



XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Alimentação: a árvore que sustenta a vida

X CIGR Section IV International Technical Symposium

Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 • FAURGS • GRAMADO/RS

EFEITO ANTIMICROBIANO DO EXTRATO DE BAGAÇO DE UVA MICROENCAPSULADO EM SALSICHAS DE PESCADO

G.N. Mattos^{1*}, D. A. Santos², R. Torrezan³, R. V. Tonon³, A. A.L. Furtado³, L. M.C. Cabral³

^{1*}Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Tecnologia – CEP: 23890-000 – Seropédica – RJ – Brasil, Telefone: +55(21)36229624 – email: (nunesmattos.gabriela@gmail.com).

²Universidade Estadual do Rio de Janeiro – CEP: 20550-900 – Rio de Janeiro – RJ – Brasil – email: (d.almeidasantos@yahoo.com.br).

³Embrapa Agroindústria de Alimentos – CEP: 23020-470 – Rio de Janeiro – RJ – Brasil, Telefone: +55(21)36229701 – Fax: +55(21)36229713 – email: (renata.torrezan@embrapa.br; renata.tonon@embrapa.br; angela.furtado@embrapa.br; lourdes.cabral@embrapa.br).

RESUMO – Bagaço de uva é uma boa fonte de compostos fenólicos, desempenhando capacidade antimicrobiana, sendo considerado um aditivo natural. Entretanto, compostos fenólicos são facilmente deteriorados, portanto o emprego da microencapsulação torna-se vantajoso, aumentando a estabilidade desses compostos. O trabalho avaliou o conteúdo de compostos fenólicos, antocianinas totais e monoméricas e a capacidade antioxidante do extrato de bagaço de uva concentrado (EBC) e microencapsulado (EBM), além do efeito desse pó como antimicrobiano em salsichas de pescado. O EBC e o EBM foram analisados, sendo o EBM a 0,5% (T0,5%) adicionado à formulação da salsicha que foi analisada microbiologicamente. Os resultados encontrados após a análise dos extratos foram superiores quando comparados com a literatura. Foi observado que o tratamento T0,5% promoveu uma manutenção da qualidade microbiológica da salsicha de pescado, inibindo o crescimento dos microorganismos analisados. Portanto, o extrato de bagaço de uva microencapsulado pode ser utilizado como substituinte de antimicrobianos sintéticos.

ABSTRACT – Grape pomace is a good source of phenolic compounds, having antimicrobial capacity and considered a natural additive. However, phenolics are easily deteriorated, so microencapsulation is useful, increasing the stability of these compounds. This study evaluated the content of phenolic compounds, total anthocyanins and monomeric and the antioxidant capacity of concentrated grape pomace extract (CPE) and microencapsulated (MPE). Besides the effect of this powder as an antimicrobial in fish sausages. The CPE and MPE were analyzed, the MPE 0.5% (T0,5%) was added to the sausage formulation that was analyzed microbiologically. The results after the analysis of the extracts were higher when compared to literature. It was observed that T0,5% treatment promoted maintenance of the microbiological quality of fish sausage, inhibiting the growth of microorganisms. Therefore, the microencapsulated grape pomace extract can be used as the substituent of synthetic antimicrobials.

PALAVRAS CHAVES: Bagaço de uva, agentes antimicrobianos, salsicha, pescado, compostos fenólicos

KEYWORDS: Grape pomace, antimicrobial agents, sausage, fish, phenolic compounds



1. INTRODUÇÃO

A uva é considerada uma excelente fonte de compostos fenólicos. Estes além de conferir características sensoriais à fruta, possuem propriedades funcionais e um elevado potencial antioxidante e antimicrobiano.

A vinificação da uva tem como principais resíduos, o bagaço, a borra, a vinhaça, entre outros. Estes, mesmo após o processo, ainda apresentam altos teores de compostos bioativos (José Jara-Palacios et al., 2014).

O bagaço de uva é considerado o principal resíduo sólido desse processo, constituindo cerca de 20% do peso das uvas *in natura*, sendo formado por casca, semente e engaço, apresentando-se como uma boa fonte de compostos bioativos e de fibras alimentares (Yu & Ahmedna, 2013). Os principais compostos bioativos, presentes nas uvas e seus subprodutos, são os compostos fenólicos (Granato et al., 2016). Os compostos fenólicos desempenham importante papel no bagaço de uva, uma vez que possuem capacidade antioxidante, antimicrobiana, além de propriedades funcionais (Flamini et al., 2013). Ultimamente, os consumidores estão mais conscientizados sobre a toxicidade dos aditivos sintéticos, portanto se interessando por produtos considerados mais naturais (Iglesias et al., 2010). Devido à sua rica composição e ao seu baixo custo, o bagaço de uva pode ser utilizado na indústria como conservante natural, substituindo os aditivos sintéticos, podendo assim promover aumento da vida de prateleira, através de inibição da atividade microbiana e da oxidação lipídica, melhorando a estabilidade e a segurança microbiológica de produtos (Garrido & Borges, 2013; Ryu et al., 2014). Produtos à base de pescados são susceptíveis à deterioração, devido à sua elevada concentração de lipídios insaturados, apresentando assim limitada vida de prateleira e maior risco de proliferação microbiana, sendo necessário o uso de aditivos de forma a melhor preservá-los (Ghaly et al., 2010; Iglesias et al., 2010).

A tecnologia de microencapsulação permite o aumento da estabilidade de compostos bioativos durante o armazenamento, como os compostos fenólicos os quais são altamente susceptíveis à degradação (Castañeda-Ovando et al., 2009). Uma das técnicas de encapsulação mais empregadas é o *spray drying*, a qual utiliza agentes encapsulantes, como maltodextrina e goma arábica, de modo a proteger o composto de interesse (Ahmed et al., 2010). A técnica é bastante utilizada pela indústria alimentícia já que é considerado um método de baixo custo, além de elaborar produtos de alta qualidade (Tan et al., 2015).

O objetivo do trabalho foi avaliar o conteúdo de compostos fenólicos, de antocianinas totais e monoméricas e a capacidade antioxidante do extrato de bagaço de uva concentrado e do extrato de bagaço de uva microencapsulado e avaliar o efeito desse pó como antimicrobiano em salsichas de pescado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostra

Foram utilizadas amostras de bagaço de uva da variedade *Syrah*, oriundas da região de Petrolina, cedido gentilmente pela Vinícola Miolo. O produto foi seco através de secagem convectiva, triturado, transportado e armazenado sob congelamento em temperatura de -18°C . O bagaço de uva triturado foi submetido à extração hidroetanólica (etanol 50%; razão solvente: substrato 1:10). O extrato foi concentrado por rotaevaporação à 30°C por 1 hora, sendo armazenado sob congelamento à -18°C . O extrato foi adicionado ao agente carreador (maltodextrina) e a água destilada, sendo a homogeneização realizada sob agitação magnética, sendo a proporção de 1:1 (agente encapsulante:teor de sólidos totais do extrato). A microencapsulação foi realizada em um *spray dryer* de escala



laboratorial LabPlant SD-06 (Inglaterra) com temperatura de entrada 180°C e temperatura de saída de 64°C.

2.2. Métodos Analíticos

Todas as análises foram realizadas para o extrato de bagaço de uva concentrado (EBC) e extrato de bagaço de uva microencapsulado (EBM), sendo procedidas em triplicata. As salsichas de pescado foram posteriormente analisadas microbiologicamente e também em relação à capacidade antioxidante.

Elaboração da salsicha de pescado: Foi utilizada a metodologia descrita por Canhos and Dias (1981) para a elaboração das salsichas. Foram elaboradas salsichas sem e com extrato de bagaço de uva microencapsulado (EBM). Na salsicha com extrato utilizou-se 0,5% de EBM. Para a formulação da salsicha foram utilizados o surimi e o filé de pargo, além dos demais ingredientes tradicionais para salsichas. As salsichas foram cozidas a vapor até a temperatura interna de 72 °C. Após o cozimento, o produto foi resfriado, embalado e armazenado sob refrigeração até o momento das análises.

Determinação do conteúdo de fenólicos totais: Os conteúdos de compostos fenólicos totais foram determinados espectrofotometricamente através do método Folin-Ciocalteu descrito por SINGLETON and ROSSI (1965) modificado por Georgé et al. (2005).

Determinação das antocianinas totais: O conteúdo de antocianinas totais e monoméricas foi determinado através do método de pH diferencial descrito por Giusti and Wrolstad (2001).

Determinação da capacidade antioxidante através de método ABTS: A capacidade antioxidante das amostras de extrato (EBC e EBM), além das salsichas de pescado com e sem extrato de bagaço de uva foi aferida através da utilização do método ABTS descrito por Re et al. (1999).

Análises microbiológicas: Foram realizadas contagens de *Salmonella* sp., coliformes a 35°C (UFC/L), coliformes a 45°C e contagem de estafilococos coagulase positiva (UFC/g) de acordo com a RDC nº 12 (BRASIL, 2001).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 indica os valores encontrados de antocianinas totais e monoméricas, conteúdo de fenólicos totais e capacidade antioxidante no extrato bruto, extrato concentrado e no extrato microencapsulado. De acordo com os resultados encontrados, o extrato microencapsulado apresentou valores inferiores ao extrato rotaevaporado para todos os parâmetros, havendo percentuais de retenção variando entre 22,71 a 96,32 %. A elevada temperatura utilizada durante o processo pode ter promovido a degradação do teor de antocianinas, assim como o conteúdo de fenólicos totais e a atividade antioxidante da amostra analisada, uma vez que essas substâncias são altamente susceptíveis à degradação pelo emprego de altas temperaturas. Tal fenômeno foi observado em trabalhos desenvolvidos por Tonon et al. (2008) e Silva et al. (2013), onde observou-se uma menor retenção de antocianinas associado ao acréscimo das temperaturas aplicadas no processo. No presente trabalho, observou-se uma elevada retenção das antocianinas totais (92,59%), assim como a atividade antioxidante (96,32%), enquanto as antocianinas monoméricas apresentaram perda significativa (22,71%). Os resultados encontrados foram superiores aos encontrados por Souza et al. (2014), no qual se observou valores na ordem de 6,6 a 19,3 mg de equivalente de malvidina-3,5-diglucosídeo/g de peso seco de antocianinas totais e 19,3 a 48,2 mg de equivalente de ácido gálico/g de peso seco para compostos fenólicos totais. Em estudo realizado por Kuck & Noreña (2016), observou-se valores inferiores de compostos fenólicos totais, variando de 21,37 a 26,26 mg de equivalente de ácido gálico/g de peso seco e melhores resultados para o conteúdo de antocianinas monoméricas, os quais variaram de 17,07 a 21,15 mg de equivalente de malvidina-3,5-diglucosídeo/g de peso seco. Deve-se atentar para o fato de que diferenças em relação ao conteúdo de compostos fenólicos totais também estão relacionadas ao tipo e tempo de extração, além de condições ambientais e tipo de cultivar,



explicando assim a diversidade de valores de concentrações encontradas na literatura (Berli et al., 2008). A elevada concentração de compostos fenólicos está associada ao elevado poder antimicrobiano, conforme relatado em estudos prévios, onde avaliou-se o efeito dessas substâncias nas membranas celulares de micro-organismos (Nazer et al, 2005; Yuste & Fung, 2003).

Foi observada também uma relação entre a composição de compostos fenólicos e capacidade antioxidante das amostras, uma vez que, em uvas e seus subprodutos, esses são os principais responsáveis pelo efeito antioxidante atribuídos aos mesmos. Como observado no trabalho, o EBC apresentou maior concentração de compostos fenólicos totais em relação ao EBM, assim como uma maior atividade antioxidante.

Tabela 1 - Resultados encontrados nas análises de antocianinas totais e monoméricas, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante através do método ABTS para o extrato de bagaço de uva concentrado (EBC) e extrato de bagaço de uva microencapsulado (EBM)

| Análise | Extrato concentrado | Extrato microencapsulado | Retenção (%) |
|--|---------------------|--------------------------|--------------|
| Antocianinas totais¹ | 9,68 ± 0,05* | 8,96 ± 0,10* | 92,59% |
| Antocianinas monoméricas¹ | 8,04 ± 0,01* | 1,83 ± 0,19* | 22,71% |
| Compostos fenólicos totais² | 95,60 ± 0,22* | 65,32 ± 1,30* | 68,32% |
| Atividade antioxidante (ABTS)³ | 1210,51 ± 152,80* | 1165,98 ± 11,27* | 96,32% |

* Valores expressos como média ± desvio padrão

¹ Resultados expressos em mg de equivalente de malvidina-3,5-diglicosídeo/g de peso seco

² Resultados expressos em mg de equivalente de ácido gálico/g de peso seco

³ Resultados expressos em mg de trolox/g de peso seco

A Tabela 2 apresenta os resultados encontrados na avaliação da capacidade antioxidante da salsicha com extrato de bagaço de uva microencapsulado e para a salsicha controle. Os resultados indicaram que as amostras adicionadas de EBM apresentaram uma maior capacidade antioxidante quando em comparação com as amostras controle, indicando que os compostos fenólicos presentes no bagaço de uva permanecem ativos na matriz. Entretanto a diferença entre o tratamento e o controle foi proporcional à concentração de extrato microencapsulado utilizado.

Tabela 2 - Resultados encontrados na análise de capacidade antioxidante através do método ABTS para a salsicha de pargo com extrato de bagaço de uva microencapsulado e para a salsicha controle

| Análise | Controle | T 0,5% ¹ |
|--|--------------|---------------------|
| Atividade antioxidante (ABTS)² | 1,94 ± 0,10* | 2,57 ± 1,08* |

* Valores expressos como média ± desvio padrão

¹T 0,5%: Salsicha com extrato de bagaço de uva microencapsulado

²Resultados expressos em mg de trolox/g de extrato

A adição de EBM não afetou significativamente as características microbiológicas das salsichas de pescado, entretanto promoveram manutenção da qualidade microbiológica do produto (Tabela 3), dentro dos limites preconizados pela legislação. Esses resultados indicam que os produtos não sofreram contaminação durante o seu processamento. Os resultados estão de acordo com a literatura, uma vez que em trabalho desenvolvido por (Sagdic et al.,2011), observou-se que a adição de



extratos de bagaços oriundos de diferentes variedades de uva promoveram efeito antimicrobiano, em produto a base de carne.

Tabela 3: Resultados observados nas análises microbianas realizadas nas salsichas elaboradas

| Nome da Análise | Controle | T 0,5% |
|---|-----------|-----------|
| <i>Salmonella</i> sp. ¹ | Ausência | Ausência |
| Coliformes a 35°C ² | <3 | <3 |
| Coliformes a 45°C ² | <3 | <3 |
| Contagem de estafilococos coagulase positiva ³ | <1,0 x 10 | <1,0 x 10 |

¹Ausência em 25 mL; ² UFC/mL; ³UFC/g

4. CONCLUSÃO

O processo de *Spray drying*, nas condições realizadas, promoveu degradação térmica no extrato, uma vez que esse apresentou menores concentrações de antocianinas totais e monoméricas, compostos fenólicos totais, assim como uma menor atividade antioxidante. Entretanto, os resultados confirmaram a natureza rica dos extratos elaborados, uma vez que esses apresentaram valores de compostos com capacidade antioxidante superiores a demais trabalhos encontrados na literatura. Como observado, a adição de EBM 0,5% promoveu manutenção da qualidade microbiológica de salsichas de pescado, através de resultados microbiológicos satisfatórios e não alterou a capacidade oxidante da matriz. Os resultados indicam que a utilização do EBM pode ser uma alternativa a ser explorada pela indústria de alimentos como antimicrobiano natural de baixo custo, substituindo o uso de aditivos sintéticos. Entretanto, são necessários maiores estudos a fim de melhor avaliar concentração adequada e seus efeitos durante a vida de prateleira.

5. REFERÊNCIAS

- Ahmed, M., Akter, M. S., Lee, J.-C., & Eun, J.-B. (2010). Encapsulation by spray drying of bioactive components, physicochemical and morphological properties from purple sweet potato. *LWT - Food Science and Technology*, 43(9), 1307-1312.
- Berli, F., D'Angelo, J., Cavagnaro, B., Bottini, R., Wuilloud, R., & Silva, M. F. (2008). Phenolic Composition in Grape (*Vitis vinifera* L. cv. Malbec) Ripened with Different Solar UV-B Radiation Levels by Capillary Zone Electrophoresis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9), 2892-2898.
- BRASIL. (2001). Resolução RDC nº 12. Retrieved 23 de outubro, 2015, from http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES
- Canhos, D. A., & Dias, E. L. (1981). *Tecnologia de carne bovina e produtos derivados*. São Paulo: Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. d. L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859-871.
- 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. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(10), 19651-19669.
- Garrido, J., & Borges, F. (2013). Wine and grape polyphenols — A chemical perspective. *Food Research International*, 54(2), 1844-1858.
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. J. (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1370-1373.
- Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S., & Brooks, M. S. (2010). Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: Review. *American Journal of Applied Sciences*, 7.



XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Alimentação: a árvore que sustenta a vida

X CIGR Section IV International Technical Symposium

Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 • FAURGS • GRAMADO/RS

- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Granato, D., Santos, J. S., Maciel, L. G., & Nunes, D. S. (2016). Chemical perspective and criticism on selected analytical methods used to estimate the total content of phenolic compounds in food matrices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 80, 266-279.
- Iglesias, J., Pazos, M., Lois, S., & Medina, I. (2010). Contribution of Galloylation and Polymerization to the Antioxidant Activity of Polyphenols in Fish Lipid Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(12), 7423-7431.
- José Jara-Palacios, M., Hernanz, D., Luisa Escudero-Gilete, M., & Heredia, F. J. (2014). Antioxidant potential of white grape pomaces: Phenolic composition and antioxidant capacity measured by spectrophotometric and cyclic voltammetry methods. *Food Research International*, 66, 150-157.
- Kuck, L. S., & Noreña, C. P. Z. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 194, 569-576.
- Nazer, A. I., Kobilinsky, A., Tholozan, J. L., & Dubois-Brissonnet, F. (2005). Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella* sv. Typhimurium: a synergistic effect? *Food Microbiology*, 22(5), 391-398.
- 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 Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Ryu, K. S., Shim, K. S., & Shin, D. (2014). Effect of Grape Pomace Powder Addition on TBARS and Color of Cooked Pork Sausages during Storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 34(2), 200-206.
- 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. *Journal of Food Science*, 76(7), M515-M521.
- Silva, P. I., Stringheta, P. C., Teófilo, R. F., & de Oliveira, I. R. N. (2013). Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 538-544.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic-acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 144-168.
- Souza, V. B. d., Fujita, A., Thomazini, M., da Silva, E. R., Lucon Jr, J. F., Genovese, M. I., et al. (2014). Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. *Food Chemistry*, 164, 380-386.
- Tan, S. P., Kha, T. C., Parks, S. E., Stathopoulos, C. E., & Roach, P. D. (2015). Effects of the spray-drying temperatures on the physicochemical properties of an encapsulated bitter melon aqueous extract powder. *Powder Technology*, 281, 65-75.
- Tonon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. D. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 88(3), 411-418.
- Yu, J., & Ahmedna, M. (2013). Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(2), 221-237.
- Yuste, J., & Fung, D. Y. C. (2003). Evaluation of *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica* and *Staphylococcus aureus* counts in apple juice with cinnamon, by conventional media and thin agar layer method. *Food Microbiology*, 20(3), 365-370.