cultivados em bagaço apresentam maior quantidade de compostos fenólicos totais e melhor capacidade antioxidante quando comparados aos cultivados em engaço.

6.6. Tanto os cogumelos cultivados em bagaço quanto os cultivados em engaço apresentaram maior quantidade de compostos fenólicos totais e melhor capacidade antioxidante do que os cultivados em serragem de *Pinus* sp.

## **7. PERSPECTIVAS**

Como continuidade deste trabalho, seria importante:

- 7.1. Realizar análise de espectrofotometria de massas na farinha obtida a partir dos resíduos da elaboração de suco de uva orgânico.
- 7.2. Analisar o teor de polifenóis totais, capacidade antioxidante e aceitação sensorial de produtos elaborados com a utilização da farinha de bagaço de uva.
- 7.3. Analisar os efeitos do consumo da farinha nos índices de glicemia, perfil lipídico e capacidade antioxidante de modelos animais e voluntários.
- 7.4. Comparar o teor de polifenóis totais e a capacidade antioxidante dos resíduos da elaboração de suco de uva orgânico com bagaço de uvas convencionais e com resíduos provenientes da elaboração de vinhos.
- 7.5. Avaliar a produção de cogumelos de outras espécies e gêneros, utilizando resíduos da elaboração de suco de uva orgânico e de vinhos
- 7.6. Investigar os mecanismos que levam ao aumento no teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em cogumelos cultivados em resíduos da elaboração de suco de uva.

## 8. REFERÊNCIAS

- Adebayo, E., Oloke, J., Aina, D., & Bora, T. (2014). Antioxidant and nutritional importance of some *Pleurotus* species. **J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.**, 289–294.
- Agostini, F. (2011). Obtenção e análise de óleo e compostos fenólicos de sementes de diferentes variedades de uva (*Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*) cultivadas no Rio Grande do Sul. **Tese de Doutorado**. Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, Brasil.
- Akata, I., Ergönül, B., & Kalyoncu, F. (2012). Chemical Compositions and Antioxidant Activities of 16 Wild Edible Mushroom Species Grown in Anatolia. **Int. J. Pharmacol.**, 8(2), 134–138.
- Álvarez, E., Rodiño-Janeiro, B. K., Jerez, M., Ucieda-Somoza, R., Núñez, M. J., & González-Juanatey, J. R. (2012). Procyanidins from grape pomace are suitable inhibitors of human endothelial NADPH oxidase. **J. Cell. Biochem.**, 113(4), 1386–96.
- Anderson, J. W. (2009). Health benefits of dietary fiber. **Nut. Rev.**, 67(4), 188–205.
- Anderson, J. W., Baird, P., Davis, R. H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., et al. (2009). Health benefits of dietary fiber. **Nutr. Rev.**, 67(4), 188–205.
- Andrade, P. F. de S. (2012). Fruticultura - Análise da Conjuntura Agropecuária. **SEAB-Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento**, Curitiba.
- Animal, Compêndio Brasileiro da Alimentação (2005). Métodos analíticos. **Sindirações**, 2nd ed., p. Método 57). São Paulo.
- ANVISA. (2002). Resolução RDC nº 259, de setembro de 2002. Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem de Alimentos Embalados. **Diário Of. Da União**.
- AOAC. (2012a). AOAC Official Method 2001.11. **Assoc. Off. Anal. Chem. Int.**, 19.
- AOAC. (2012b). AOAC Official Method 991.43 -. **Assoc. Off. Anal. Chem. Int.**, 19.
- Arvanitoyannis, I. S., Ladas, D., & Mavromatis, A. (2006). Potential uses and applications of treated wine waste: a review. **Int. J. Food Sci. Technol.**, 41(5), 475–487.
- Ascar, E. (2014). Seminário da Uva Orgânica reúne centenas de produtores em São Jorge. **Disponível (online)** <http://www.rs.gov.br/conteudo/200423/seminario-da-uva-organica-reune-centenas-de-produtores-em-sao-jorge>. Acesso em 21 dez. 2014.

- Bagchi, D., Sen, C. K., Ray, S. D., Das, D. K., Bagchi, M., Preuss, H. G., et al. (2003). Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. **Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.**, 523-524, 87–97.
- Bahadoran, Z., Mirmiran, P., & Azizi, F. (2013). Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. **J. Diabetes Metab. Disord.**, 12(1), 43.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chem.**, 99(1), 191–203.
- Balestro, E. A., Sandri, I. G., & Fontana, R. C. (2011). Utilização de bagaço de uva com atividade antioxidante na formulação de barra de cereais. **Rev. Bras. Prod. Agroind.**, 13(2), 203–209.
- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. **Food Chem. Toxicol.**, 46(8), 2742–7.
- Basli, A., Soulet, S., Chaher, N., Mérillon, J.-M., Chibane, M., Monti, J.-P. et al. (2012). Wine polyphenols: potential agents in neuroprotection. **Oxid. Med. Cell. Longev.**, 2012, 1–14.
- Bernaś, E., Jaworska, G., & Lisiewska, Z. (2006). Edible mushrooms as a source of valuable nutritive constituents. **Acta Sci. Pol. Technol.**, 5(1), 5–20.
- Bertran, E., Sort, X., Soliva, M., & Trillas, I. (2004). Composting winery waste: sludges and grape stalks. **Bioresour. Technol.**, 95(2), 203–8.
- Blainski, A., Lopes, G. C., & de Mello, J. C. P. (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. **Molecules**, 18(6), 6852–65.
- Boa, E. R. (2004). Wild edible fungi: a global overview of their use and importance to people. In: Food and Agriculture Organization of the United Nations (ed) Non-wood forest products, vol. 17. FAO, Rome, 147p.
- Bobek, P. (1999). Dietary tomato and grape pomace in rats: Effect on lipids in serum and liver, and on antioxidant status. **Br. J. Biomed. Sci.**, 56(2), 109–113.
- Bonatti, M., Karnopp, P., Soares, H. ., & Furlan, S. . (2004). Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chem.**, 88(3), 425–428.
- Borchers, A. T., Keen, C. L., & Gershwin, M. E. (2004). Mushrooms, tumors, and immunity: An update. **Exp. Biol. Med.**, 229(5), 393–406.

- Borriello, A., Bencivenga, D., Caldarelli, I., Tramontano, A., Borgia, A., Zappia, V., & Della Ragione, F. (2014). Resveratrol: from basic studies to bedside. **Cancer Treat Res**, *159*, 167–184.
- Braga, A., Medeiros, T. P. de, & Araújo, B. V. de. (2010). Investigação da atividade antihiperlipemizante da farinha da casca de *Passiflora edulis* Sims, Passifloraceae, em ratos diabéticos induzidos por aloxano. **Rev. Bras. Farmacogn.**, *20*(2), 186–191.
- Brasil. (2001). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Of. da República Fed. do Bras.** Brasília, DF.
- Brasil. (2003a). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 360, 23/12/2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. **Diário Of. da República Fed. do Bras.** Brasília, DF.
- Brasil. (2003b). Ministério da Agricultura, Pecuária e Defesa, Abastecimento. Secretaria de Agropecuária. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Capítulo XV, Brasília: Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. **Diário Of. da República Fed. do Bras.** Brasília, DF.
- Brasil, M. da S. (2007). Cadernos de Atenção Básica: Carência de Micronutrientes (p. 60). Brasília.
- Brasil, M. da S. (2014). Guia alimentar para a população brasileira. **Brasília MS.**
- Cabras, P., & Angioni, A. (2000). Pesticide residues in grapes, wine, and their processing products. **J. Agric. Food Chem.**, *48*(4).
- Cappa, C., Lavelli, V., & Mariotti, M. (2014). Fruit candies enriched with grape skin powders: physicochemical properties. **LWT - Food Sci. Technol.**, *62*(1), 569-575.
- Carocho, M., & Ferreira, I. C. F. R. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food Chem. Toxicol.**, *51*, 15–25.
- Chalker-Scott, L. (1999). Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. **Photochem. Photobiol.**, *70*(1), 1–9, 967-973.
- Čuš, F., Česnik, H. B., Bolta, Š. V., & Gregorčič, A. (2010). Pesticide residues in grapes and during vinification process. **Food Control**, *21*(11), 1512–1518.
- Da Mota, R. V., Lajolo, F. M., Ciacco, C., & Cordenunsi, B. R. (2000). Composition and functional properties of banana flour from different varieties. **Stärke**, *52*(2-3), 63–68.

- Dani, C., Oliboni, L. S., Vanderlinde, R., Bonatto, D., Salvador, M., & Henriques, J. A. P. (2007). Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically- or conventionally-produced grapes. **Food Chem. Toxicol.**, *45*(12), 2574–80.
- De Pascual-Teresa, S., Moreno, D. a, & García-Viguera, C. (2010). Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. **Int. J. Mol. Sci.**, *11*(4), 1679–703.
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P. E., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. **Antioxid. Redox Signal.**, *18*(14), 1818–92.
- Diniz, F. (2013). Brasil estreita cooperação com a Coreia para aumentar a produção de cogumelos no país. EMBRAPA. **(Disponível online)** <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1495922/brasil-estreita-cooperacao-com-a-coreia-para-aumentar-a-producao-de-cogumelos-no-pais> Acesso em 21 dez. 2014.
- Doshi, P., Adsule, P., Banerjee, K., & Oulkar, D. (2013). Phenolic compounds, antioxidant activity and insulinotropic effect of extracts prepared from grape (*Vitis vinifera L*) byproducts. **J. Food Sci. Technol.**, 1–10.
- Ebrahimi, A., & Schluesener, H. (2012). Natural polyphenols against neurodegenerative disorders: Potentials and pitfalls. **Ageing Res. Rev.**, *11*(2), 329-345.
- Elmastas, M., Isildak, O., Turkecul, I., & Temur, N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. **J. Food Compos. Anal.**, *20*(3-4), 337–345.
- FAO. (2010). Faostat agriculture data – crops and crops processed – grape an wine. **(Disponível online)** <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor> Acesso em 21 dez. 2014.
- Ferreira, I., Barros, L., & Abreu, R. (2009). Antioxidants in Wild Mushrooms. **Curr. Med. Chem.**, *16*(12), 1543–1560.
- Ferrer-Gallego, R., Hernández-Hierro, J. M., Rivas-Gonzalo, J. C., & Escribano-Bailón, M. T. (2012). Influence of climatic conditions on the phenolic composition of *Vitis vinifera L.* cv. Graciano. **Anal. Chim. Acta**, *732*, 73–7.
- FIBL/IFOAM. (2014). The World of Organic Agriculture - Statistics and Emerging Trends 2014. (H. and J. L. Willer, Ed.) (pp. 108–109). Alemanha: **Research Institute of Organic Agriculture**.
- Flamini, R., Mattivi, F., De Rosso, M., Arapitsas, P., & Bavaresco, L. (2013). Advanced knowledge of three important classes of grape phenolics: Anthocyanins, stilbenes and flavonols. **Int. J. Mol. Sci.**, *14*(10), 19651–19669.

- Fontana, A. R., Antonioli, A., & Bottini, R. (2013). Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. **J. Agric. Food Chem.**, *61*(38), 8987–9003.
- Fu, S. Y., Yu, H. S., & Buswell, J. A. (1997). Effect of nutrient nitrogen and manganese on manganese peroxidase and laccase production by *Pleurotus sajor-caju*. **FEMS Microbiol. Lett.**, *147*(1), 133–137.
- Furlani, R., & Godoy, H. (2005). Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. **Rev. do Inst. Adolfo Lutz, São Paulo**, *64*(2), 149–154.
- Garrido, M. D., Auqui, M., Martí, N., & Linares, M. B. (2011). Effect of two different red grape pomace extracts obtained under different extraction systems on meat quality of pork burgers. **LWT - Food Sci. Technol.**, *44*(10), 2238–2243.
- Giada, M. de L. R. (2013). **Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power**. In D. J. A. Morales-Gonzalez (Ed.), *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants* (pp. 87–111).
- Gonçalves, J. M., Souza, M. D. C. de, Rocha, R. C. C., Medeiros, R. J., & Jacob, S. do C. (2014). Macro and trace elements in edible mushrooms, Shiitake, Shimeji and Cardoncello from Petrópolis, Rio de Janeiro, Brazil. **Ciência Rural**, *44*(5), 943–949.
- González-Paramás, A. M., Santos-Buelga, C., Dueñas, M., & González-Manzano, S. (2011). Analysis of flavonoids in foods and biological samples. **Mini Rev. Med. Chem.**, *11*, 1239–1255.
- Guillamón, E., García-Lafuente, A., Lozano, M., Darrigo, M., Rostagno, M. A., Villares, A., & Martínez, J. A. (2010). Edible mushrooms: Role in the prevention of cardiovascular diseases. **Fitoterapia**, *81*(7), 715–723.
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. **Biochem. Soc. Trans.**, *35*(Pt 5), 1147–50.
- Han, J., Britten, M., St-Gelais, D., Champagne, C. P., Fustier, P., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2011). Effect of polyphenolic ingredients on physical characteristics of cheese. **Food Res. Int.**, *44*(1), 494–497.
- Hayta, M., Özüğür, G., Etgü, H., & Şeker, İ. T. (2014). Effect of Grape (*Vitis Vinifera L.*) Pomace on the Quality, Total Phenolic Content and Anti-Radical Activity of Bread. **J. Food Process. Preserv.**, *38*(3), 980–986.
- Hichri, I., Barrieu, F., Bogs, J., Kappel, C., Delrot, S., & Lauvergeat, V. (2011). Recent advances in the transcriptional regulation of the flavonoid biosynthetic pathway. **J. Exp. Bot.**, *62*(8), 2465–83.
- Hogan, S., Canning, C., Sun, S., Sun, X., & Zhou, K. (2010). Effects of grape pomace antioxidant extract on oxidative stress and inflammation in diet induced obese mice. **J. Agric. Food Chem.**, *58*(21), 11250–6.

- Iora, S. R. F., Maciel, G. M., Zielinski, A. a. F., da Silva, M. V., Pontes, P. V. D. a., Haminiuk, C. W. I., & Granato, D. (2014). Evaluation of the bioactive compounds and the antioxidant capacity of grape pomace. **Int. J. Food Sci. Technol.**, 1–8.
- Ishimoto, E., Matias, A. C., Capriles, V. D., Baccarin, A., & Torres, E. A. (2007). Bagaço de uva como ingrediente funcional: elaboração e caracterização de sorbet e picolé. **Nutrire**, 32, 126–126.
- Ishimoto, E. Y. (2008). Efeito hipolipemiante e antioxidante de subprodutos da uva em hamsters. **Tese de doutorado**. Universidade de São Paulo.
- Jaakola, L. (2013). New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. **Trends Plant Sci.**, 18(9), 477–83.
- Karthikeyan, K., Bai, B. R. S., & Devaraj, S. N. (2007). Cardioprotective effect of grape seed proanthocyanidins on isoproterenol-induced myocardial injury in rats. **Int. J. Cardiol.**, 115(3), 326–33.
- Kavanagh, K. (2011). *Fungi: Biology and Applications*. (pp. 1–267). John Wiley & Sons, Ltd.
- Kennedy, J. a, Matthews, M. a, & Waterhouse, A. L. (2000). Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening. **Phytochem.**, 55(1), 77–85.
- Khanal, R. C., Howard, L. R., & Prior, R. L. (2010). Effect of heating on the stability of grape and blueberry pomace procyanidins and total anthocyanins. **Food Res. Int.**, 43(5), 1464–1469.
- Kim, S., Jeong, S., Park, W., Nam, K., Ahn, D., & Lee, S. (2006). Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. **Food Chem.**, 97(3), 472–479.
- Kolayli, S., Sahin, H., Aliyazicioglu, R., & Sesli, E. (2012). Phenolic components and antioxidant activity of three edible wild mushrooms from Trabzon, Turkey. **Chem. Nat. Compd.**, 48(1), 137–140.
- Koyyalamudi, S. R., Jeong, S. C., Cho, K. Y., & Pang, G. (2009). Vitamin B12 is the active corrinoid produced in cultivated white button mushrooms (*Agaricus bisporus*). **Jour. agri. food chem.**, 57(14), 6327-6333.
- Kuepper, G. (2010). A brief overview of the history and philosophy of organic agriculture. **Kerr Cent. Sustain. Agric.**, 1, 23.
- Ky, I., Lorrain, B., Kolbas, N., Crozier, A., & Teissedre, P.-L. (2014). Wine by-products: phenolic characterization and antioxidant activity evaluation of grapes and grape pomaces from six different French grape varieties. **Molecules**, 19(1), 482–506.

- Lalevic, B., Sivcev, V., Raicevic, Z., Rankovic Vasic, N., Petrovic, N., & Milinkovic, M. (2013). Environmental impact of viticulture: biofertilizer influence on pruning and wine waste. **Bulg. J. Agric. Sci.**, *19*(5), 1027–1032.
- Larrauri, J. A., Ruperez, P., & Saura-Calixto, F. (1997). Effect of Drying Temperature on the Stability of Polyphenols and Antioxidant Activity of Red Grape Pomace Peels. **J. Agric. Food Chem.**, *45*, 1390–1393.
- Lechner, B. E., & Albertó, E. (2011). Search for new naturally occurring strains of *Pleurotus* to improve yields: *Pleurotus albidus* as a novel proposed species for mushroom production. **Rev. Iberoam. Micol.**, *28*(4), 148–54.
- Leeuwen, C. Van, Friant, P., Choné, X., Tregoat, O., Koundouras, S., & Dubourdieu, D. (2004). Influence of Climate, Soil, and Cultivar on Terroir. **Am. J. Enol. Vitic.**, *55*(5), 207–217.
- Lester, G. E., & Saftner, R. a. (2011). Organically versus conventionally grown produce: common production inputs, nutritional quality, and nitrogen delivery between the two systems. **J. Agric. Food Chem.**, *59*(19), 10401–6.
- Lin, J.-T., Liu, C.-W., Chen, Y.-C., Hu, C.-C., Juang, L.-D., Shiesh, C.-C., & Yang, D.-J. (2014). Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties for ethanolic extracts from *Pleurotus eryngii* fruiting bodies harvested at different time. **LWT - Food Sci. Technol.**, *55*(1), 374–382.
- Lindequist, U., Niedermeyer, T. H. J., & Jülich, W.-D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. **Evid. Based. Complement. Alternat. Med.**, *2*(3), 285–99.
- Liu, B., & Zhang, X. (2007). New enlightenment of French Paradox: resveratrol's potential for cancer chemoprevention and anti-cancer therapy. **Cancer Biol. Ther.**, *6*(12), 1833–1836.
- Lizarraga, D., Vinardell, M. P., Noé, V., van Delft, J. H., Alcarraz-Vizán, G., van Breda, S. G., et al. (2011). A lyophilized red grape pomace containing proanthocyanidin-rich dietary fiber induces genetic and metabolic alterations in colon mucosa of female C57BL/6J mice. **J. Nutr.**, *141*(9), 1597–604.
- Llobera, A., & Cañellas, J. (2007). Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. **Food Chem.**, *101*(2), 659–666.
- López-Oliva, M. E., Agis-Torres, A., Goñi, I., & Muñoz-Martínez, E. (2010). Grape antioxidant dietary fibre reduced apoptosis and induced a pro-reducing shift in the glutathione redox state of the rat proximal colonic mucosa. **Br. J. Nutr.**, *103*(8), 1110–7.
- Lutz, I. A. (2008). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. (I. A. Lutz, Ed.) (4th ed., p. 1020). São Paulo.

- Makris, D. P., Boskou, G., & Andrikopoulos, N. K. (2007). Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **J. Food Compos. Anal.**, *20*(2), 125–132.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. **Am. J. Clin. Nutr.**, *79*.
- Martín-Carrón, N., Goñi, I., Larrauri, J. A., García-Alonso, A., & Saura-Calixto, F. (1999). Reduction in serum total and LDL cholesterol concentrations by a dietary fiber and polyphenol-rich grape product in hypercholesterolemic rats. **Nutr. Res.**, *19*(9), 1371–1381.
- Marzarotto, V. (2005). **Suco de Uva**. In *Em: Venturini Filho, Waldemar Gastoni. Tecnologia de Bebidas. Matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação, mercado*. (pp. 311–327). São Paulo: Edgard Blücher.
- Mattivi, F., Guzzon, R., Vrhovsek, U., Stefanini, M., & Velasco, R. (2006). Metabolite profiling of grape: Flavonols and anthocyanins. **J. Agric. Food Chem.**, *54*(20), 7692–7702.
- Mau, J.-L., Lin, H.-C., & Chen, C.-C. (2002). Antioxidant Properties of Several Medicinal Mushrooms. **J. Agric. Food Chem.**, *50*(21), 6072–6077.
- Mazza, G. J. (2007). Anthocyanins and heart health. **Ann. dell'Istituto Super. Di Sanità.**, *43*(4), 369–374.
- Mello, L. M. R. de, & Machado, C. A. E. (2013). Área Cultivada com Videiras no Rio Grande do Sul. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 87.
- Mello, L. (2014). **Vitivinicultura brasileira: panorama 2013**. Bento Gonçalves Embrapa Uva e Vinho (Comunicado Técnico, 115).
- Michael, H. W., Bultosa, G., & Pant, L. M. (2011). Nutritional contents of three edible oyster mushrooms grown on two substrates at Haramaya, Ethiopia, and sensory properties of boiled mushroom and mushroom sauce. **Int. J. Food Sci. Technol.**, *46*(4), 732–738.
- Mildner-Szkudlarz, S., Zawirska-Wojtasiak, R., Szwengiel, A., & Pacyński, M. (2011). Use of grape by-product as a source of dietary fibre and phenolic compounds in sourdough mixed rye bread. **Int. J. Food Sci. Technol.**, *46*(7), 1485–1493.
- Moradali, M.-F., Mostafavi, H., Ghods, S., & Hedjaroude, G.-A. (2007). Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). **Int. Immunopharmacol.**, *7*(6), 701–24.
- Mori, K., Kobayashi, C., Tomita, T., Inatomi, S., & Ikeda, M. (2008). Antiatherosclerotic effect of the edible mushrooms *Pleurotus eryngii* (Eringi), *Grifola frondosa* (Maitake), and *Hypsizygus marmoreus* (Bunashimeji) in apolipoprotein E-deficient mice. **Nutr. Res.**, *28*(5), 335–42.

- Moro, C., Palacios, I., Lozano, M., D'Arrigo, M., Guillamón, E., Villares, A. et al. (2012). Anti-inflammatory activity of methanolic extracts from edible mushrooms in LPS activated RAW 264.7 macrophages. **Food Chem.**, *130*(2), 350–355.
- Mulero, J., Pardo, F., & Zafrilla, P. (2010). Antioxidant activity and phenolic composition of organic and conventional grapes and wines. **J. Food Compos. Anal.**, *23*(6), 569–574.
- Mursu, J., Virtanen, J. K., Tuomainen, T.-P., Nurmi, T., & Voutilainen, S. (2014). Intake of fruit, berries, and vegetables and risk of type 2 diabetes in Finnish men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. **Am. J. Clin. Nutr.**, *99*(2), 328–33.
- Neveu, V., Perez-Jiménez, J., Vos, F., Crespy, V., du Chaffaut, L., Mennen, L., et al. (2009). Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. **Database (Oxford)**, *2010*, 9.
- Nguyen, A., Martinez, M., Stamos, M. J., Moyer, M. P., Planutis, K., Hope, C., & Holcombe, R. F. (2009). Clinical trial examining the effect of plant-derived resveratrol and grape powder on Wnt pathway target gene expression in colonic mucosa and colon cancer. **Cancer Manag. Res.**, *1*, 25–38.
- Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. **Free Radic. Biol. Med.**, *49*(4), 503–15.
- Northup, R. R., Dahlgren, R. A., & Mccoll, J. G. (1998). Polyphenols as regulators of plant-litter-soil interactions in northern California's pygmy forest: A positive feedback? **Biogeochemistry**, *42*(1-2), 189–220.
- Oliveira, D. M., Marques, D. R., Kwiatkowski, A., Monteiro, A. R. G., & Clemente, E. (2013). Sensory analysis and chemical characterization of cereal enriched with grape peel and seed flour. **Acta Sci. Technol.**, *35*(3), 427–431.
- Ormond, J. G. P., Paula, S. R. L. de, Filho, P. F., & Rocha, L. T. M. da. (2002). Agricultura orgânica: quando o passado é futuro. **BNDES Setorial**, *1*(15), 3–34.
- Özvural, E. B., & Vural, H. (2011). Grape seed flour is a viable ingredient to improve the nutritional profile and reduce lipid oxidation of frankfurters. **Meat Sci.**, *88*(1), 179–83.
- Padilha, M. M., Avila, A. A. L., Sousa, P. J. C., Cardoso, L. G. V, Perazzo, F. F., & Carvalho, J. C. T. (2009). Anti-inflammatory activity of aqueous and alkaline extracts from mushrooms (*Agaricus blazei* Murill). **J. Med. Food**, *12*(2), 359–364.
- Página, P. (2014). Mercado brasileiro de orgânicos deve crescer 35% em 2014. **(Disponível online)** [http://www.biobrazilfair.com.br/2014/noticias\\_detalhe.asp?noticia\\_id=28381&idioma=1#.VlseiDHF-PV](http://www.biobrazilfair.com.br/2014/noticias_detalhe.asp?noticia_id=28381&idioma=1#.VlseiDHF-PV) Acesso em 21 dez. 2014.

- Pardo, A., Perona, M. A., & Pardo, J. (2007). Indoor composting of vine by-products to produce substrates for mushroom cultivation. **Spanish J. Agric. Res.**, 5(3), 417–424.
- Paredes-López, O., Cervantes-Ceja, M. L., Vigna-Pérez, M., & Hernández-Pérez, T. (2010). Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life--a review. **Plant Foods Hum. Nutr.**, 65(3), 299–308.
- Parry, J. W. ., Li, H., Liu, J.-R., Zhou, K., Zhang, L., & Re, S. (2011). Antioxidant Activity, Antiproliferation of Colon Cancer Cells, and Chemical Composition of Grape Pomace. **Food Nutr. Sci.**, 02(06), 530–540.
- Pauli, P. A. D. E. (2010). Avaliação da composição química, compostos bioativos e atividade antioxidante em cogumelos comestíveis. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara.
- Paull, J. (1983). Lord Northbourne, the man who invented organic farming, a biography. **J. Org. Syst.**, 9(1), 31–53.
- Paz, M. da, Breyer, C., Longhi, R., & Oviedo, M. (2012). Determining the basic composition and total phenolic compounds of *Pleurotus sajor-caju* cultivated in three different substrates by solid state bioprocess. **J. Biotechnol. Biodivers.**, 3(2), 11–14.
- Peng, X., Ma, J., Cheng, K.-W., Jiang, Y., Chen, F., & Wang, M. (2010). The effects of grape seed extract fortification on the antioxidant activity and quality attributes of bread. **Food Chem.**, 119(1), 49–53.
- Pérez-Jiménez, J., Serrano, J., Taberner, M., Arranz, S., Díaz-Rubio, M. E., García-Diz, L., et al. (2009). Bioavailability of phenolic antioxidants associated with dietary fiber: plasma antioxidant capacity after acute and long-term intake in humans. **Plant Foods Hum. Nutr.**, 64(2), 102–7.
- Perin, E. C., Schott, I. B., Pinto, E. P., Manfroi, V., Rombaldi, C. V., & Zanuzo, M. R. (2014). Resveratrol e Propriedades Bioativas em Vinhos de Mesa Oriundos de Sistemas de Produção Orgânica e Convencional. **Sci. Electron. Arch.**, 5, 39–46.
- Pessoa, M. C. P. Y., Silva, A. de S., & Camargo, C. P. (2002). Qualidade e Certificação de Produtos Agropecuários. **Embrapa Meio Ambient. Para Discussão**, 14, 118.
- Philippoussis, A. N. (2009). **Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation**. In P. Singh nee Nigam & A. Pandey (Eds.), *Biotechnology for Agro-Industrial Residues* (pp. 163–196). Springer Netherlands.
- Piovesana, A., Bueno, M. M., & Klajn, V. M. (2013). Elaboração e aceitabilidade de biscoitos enriquecidos com aveia e farinha de bagaço de uva. **Brazilian J. Food Technol.**, 16(1), 68–72.

- Pirra, A. (2005). Caracterização e tratamento de efluentes vinícolas da Região Demarcada do Douro. **Tese de Doutorado**. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.
- Pirra, A. J. D. (2005). Estudos de tratabilidade aeróbia de efluentes vinícolas na Região Demarcada do Douro. *Rev Cien Agr* 28,3/4:255-264
- Poudel, P. R., Tamura, H., Kataoka, I., & Mochioka, R. (2008). Phenolic compounds and antioxidant activities of skins and seeds of five wild grapes and two hybrids native to Japan. **J. Food Compos. Anal.**, 21(8), 622–625.
- Pozuelo, M. J., Agis-Torres, A., Hervert-Hernández, D., Elvira López-Oliva, M., Muñoz-Martínez, E., Rotger, R., & Goñi, I. (2012). Grape antioxidant dietary fiber stimulates *Lactobacillus* growth in rat cecum. **J. Food Sci.**, 77(2), H59–62.
- Prado, R., Furlani, Z., & Godoy, H. T. (2007). Valor nutricional de cogumelos comestíveis Nutritional value of edible mushrooms. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 27(1), 154–157.
- Preeti, A., Pushpa, S., Sakshi, S., Jyoti, A., Chemistry, P., & Pharmacy, M. M. C. O. (2012). Antioxidant mushrooms: a review. **Int. Res. J. Pharm.**, 3(6), 65–70.
- 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. Crops Prod.**, 35(1), 178–184.
- Puttaraju, N. G., Venkateshaiah, S. U., Dharmesh, S. M., Urs, S. M. N., & Somasundaram, R. (2006). Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms. **J. Agric. Food Chem.**, 54(26), 9764–9772.
- Putzke, J. (2002). Os gêneros *Pleurotus* e *Lentinus* (Agaricales, Basidiomycota, fungos) no Brasil - I: lista de espécies e chaves de identificação. **Cad. Pesqui. Série Biol.**, 14(1), 67–75.
- Putzke, J., & Putzke, M. T. L. (2004). O Reino dos Fungos (3rd ed., p. 666). Rio Grande do Sul: EDUNISC.
- Rabello, T. (2014). Mercado interno de orgânicos cresceu 35% em 2013. (**Disponível online**) <http://vida-estilo.estadao.com.br/blogs/alimentos-organicos/mercado-interno-de-organicos-cresce-35/> Acesso em 21 dez. 2014.
- Ragunathan, R., Gurusamy, R., Palaniswamy, M., & Swaminathan, K. (1996). Cultivation of *Pleurotus* spp. on various agro-residues. **Food Chem.**, 55(2), 139–144.
- Ragunathan, R., & Swaminathan, K. (2003). Nutritional status of *Pleurotus* spp. grown on various agro-wastes. **Food Chem.**, 80(3), 371–375.

- Rampinelli, J. R. (2009). Produção de *Pleurotus djamor* e avaliação de seu potencial nutricional. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina.
- Ranzani, M. R. T. C., & Sturion, G. L. (1998). Avaliação da composição em aminoácidos de *Pleurotus* spp. cultivados em folha de bananeira. **Arch. Latinoam. Nutr.**, 48(4), 339–348.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic. Biol. Med.**, 26(9-10), 1231–1237.
- Ribeiro, B., Guedes de Pinho, P., Andrade, P. B., Baptista, P., & Valentão, P. (2009). Fatty acid composition of wild edible mushrooms species: A comparative study. **Microchem. J.**, 93(1), 29–35.
- Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Gonzaga, L. V., Caliari, V., Genovese, M. I., Gonçalves, A. E. D. S. S., & Fett, R. (2011). Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chem.**, 127(1), 174–179.
- Rodríguez Montealegre, R., Romero Peces, R., Chacón Vozmediano, J. L., Martínez Gascueña, J., & García Romero, E. (2006). Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. **J. Food Compos. Anal.**, 19(6-7), 687–693.
- Rolim, L. do N., Sales-Campos, C., Cavalcanti, M. A. de Q., & Urben, A. F. (2014). Application of Chinese Jun-Cao technique for the production of Brazilian *Ganoderma lucidum* strains. **Brazilian Arch. Biol. Technol.**, 57(3), 367–375.
- Rosales Soto, M. U., Brown, K., & Ross, C. F. (2012). Antioxidant activity and consumer acceptance of grape seed flour-containing food products. **Int. J. Food Sci. Technol.**, 47(3), 592–602.
- Ross, C. F., Hoyer, C., & Fernandez-Plotka, V. C. (2011). Influence of heating on the polyphenolic content and antioxidant activity of grape seed flour. **J. Food Sci.**, 76(6), C884–90.
- Rotava, R., Zanella, I., Ceron, C. S., & Alves, S. H. (2009). Atividade antibacteriana, antioxidante e tanante de subprodutos da uva. **Ciência Rural**, 39(3), 941–944.
- Sagdic, O., Ozturk, I., Yilmaz, M. T., & Yetim, H. (2011). Effect of grape pomace extracts obtained from different grape varieties on microbial quality of beef patty. **J. Food Sci.**, 76(7), M515–21.
- Sahota, A. (2012). **The Global Market for Organic Food and Drink**. In: IFOAM/FiBL, The World of Organic Agriculture. Statistics and Emerging Trends 2014. (F. and I. IFOAM, Bonn, FiBL, Ed.) (pp. 59–63). Geneva.

- Sánchez-Alonso, I., Jiménez-Escrig, A., Saura-Calixto, F., & Borderías, A. J. (2008). Antioxidant protection of white grape pomace on restructured fish products during frozen storage. **LWT - Food Sci. Technol.**, *41*(1), 42–50.
- Sánchez-Tena, S., Lizárraga, D., Miranda, A., Vinardell, M. P., García-García, F., Dopazo, J., et al. (2013). Grape antioxidant dietary fiber inhibits intestinal polyposis in ApcMin/+ mice: relation to cell cycle and immune response. **Carcinogenesis**, *34*(8), 1881–8.
- Sangeetha, P., Balu, M., Haripriya, D., & Panneerselvam, C. (2005). Age associated changes in erythrocyte membrane surface charge: Modulatory role of grape seed proanthocyanidins. **Exp. Gerontol.**, *40*(10), 820–828.
- Sant'Anna, V., Christiano, F. D. P., Marczak, L. D. F., Tessaro, I. C., & Thys, R. C. S. (2014). The effect of the incorporation of grape marc powder in fettuccini pasta properties. **LWT - Food Sci. Technol.**, *58*(2), 497–501.
- Satija, A., & Hu, F. B. (2012). Cardiovascular Benefits of Dietary Fiber. **Curr. Atheroscler. Rep.**, *14*(6), 505–514.
- Saura-calixto, F. (1998). Antioxidant Dietary Fiber Product: A New Concept and a Potential. **J. Agric. Food Chem.**, *46*, 4303–4306.
- Saura-Calixto, F. (2011). Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. **J. Agric. Food Chem.**, *59*(1), 43–9.
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Brenes, A., Viveros, A., & Goñi, I. (2009). Antioxidative effect of dietary grape pomace concentrate on lipid oxidation of chilled and long-term frozen stored chicken patties. **Meat Sci.**, *83*(3), 528–33.
- Schieber, A.; Stintzing, F. C.; Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds - Recent developments. **Tren. Food Sci. and Techn.** *12*, 41-413.
- Scola, G., Conte, D., Spada, P. W. D.-S., Dani, C., Vanderlinde, R., Funchal, C., & Salvador, M. (2010). Flavan-3-ol compounds from wine wastes with in vitro and in vivo antioxidant activity. **Nutrients**, *2*(10), 1048–59.
- Scola, G., Kappel, V., Moreira, J., Dal-Pizzol, F., & Salvador, M. (2011). Antioxidant and anti-inflammatory activities of winery wastes seeds of *Vitis labrusca*. **Ciênc. Rural**, *4*(7), 1233–1238.
- Selani, M. M., Contreras-Castillo, C. J., Shirahigue, L. D., Gallo, C. R., Plata-Oviedo, M., & Montes-Villanueva, N. D. (2011). Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. **Meat Sci.**, *88*(3), 397–403.
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., & Kakuda, Y. (2003). Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. **J. Med. Food**, *6*(4), 291–9.

- Silva, A. da, & Jorge, N. (2014). Cogumelos: compostos bioativos e propriedades antioxidantes. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas E Da Saúde**, 13(Esp), 375–384.
- Silva, L. M. L. R. da S. (2003). Caracterização dos Subprodutos da Vinificação. **Millenium**, 23, 123–133.
- Simões, C. M. O. (2010). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. (UFSC, Ed.) (6º ed. rev, p. 1102). Florianópolis.
- Singleton, V., & Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Vitic.**, 16(3), 144–158.
- Skrabule, I., Muceniece, R., & Kirhnere, I. (2013). Evaluation of Vitamins and Glycoalkaloids in Potato Genotypes Grown Under Organic and Conventional Farming Systems. **Potato Res.**, 56(4), 259–276.
- Smolinski, R., Guerreiro, E., & Raiher, A. (2011). Análise do mercado de produtos orgânicos: estudo de caso de feira em Ponta Grossa, PR. **Desenv. meio Amb.**, (23), 167–182.
- Soares, A. A., de Sá-Nakanishi, A. B., Bracht, A., da Costa, S. M. G., Koehnlein, E. A., de Souza, C. G. M., & Peralta, R. M. (2013). Hepatoprotective effects of mushrooms. **Molecules**, 18(7), 7609–30.
- Soares, M., Welter, L., Kuskoski, E. M., Gonzaga, L., & Fett, R. (2008). Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Rev. Bras. Frutic.**, 30(1), 59–64.
- Sousa, J. S. I. de. (1996). **Uvas para o Brasil** (2º ed., p. 791). Piracicaba: FEALQ.
- Sturion, G. L., & Oetterer, M. (1995). Composição química de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.) originados de cultivos em diferentes substratos. **Cienc. e Tecnol. Aliment.**, 15(2), 189–193.
- Sturion, L. G., & Ranzani, M. R. T. C. (2000). Composição em minerais de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil- *Pleurotus* spp e outras espécies desidratadas. **Arch. Latinoam. Nutr.**, 50(1), 102–108.
- Sudha, G., Vadivukkarasi, S., Shree, R. B. I., & Lakshmanan, P. (2012). Antioxidant activity of various extracts from an edible mushroom *Pleurotus eous*. **Food Sci. Biotechnol.**, 21(3), 661–668.
- Sun, Y., Ma, Y., Xu, Z., Yang, W., Mariga, A. M., Pang, G., et al. (2013). Immunoregulatory role of *Pleurotus eryngii* superfine powder through intercellular communication of cytokines. **Food Agric. Immunol.**, 1–14.
- TACO. (2011). Tabela brasileira de composição de alimentos. **NEPA - Unicamp**, 161.

- Taveira, V. C., & Novaes, M. R. C. G. (2007). Consumo de cogumelos na nutrição humana: uma revisão da literatura. **Comun. Ciênc. Saúde**, 18(4), 315–322.
- Teixeira, A., Baenas, N., Dominguez-Perles, R., Barros, A., Rosa, E., Moreno, D. a, & Garcia-Viguera, C. (2014). Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: a review. **Int. J. Mol. Sci.**, 15(9), 15638–78.
- Tipa, N. J. (2012). Produção de uva orgânica cresce na Serra Gaúcha. (**Disponível online**) <http://wp.clicrbs.com.br/campoelavouranagaucha/2012/07/19/producao-deuva-organica-cresce-na-serra-gaucha/?topo=52,1,1,171,e171> Acesso em 21 dez. 2014.
- Toaldo, I. M., Fogolari, O., Pimentel, G. C., de Gois, J. S., Borges, D. L. G., Caliari, V., & Bordignon-Luiz, M. (2013). Effect of grape seeds on the polyphenol bioactive content and elemental composition by ICP-MS of grape juices from *Vitis labrusca* L. **LWT - Food Sci. Technol.**, 53(1), 1–8.
- Tourino, S., Perez-Jimenez, J., Mateos-Martin, M. L., Fuguer, E., Pilar Vinardell, M., Cascante, M., & Torres, J. L. (2011). Metabolites in Contact with the Rat Digestive Tract after Ingestion of a Phenolic-Rich Dietary Fiber Matrix. **J. Agric. Food Chem.**, 59(11), 5955–5963.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. **Nutrients**, 2(12), 1231–46.
- Tseng, A., & Zhao, Y. (2012). Effect of Different Drying Methods and Storage Time on the Retention of Bioactive Compounds and Antibacterial Activity of Wine Grape Pomace (Pinot Noir and Merlot). **J. Food Sci.**, 77(9).
- Tseng, A., & Zhao, Y. (2013). Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. **Food Chem.**, 138(1), 356–65.
- Tungland, B. C., & Meyer, D. (2002). Polysaccharides (Dietary Fiber): Their Physiology and Role in Human Health and Food. **Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.**, 3(1), 90–109.
- Urban, A. F. (2004). Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada (2nd ed., p. 186). Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Desenvolvimento.
- Valiente, C., Arrigoni, E., Esteban, R. M., & Amado, R. (1995). Grape pomace as a potential food fiber. **J. Food Sci.**, 60(4), 818–820.
- Vieira, E., Paz, M. F. da, & Giovanni, R. N. (2007). Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de uva pela técnica Jun-Cao. **CD Room XVI Simpósio Nac. Bioprocessos**, 16.
- Vindima, A. (2013). Serra Gaúcha é referência nacional no cultivo de orgânicos. (**Disponível online**) <http://www.avindima.com.br/?p=3258> Acesso em 21 dez. 2014.

- Vindima, A. (2013). Bagaço da uva se transforma em energia. (**Disponível online**) <http://www.avindima.com.br/?p=1552> Acesso em 21 dez. 2014.
- Visioli, F., & Davalos, A. (2011). Polyphenols and cardiovascular disease: a critical summary of the evidence. **Mini Rev. Med. Chem.**, *11*(14), 1186–1190.
- Walker, R. M. (2013). Feasibility of developing wine grape pomace fortified baked goods for health promotion. **Tese de doutorado**. Oregon State University, University Honors College.
- Walker, R., Tseng, A., Cavender, G., Ross, A., & Zhao, Y. (2014). Physicochemical, nutritional, and sensory qualities of wine grape pomace fortified baked goods. **J. Food Sci.**, *79*(9), S1811–22.
- Wallace, T. C. (2011). Anthocyanins in Cardiovascular Disease. **Adv. Nutr. An Int. Rev. J.**, *2*(1), 1–7.
- Wang, J., Wu, C., Chen, Y., Chen, C., Hu, S., & Chang, S. (2014). Antihyperglycemic Activity of Exopolysaccharide Produced by Mushroom *Pleurotus ferulae* with Submerged Liquid Culture on Streptozotocin-induced Diabetic Rats. **J. Food Nutr. Res.**, *2*(7), 419–424.
- Wang, L.-S., & Stoner, G. D. (2008). Anthocyanins and their role in cancer prevention. **Cancer Lett.**, *269*(2), 281–290.
- Wendler, D. F. (2009). Sistema de gestão ambiental aplicado a uma vinícola : um estudo de caso. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul.
- Winter, C. K., & Davis, S. F. (2006). Organic Foods. **J. Food Sci.**, *71*(9), R117–R124.
- Woldegiorgis, A. Z., Abate, D., Haki, G. D., & Ziegler, G. R. (2014). Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia. **Food Chem.**, *157*, 30–6.
- Xia, E.-Q., Deng, G.-F., Guo, Y.-J., & Li, H.-B. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. **Int. J. Mol. Sci.**, *11*(2), 622–46.
- Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., & Terao, J. (1998). HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging of foods by using 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, *62*(6), 1201–1204.
- Yi, C., Shi, J., Kramer, J., Xue, S., Jiang, Y., Zhang, M., et al., (2009). Fatty acid composition and phenolic antioxidants of winemaking pomace powder. **Food Chem.**, *114*(2), 570–576.
- Yildiz, C., Gezer, E. D., Temiz, A., & Yildiz, S. (2002). Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. **Process Biochem.**, *38*(3), 301–306.

- Yu, J., & Ahmedna, M. (2013). Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. **Int. J. Food Sci. Technol.**, *48*(2), 221–237.
- Zadrazil, F., & Kurtzman, R. H. T. (1982). **The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics**. Em: Tropical mushrooms: Biological Nature and Cultivation methods. (C. U. Press, Ed.) (p. 493). Hong Kong.
- Zhu, F.-M., Du, B., & Li, J. (2014). Effect of ultrafine grinding on physicochemical and antioxidant properties of dietary fiber from wine grape pomace. **Food Sci. Technol. Int.**, *20*(1), 55–62.

## 9. ANEXO

### Autorização de coleta de amostras



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e microbiológico

<b>Número: 42678-1</b>	<b>Data da Emissão: 17/01/2014 16:49</b>
------------------------	--

#### Dados do titular

Nome: Bruna Mara Postinger	CPF: 023.510.040-43
----------------------------	---------------------

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa for em executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
3	O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	É necessário a obtenção de anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como de consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade
5	Este documento não abrange a coleta de vegetais hidróbios, tendo em vista que o Decreto-Lei nº 221/1967 e o Art. 36 da Lei nº 9.605/1998 estabelecem a necessidade de obtenção de autorização para coleta de vegetais hidróbios para fins científicos..
6	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviços on-line Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
7	Este documento não é válido para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e c) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/cgen">www.mma.gov.br/cgen</a> .

#### Táxons autorizados

#	Nível taxonômico	Táxon(s)
1	ESPÉCIE	Vitis labrusca

nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio Este documento (Comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e microbiológico) foi expedido com base na Instrução Normativa da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).



**Código de autenticação: 32391649**

Página 1/1