

## PESQUISA

**CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE BAGAÇO DE UVA MICELIADO PELO FUNGO *PLEUROTUS SAJOR-CAJU***

ZANGALLI, Maicon Rodrigo\*; GIOVANNI, Rodrigo Nogueira\*\*

## Resumo

O avanço da tecnologia aliado ao aumento das exigências dos consumidores vem incentivando as empresas produtoras de alimentos a aprimorarem seus processos e seus produtos visando à diminuição da geração de resíduos que podem contaminar o meio ambiente ou mesmo a reutilização destes. A reutilização do bagaço de uva, que é um subproduto presente em grande quantidade na Região do Alto Vale do Rio do Peixe possibilita a valorização deste subproduto, diminuindo as agressões ao meio ambiente, além de se apresentar como uma fonte de renda para outras indústrias. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar e comparar a capacidade antioxidante de extratos de bagaço de uva da cultivar *Cabernet Sauvignon* não miceliado e miceliado por fermentação em estado sólido pelo fungo *Pleurotus sajor-caju*. O bagaço de uva foi coletado em vinícolas da Região na safra 2010-2011 e, dessa forma, foram realizadas análises de capacidade antioxidante nos bagaços pelos métodos de oxidação em óleo de soja, sistema  $\beta$ -caroteno/Ácido Linoleico e sequestro de radical livre DPPH. Os resultados apontaram para a diminuição da capacidade antioxidante, na maioria dos casos, após o processo de miceliação.

Palavras-chave: Bagaço de uva. *Pleurotus sajor-caju*. Capacidade antioxidante.

---

\* Acadêmico do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade do Oeste de Santa Catarina; maicon\_z15@yahoo.com.br

\*\* Mestre em Ciência dos Alimentos; Professor coordenador do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade do Oeste de Santa Catarina; rodrigo.giovanni@unoesc.edu.br

## ***Antioxidant capacity of extracts of winery waste myceliated with pleurotus sajor-caju***

### ***Abstract***

*The advancement of technology associated with increased consumer's requirements have encouraged the food factories to improve their processes and their products in order to reduce the waste production or create new techniques for the reuse of waste which may contaminate the environment. The reuse of winery waste which is a by-product obtained in a large amount in the Region of the Alto Vale do Rio do Peixe enables the valorization of this by-product, reducing the impacts on the environment and representing an income opportunity for other industries. Therefore the aim of this study was evaluate and compare the antioxidant capacity of winery waste of Cabernet Sauvignon myceliated and non-myceliated by solid state fermentation with the fungi *Pleurotus sajor-caju*. The winery waste was obtained from wineries in the Region in 2010-2011 harvest. The antioxidant capacity of the winery wastes was determinated by the soybean oil oxidation method,  $\beta$ -caroten/Linoleic acid system and DPPH radical capture method. The results showed a decreasing in the antioxidant capacity, in most samples, after myceliation process.*

*Keywords: Winery waste. *Pleurotus sajor-caju*. Antioxidant capacity.*

## **1 INTRODUÇÃO**

A uva é uma das frutas que apresenta maior produção mundial (da ordem de 67 milhões de toneladas ao ano); a maior parte desse montante é destinada, a produção de vinhos, gerando um subproduto (bagaço) no processo de vinificação nas etapas de esmagamento e prensagem da fruta, o qual é obtido em grande quantidade, mas com poucas tecnologias que visem à reutilização deste subproduto (OLIVEIRA, 2010). Este subproduto apresenta alto conteúdo de compostos fenólicos, principalmente em razão da incompleta extração durante a vinificação (ROCKENBACH et al., 2007). Os compostos fenólicos fazem parte de uma grande classe de compostos denominados de metabólitos secundários, os quais podem apresentar funções essenciais, ou não, ao organismo vegetal. Acreditava-se que estes compostos não tivessem uma função específica no organismo vegetal; porém, algumas pesquisas vêm mostrando que os polifenóis se apresentam como substâncias essenciais para o crescimento e a reprodução das plantas. A maioria destes compostos são gerados sob condições de estresse, como infecções, ferimentos, radiação UV, entre outras. As suas propriedades antioxidantes vêm despertando muito interesse sobre estes compostos e seus benefícios à saúde humana (ROCKENBACH, 2008).

A procura por cogumelos em todas as partes do mundo vem aumentando, o que gera um estímulo à produção destes (MOURA, 2006). Os cogumelos do gênero *Pleurotus* tem recebido muita atenção, principalmente pelas suas características nutricionais e de cultivo. De forma geral, estes cogumelos são de fácil cultivo, principalmente pelas suas características rústicas, o que permite que estes possam ser cultivados em diversos substratos diferentes (PAZ et al., 2006). Para o cultivo de cogumelos é necessário um substrato. É neste substrato que estará disposto o micélio do fungo. Em decorrência do desenvolvimento do fungo, o substrato acaba por receber uma quantidade grande de substâncias provenientes do metabolismo dele, como alguns carboidratos do grupo  $\beta$ -glucanos que de forma geral são estimulantes da atividade imunológica do organismo que consumir este produto.

Além de receber estas substâncias, o substrato acaba por ficar mais degradável (AZEVEDO et al., 2009).

Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo cultivar cogumelos da espécie *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de uva da cultivar *Cabernet sauvignon*, posteriormente analisar o bagaço miceliado e não miceliado quanto à sua capacidade antioxidante por diferentes métodos e comparar os resultados obtidos para avaliar as modificações sofridas pelo substrato durante o processo de miceliação.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 AMOSTRAS

Os procedimentos foram realizados nos laboratórios da Unoesc Videira, utilizando amostras de bagaço de uva da cultivar *Cabernet Sauvignon* da safra 2010-2011, coletadas em vinícolas da região.

Visando diminuir alterações microbiológicas e físico-químicas, o bagaço recolhido foi secado em estufa a 60 °C por 15h (ROCKENBACH, 2008). Em seguida, este foi armazenado para ser posteriormente utilizado nas análises.

### 2.2 MICELIAÇÃO

O processo de miceliação foi realizado conforme metodologia JUN-CAO descrita por Paz et al. (2006), baseando-se em um sistema simples de fermentação no estado sólido. Inicialmente, inoculou-se o micélio do fungo *P. sajor-caju* mantido em tubos de *Potato Dextrose Ágar* (PDA) em arroz enriquecido com 5% de farelo de trigo e esterilizado. Após o período de incubação (15 dias a 25 °C), realizou-se a miceliação propriamente dita do bagaço de uva. Este bagaço de uva seco foi reidratado com água destilada e o pH da mistura foi regulado com o auxílio de NaOH 40% até aproximadamente 6. Em seguida, este foi colocado em sacos para esterilização e, posteriormente, esterilizados em autoclave a 121 °C por 1h. Após o resfriamento, realizou-se a inoculação de parte do arroz miceliado no bagaço, seguido de incubação por 45 dias a 25 °C. Após a frutificação, os cogumelos foram colhidos e o bagaço miceliado foi seco em estufa a 60 °C de 15-20h. Partindo do bagaço seco, este foi moído em liquidificador e armazenado até o momento da análise.

### 2.3 EXTRAÇÃO

Os procedimentos de extração foram realizados de acordo com o procedimento descrito por Lafka et al. (2007). Para produzir os extratos foram utilizados os bagaços secos e moídos finamente. A pesagem e adição do solvente foi feita respeitando a razão de 1:4 m:v, respectivamente bagaço:solvente. Foram utilizados quatro tipos de solventes, sendo: EA-Etanol/água 50%; EAA-Etanol/água 50% pH 1,5; M-Metanol; MA-Metanol pH 1,5. Após a pesagem e adição do solvente, submeteu-se a mistura à agitação em *shaker orbital* a 140 RPM, 30 °C por 8h. Após o término do período de extração, as misturas foram mantidas em repouso por 15 minutos e o sobrenadante foi filtrado em papel filtro. Os extratos foram armazenados sob refrigeração.

## 2.4 ANÁLISE DE CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

### 2.4.1 Método do óleo de soja

Para essa análise, seguiu-se o procedimento descrito por Malacrida et al. (2007). Em béqueres de 250 mL adicionou-se 1 mL de cada extrato previamente filtrado em papel-filtro. Os extratos foram secos em estufa de circulação de ar a 30 °C por 2h. Em seguida, adicionaram 100 mL de óleo de soja livre da adição de antioxidantes artificiais, obtidos de empresa extratora da região de Videira. Após prévia homogeneização, os béqueres foram mantidos em estufa a 60 °C por 20 dias; no primeiro dia e a cada cinco dias foi realizada a medição do índice de peróxido do óleo, segundo o método oficial descrito por Brasil (2005). Nas amostras, realizaram-se os brancos; para isso, adicionou-se 1 mL de cada solvente puro nos béqueres, os quais foram submetidos ao tratamento. Após o término dos 20 dias, comparou-se o índice de peróxido de cada amostra com o branco e se calculou o fator de proteção do óleo, que é equivalente à capacidade antioxidante do extrato.

### 2.4.2 Método $\beta$ -caroteno/Ácido linoleico

Essa análise foi realizada conforme procedimento descrito por Melo (2010). Dissolveu-se 10 mg de  $\beta$ -caroteno em 100 mL de clorofórmio. Em seguida, transferiram-se 3 mL dessa solução para um balão de evaporação e se adicionou 40 mg de ácido linoleico e 400 mg de Tween 40. A mistura foi homogeneizada e o clorofórmio foi evaporado em rota-evaporador a 40 °C por 30 minutos. Em outro balão foi preparada uma mistura de 40 mg de ácido linoleico e 400 mg de Tween 40. Separadamente, oxigenou-se água com corrente de oxigênio por 30 minutos. Aos balões, adicionaram-se 100 mL desta água de forma lenta para gerar completa homogeneização. Os extratos foram diluídos 1:10 e em tubos de ensaio adicionaram-se 50  $\mu$ L de cada extrato diluído. A cada tubo adicionaram-se 3 mL das emulsões e estes tubos foram agitados e incubados em banho-maria a 50 °C. Os solventes utilizados na extração foram usados como “brancos” e a oxidação do  $\beta$ -caroteno foi monitorada a cada 20 minutos por um período de 2h em espectrofotômetro equipado com leitor de tubos a 470 nm.

### 2.4.3 Método DPPH

Utilizou-se metodologia descrita por Rufino et al. (2007). Para esta metodologia se utilizaram os extratos diluídos em três concentrações diferentes, sendo: 1,7/10 mL; 5/10 mL; 8,3/10 mL, respectivamente, em todos os casos extrato/solvente utilizados, o volume de cada diluição foi aferido em balões volumétricos de 10 mL com o solvente utilizado na extração. Após a diluição, transferiu-se para tubos de ensaio uma alíquota de 100  $\mu$ L de cada diluição e se adicionaram 3,9 mL de solução 0,06 mM de DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil) em metanol. Foi realizada a homogeneização da mistura e a absorbância foi lida a 0 e 60 minutos em 417 nm frente ao metanol em um espectrofotômetro com adaptador para a leitura em tubo. Foram realizadas as leituras dos brancos com os solventes e a leitura da curva padrão de DPPH para a realização do cálculo.

## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O processo de miceliação foi realizado em triplicata, e após a realização de cada análise, os resultados foram analisados por meio da tabela de análise de variância com nível de significância de 1%, e as médias para cada amostra, em cada teste, foram comparadas pelo teste de comparação múltipla de Tukey, com nível de significância de 5%.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Fotografia 1 mostra o bagaço em processo de miceliação; os sacos com o bagaço em miceliação estão semissubmersos em água, permanecendo nessa condição até o momento da colheita. Já a Fotografia 2 mostra os cogumelos em ponto ótimo para a colheita. Assim, após a colheita, conforme descrito na metodologia, os cogumelos e o bagaço foram submetidos à secagem e armazenados para a realização de análises.

Fotografia 1 – Processo de frutificação do fungo *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de uva Cabernet Sauvignon



Fonte: os autores.

Fotografia 2 – Cogumelo pronto para a colheita



Fonte: os autores.

A Tabela 1 apresenta os resultados às análises de capacidade antioxidante para as diferentes metodologias estudadas ao bagaço de uva miceliado e não miceliado pelo fungo *Pleurotus sajor-caju*.

Tabela 1 – Resultados às análises de capacidade antioxidante de extratos de bagaço de uva miceliado e não miceliado pelo fungo *Pleurotus sajor-caju*

Amostras		% Atividade antioxidante				
Bagaço	Solvente	Óleo de soja	$\beta$ -caroteno/ $\acute{A}$ c. linoleico	1,7/10 mL	DPPH 5/10 mL	8,3/10 mL
Miceliado	EA	8,69 <sup>a</sup>	56,44 <sup>a</sup>	41 <sup>a</sup>	68 <sup>a</sup>	89 <sup>a</sup>
	EAA	15,2 <sup>b</sup>	75,51 <sup>b</sup>	40 <sup>a</sup>	70 <sup>a</sup>	82 <sup>acd</sup>
	M	2,78 <sup>cde</sup>	53,31 <sup>a</sup>	16 <sup>b</sup>	40 <sup>b</sup>	60 <sup>b</sup>
	MA	0,79 <sup>cd</sup>	72,29 <sup>ab</sup>	24 <sup>b</sup>	50 <sup>b</sup>	68 <sup>bd</sup>
Não miceliado	EA	13,38 <sup>d</sup>	90,79 <sup>bc</sup>	84 <sup>c</sup>	89 <sup>c</sup>	92 <sup>ac</sup>
	EAA	4,95 <sup>e</sup>	99,62 <sup>c</sup>	93 <sup>c</sup>	89 <sup>c</sup>	83 <sup>acd</sup>
	M	1,09 <sup>cd</sup>	86,88 <sup>bc</sup>	94 <sup>c</sup>	94 <sup>c</sup>	92 <sup>ac</sup>
	MA	7,4 <sup>ae</sup>	77,81 <sup>b</sup>	94 <sup>c</sup>	88 <sup>c</sup>	92 <sup>ac</sup>

Fonte: o autor.

Solventes: EA = Etanol:Água 50%; EAA = Etanol:Água 50% acidificado; M = Metanol; MA = Metanol acidificado.

\* Nota: Não existe diferença estatística em nível de 5% de probabilidade de erro para letras iguais em uma mesma coluna.

De forma geral, os resultados mostraram que o processo de miceliação afetou consideravelmente a capacidade antioxidante do extrato. Pode-se observar que o teste estatístico apresentou mais diferenças entre os grupos miceliado e não miceliado, apontando quase sempre para a redução da capacidade antioxidante após o processo de miceliação.

Foi possível observar também a influência direta do solvente na capacidade antioxidante do extrato. Os maiores valores de capacidade antioxidante foram conseguidos utilizando solução 50% etanol como solvente. Segundo Rockenbach et al. (2008), o sistema de solventes utilizado para realizar a extração apresenta influência direta na capacidade antioxidante do extrato, uma vez que o tipo de solvente e a sua polaridade podem influenciar na transferência de elétrons e átomos de hidrogênio, o que impacta diretamente na capacidade antioxidante do extrato.

Conforme Zuanazzi e Montanha (2003 apud RIBEIRO, 2007), em razão das características dos ácidos fenólicos e pela forma em que eles podem ser encontrados na natureza, podem ser extraídos de uma matriz utilizando solventes polares como a água e o etanol. Para a extração de flavonoides, utilizam-se solventes de polaridade crescente. Uma vez que os polifenóis são as principais substâncias responsáveis pela atividade antioxidante do bagaço de uva, é fundamental definir adequadamente o solvente de extração.

Rockenbach (2008) verificou a influência do tipo de solvente na extração de compostos fenólicos de bagaço de uva de duas variedades diferentes (Ancelota e Tannat), e obteve como resultado que a utilização de mistura de solventes orgânicos com água e ácido clorídrico a 0,1%, gerando um solvente mais polar, retornou aos melhores resultados de extração. A utilização de etanol e acetona, ambos a 50% retornou ao melhor valor final de concentração de polifenóis da ordem de 7,32 e 7,95 g GAE.100 g<sup>-1</sup>, respectivamente para etanol 50% e acetona 50%.

Lafka et al. (2007) também observaram que a utilização de etanol 50% é mais eficiente na extração de compostos fenólicos de bagaço de uva da cultivar *Agiorgitiko* em comparação à extração com metanol, etanol absoluto, isopropanol e acetato de etila.

Observou-se, de forma geral, que a acidificação do solvente durante o processo de extração, a qual aumenta a extração de polifenóis conforme evidenciado por Lafka et al. (2007), não apresentou influência lógica na capacidade antioxidante do extrato, apontando algumas vezes para o aumento da capacidade antioxidante após a acidificação e outras para a redução da capacidade antioxidante do extrato após a acidificação.

No estudo das condições ideais de extração realizado por Cruz et al. (2010), verificou-se que quando se realiza o processo de extração utilizando uma temperatura de 30 °C, pH 4 e razão solvente:substrato igual a 3, obtém-se o maior valor de atividade antioxidante em extratos de bagaço de uva.

Conforme Rockenbach (2008), pelo fato de os polifenóis estarem enquadrados em uma classe muito ampla de substâncias, apresentam polaridades diversas, portanto encontrando dificuldades, em alguns casos, onde a suspensão destas substâncias é fundamental, como no caso da metodologia do óleo de soja na qual a suspensão dos polifenóis no meio é fundamental.

## 4 CONCLUSÃO

Observou-se com os resultados obtidos, que a miceliação, mesmo reduzindo os valores de capacidade antioxidante dos extratos de bagaço de uva, pode ser realizada visando à produção de cogumelos a partir de subprodutos da agroindústria; dessa forma, é possível aproveitar melhor esse subproduto da produção de vinhos, abundante na Região do Meio-Oeste catarinense e destinado na sua maioria para a adubação.

Ficou evidente, após a interpretação dos resultados, que as variáveis do processo de extração podem afetar diretamente a capacidade antioxidante do extrato obtido; estas variáveis devem ser estudadas mais a fundo para encontrar a melhor condição de extração e se obter um extrato com a máxima capacidade antioxidante possível.

## REFERÊNCIAS

AZEVEDO, Raquel Santos et al. Utilização do composto exaurido de *Pleurotus sajor-caju* em rações de frango de corte e seus efeitos no desempenho dessas aves. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 31, n. 2, p. 139-144, 2009.

BRASIL. Agência de vigilância sanitária. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed, Brasília: Ministério da saúde, 2005.

CRUZ, Ana Paula Gil et al. Extração de compostos bioativos do bagaço de uva (*Vitis vinifera* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 21. 2010, Natal. **Anais eletrônicos...** Natal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2010. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/873891>>. Acesso em: 14 ago. 2012.

LAFKA, Theodora-Ioanna; SINANOGLU, Vassilia; LAZOS, Evangelos S. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1206-1214, 2007.

MALACRIDA, Cássia Roberta et al. Composição química e atividade antioxidante de extratos de sementes de melão amarelo em óleo de soja. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, Centro de Ciências Agrárias, v. 38, n. 4, p. 372-376, out./dez. 2007.

MELO, Priscilla Siqueira. **Composição química e atividade biológica de resíduos agroindustriais.** Dissertação (Mestrado em Ciências)–Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2010.

MOURA, Ligiane Mariani. **Empresa de produção e comercialização de cogumelos no município de Videira-SC.** 2006. 82 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Administração) – Universidade do Oeste de Santa Catarina, Videira, 2006.

OLIVEIRA, Daniela Alves de. **Caracterização fitoquímica e biológica de extratos obtidos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) das variedades merlot e syrah.** 2010. 211 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)–Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, 2010.

PAZ, Marcelo Fossa da et al. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de Uva Isabel. **Evidência**, Joaçaba: Ed. Unoesc, v. 6, n. 2. p. 187-194. 2006.

RIBEIRO, Érika Taciana Santana. **Emprego de técnicas de extração a alta e baixa pressão para obtenção de polifenóis antioxidantes do subproduto agroindustrial da maçã.** 2007. 133 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)–Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

ROCKENBACH, Ismael Ivan. **Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas (*Vitis vinifera L.* e *Vitis labrusca L.*).** 2008. 113 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)–Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

ROCKENBACH, Ismael Ivan et al. Atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva das variedades regente e pinot noir (*Vitis vinifera*). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 2, p. 158-163, 2007.

\_\_\_\_\_. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades tannat eancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 238-244, 2008.

RUFINO, Maria do Socorro Moura et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre dpph. **Comunicado Técnico 127**, Fortaleza: jul. 2007. Disponível em: <[http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/cd/jss/acervo/Ct\\_127.pdf](http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/cd/jss/acervo/Ct_127.pdf)>. Acesso em: 21 fev. 2013.

VENTURA, Rodrigo. **Mudanças no perfil do consumo no Brasil: principais tendências nos próximos 20 anos.** 2010. Disponível em: <<http://www.macroplan.com.br/Documentos/ArtigoMacroplan2010817182941.pdf>>. Acesso em: 21 fev. 2013.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente ao Governo do Estado de Santa Catarina mediante o Artigo n. 170 pelas bolsas de iniciação científica e à Unoesc, por fornecer a infraestrutura laboratorial para a realização do estudo.

Recebido em 01 de abril de 2013

Aceito em 21 de junho de 2013