

## COMPOSTOS FENÓLICOS DE EXTRATO DE UVA ISABEL (*VITIS LABRUSCA*) E SUA AÇÃO EM BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS

Sheila L. Scher, Renata H. Barros Fuchs\*, Gisele T. de Souza Sora, Laura P. Mardigan, Angela Kwiatkowski

UTFPR - Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Campo Mourão, PR.

**Resumo:** A uva Isabel é uma das principais cultivares de *Vitis labrusca*, sendo destaque como uva de mesa comum, variedade rústica e, portanto, menos exigente. O objetivo deste trabalho foi a obtenção do extrato de uva Isabel e a avaliação de sua atividade sobre o crescimento de Bactérias Ácido-Láticas. Avaliou-se o efeito do extrato de uva e de etanol sobre o crescimento bacteriano. O teor médio de fenólicos totais no extrato de uva Isabel foi de 14,80mg/mL, quantidade baixa quando comparada com a literatura. A concentração de compostos fenólicos do extrato de uva pode ser influenciada pelo tipo de extração e procedimentos empregados na produção do extrato e pelas reações que ocorre durante seu armazenamento. O extrato de uva Isabel mostrou-se mais eficaz que o etanol na redução da quantidade de Bactérias Ácido-Láticas.

**Palavras-Chave:** Compostos fenólicos. Uva Isabel. Bactérias ácido-láticas.

**Phenolic compounds of grape extract (*Vitis labrusca*) and their action on lactic acid bacteria.** The Isabel grape is one of the main cultivars of *Vitis labrusca*, and it's a common, rustic and less demanding variety. The aim of this work was the obtention of Isabel grape extract and the evaluation of its activity on the growth of Lactic Acid Bacteria. The effect of grape extract and ethanol on lactic acid bacteria growth was evaluated. The average of total phenolic compounds in the Isabel grape extract was 14,80mg/mL, less than literature data. The amount of phenolic compounds on grape extract can be influenced by the type of extraction and techniques used in the production of the extract and by the reactions that occurs during its storage. The Isabel grape extract was more efficient on reducing Lactic acid bacteria growth than ethanol.

**Keywords:** Phenolic compounds. Isabel grape. Lactic acid bacteria.

### 1 Introdução

Em 2007, 47,02% das uvas produzidas no Brasil foram destinados à elaboração de vinhos, sucos, destilados e outros derivados, gerando resíduos que podem ser aproveitados como ingredientes para elaboração de novos produtos. Os subprodutos apresentam, cada vez mais, um interesse econômico acrescido ainda da importância ambiental (SILVA *et al.*, 2001).

Dentre as frutas e vegetais, as uvas são consideradas uma das maiores fontes de compostos fenólicos (COSTA *et al.*, 2003).

Os compostos fenólicos podem ser divididos em dois grupos: ácidos fenólicos e compostos relacionados flavonóides. Os ácidos fenólicos mais comuns em uvas incluem os ácidos cinâmicos (ácido coumárico, ácido caféico, ácido ferúlico, ácido clorogênico e ácido neoclorogênico) e os ácidos benzóicos (ácido p-hidroxibenzoico, ácido vanílico e ácido gálico). Os flavonóides incluem falvono-3-ol (como catequina, epicatequina polímero e éster com ácido galático ou glicose), flavanonas coloridas e antocianinas vermelhas e azuis (SHIRAHIGUE, 2008).

O extrato de uva vem sendo estudado como antioxidante natural. Sua composição química e propriedades biológicas têm sido avaliadas e foi encontrada a presença de altos teores de compostos fenólicos, os quais têm demonstrado atividades antimutagênica e antiviral (SHIRAHIGUE, 2008). Porém, ainda faltam estudos sobre a utilização de antibacteriano, sob o aspecto da qualidade de alimentos, bem como os benefícios e vantagens de se aplicar esses ingredientes em produtos processados.

Dentre os alimentos cárneos processados, de elevado consumo no Brasil, encontra-se a salsicha. Sabe-se que estes alimentos são colonizados por microrganismos causadores de limosidade que limitam seu prazo de validade. Segundo Borch *et al.* (1996), as Bactérias Ácido-Láticas (BAL) são as principais responsáveis pela deterioração de produtos cárneos.

A deterioração viscosa ocorre na parte externa dos envoltórios. As Bactérias Ácido-Láticas dos gêneros *Lactobacillus* e *Enterococcus* produzem a viscosidade na salsicha. A formação da viscosidade é favorecida por superfície úmida e normalmente se limita à parte externa do envoltório (JAY, 2005).

Sendo assim, este trabalho teve por objetivos, a obtenção do extrato de uva Isabel (*Vitis labrusca*) e a avaliação de sua atividade sobre o crescimento de Bactérias Ácido-Láticas.

### 2 Materiais e Métodos

#### 2.1 Obtenção do extrato etanólico de bagaço de uva Isabel

As amostras de 96 gramas de bagaço desidratado de uva Isabel finamente moídas em moinho de disco, foram deixadas em maceração com 480 mL de etanol 96% (v/v), por um período de 48 horas, sob constante agitação mecânica (agitador rotativo). Após esse período, o sobrenadante foi recuperado em estufa com circulação de ar, a temperatura de 30°C, até evaporação total do solvente, ou seja, com volume final de 50 mL.

\*e-mail: renata@utfpr.edu.br

Esse extrato foi denominado extrato etanólico de bagaço de uva Isabel. O referido extrato, durante o desenvolvimento da pesquisa, foi estocado sob refrigeração a 4 °C, sendo retirado no momento da realização dos experimentos.

## 2.2 Quantificação dos Compostos Fenólicos Totais no Extrato de Bagaço de Uva

Para a quantificação dos compostos fenólicos totais, as amostras contendo 0,1 mL do extrato etanólico foram depositadas em um balão volumétricos de 10 mL, sendo o volume completado com água destilada. Nessas amostras diluídas foi quantificado, usando técnica espectrofotométrica, o teor de compostos fenólicos totais através do método de Folin Ciocalteu (AMERINE e OUGH, 1975). Os compostos fenólicos totais foram expressos em miligramas de ácido gálico/mL de extrato.

## 2.3 Determinação da Atividade Antibacteriana do extrato de uva sobre as bactérias isoladas da salsicha

Salsichas são embutidos que normalmente apresentam prazo de validade de 45 dias. As amostras de salsichas utilizadas para o isolamento de Bactérias Ácido-Láticas foram armazenadas sob refrigeração, por 95 dias após a data do vencimento. Essas amostras apresentaram bastante limosidade e foram destinadas à avaliação microbiológica. Essas amostras foram submetidas à avaliação microbiológica, sendo submetida à determinação da quantidade de Bactérias Ácido-Láticas pelo método de semeadura em profundidade utilizando-se ágar MRS (MAN *et al.*, 1961).

Na sala microbiológica com lâmpada de fluxo laminar foram pesadas 25 g de amostra de salsicha com presença de limosidade. Adicionou-se 225 mL de solução salina e homogeneizou-se, em liquidificador estéril, por 60 segundos. Preparou-se diluições seriadas de  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$ , em triplicata.

Posteriormente, foram misturados em tubos de ensaio 100  $\mu$ L, 300  $\mu$ L, 500  $\mu$ L de extrato de uva e 1 mL de cada diluição de suspensão bacteriana de bactérias lácticas provenientes da parte externa da salsicha com indícios de limosidade, em solução salina, sendo feito o mesmo procedimento com etanol 96%, em substituição ao extrato de uva. O uso do álcool teve como objetivo descartar que a atividade antibacteriana do extrato de uva possa ser devido à presença de álcool e não da uva e também avaliar o efeito de um agente antibacteriano conhecido sobre os microrganismos em avaliação. As bactérias com o extrato de uva e/ou álcool etanol 96% foram semeadas em profundidade, em placas de Petri invertidas e mantidas em estufa bacteriológica, à temperatura de 37°C, por 48 horas. Após o tempo de incubação os testes foram analisados quanto à formação ou não de colônias de Bactérias Ácido-Lática.

## 3 Resultados e Discussão

### 3.1 Quantificação dos Compostos Fenólicos Totais no Extrato de Uva

O teor de compostos fenólicos totais é frequentemente usado para explicar a atividade antibacteriana. Para medir esta capacidade antibacteriana é necessário a extração de compostos fenólicos de efetiva atividade com soluções de etanol e água (SHIRAHIGUE, 2008).

Estudos realizados por Alonso *et al.* (1991), avaliando efeito de várias misturas de etanol/água para extração de compostos em sementes de uva, observaram que a extração mais eficiente é quando o conteúdo de etanol é maior. Já o metanol é melhor solvente para extração de compostos fenólicos, mas não é aconselhável para extratos que serão aplicados em alimentos (SHIRAHIGUE, 2008).

Através de análise espectrofotométrica, o extrato de uva obtido nesta pesquisa apresentou um teor de compostos fenólicos totais de 14,80 mg/mL.

Em Bussolo e Thomé (2008), o conteúdo de fenólicos totais obtidos no extrato de uva Isabel é de aproximadamente 24,93 mg/mL. Valor superior à concentração encontrada neste trabalho. A concentração dos compostos fenólicos do extrato de uva pode ser influenciada pelo tipo de extração e procedimentos empregados na produção do extrato de uva e pelas reações que ocorrem durante o seu armazenamento.

### 3.2 Atividade antibacteriana do extrato de uva

Análises microbiológicas comparando a atividade antibacteriana do extrato de uva e etanol 96% (v/v) foram realizadas com intuito de verificar se o álcool existente no extrato de uva interfere na inibição de crescimento bacteriológico promovido por este produto, já que na extração da uva utiliza-se etanol 96% (v/v).

Foram testados volumes de 0  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 300  $\mu$ L e 500  $\mu$ L de extrato de uva e de álcool 96%. Essas alíquotas foram adicionadas e homogeneizadas manualmente com as diluições apropriadas de cultura de Bactérias Ácido-Láticas, provenientes da salsicha. Posteriormente, procedeu-se a semeadura em profundidade em ágar MRS. Os dados destas análises estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

De acordo com os resultados das análises no volume de 500  $\mu$ L não houve crescimento de bactérias ácido-láticas em ambas as placas, as com tratamento e as placas controle.

Tabela 1: Contagem de Bactérias Ácido-Láticas (log UFC/mL) provenientes de salsicha em ágar MRS com adição de extrato de uva ou etanol 96 % (diluição  $10^{-5}$ ).

Agente Antibacteriano	Volumes ( $\mu$ L)		
	0	100	300
Extrato de uva	7,34	6,04	-
Etanol 96%	7,34	7,28	-

Além da diluição  $10^{-5}$ , foram realizados testes com as Bactérias Ácido-Láticas em diluições  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  e  $10^{-6}$ . Nas diluições  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$  houve crescimento de bactérias, onde sua contagem foi semelhante e muito alta. Já na diluição  $10^{-6}$  não se obteve crescimento de bactéria láctica.

Os pesquisadores Palumbo *et al.* (1974), Noskova (1978) e Pérez-Chabela *et al.* (2008), concluíram em suas pesquisas e reforçam a possibilidade de sobrevivência de Bactérias Ácido-Láticas ao processo de cocção devido a sua resistência ao aquecimento além de serem tolerantes a sal, nitrito e ao processo de defumação.

Os resultados deste trabalho revelam que o extrato de uva teve efeito inibidor sobre as bactérias, ou seja, garantindo que diminui e até mesmo destrói o microrganismo.

Tabela 2: Contagem de Bactérias Ácido-Láticas (UFC/mL) provenientes de salsicha em ágar MRS com adição de extrato de uva ou etanol 96% (diluição 10<sup>-5</sup>).

Agente Antibacteriano	Volumes (µL)		
	0	100	300
Extrato de uva	220	11	-
Etanol 96%	220	194	-

De modo geral, analisando as Tabelas 1 e 2, pode-se observar que a contagem de BAL no volume 100 µL de extrato de uva foi menor do que as amostras com etanol 96%. Além disso, nas amostras com volume de 300 µL não houve crescimento de Bactérias Ácido-Láticas. Tal resultado demonstra que a porcentagem de etanol 96%, usado para extração do extrato de uva, é muito pequena e não interfere no resultado da análise.

Baron e Finegold (1990) relatam que as concentrações e quantidades mais altas de extrato de uva, diminuem os valores de crescimento de bactérias. Isto foi confirmado por este trabalho.

#### 4 Conclusão

Pode-se concluir que o extrato de uva Isabel (*Vitis labrusca*) obtido neste trabalho apresentou teor de compostos fenólicos menor que os valores encontrados na literatura. Tal fato pode ser devido a diferenças na extração e nos procedimentos de produção do extrato.

Nas análises de etanol 96% e extrato de uva, o etanol 96% no extrato de uva não interferiu em sua ação antibacteriana. O extrato de uva foi mais eficiente que o etanol 96% na redução da quantidade de BAL.

#### 5 Referências

ALONSO, E.; REVILLA, E.; BOURZEIX, M. Suitability of water/ethanol mixtures for the extraction of catechins and proanthocyanidins from *Vitis vinifera* seed containers in a winery by-product. **Seed science and technology**. Zurich. V.19.N.3. 1991.

AMERINE, M. A.; OUGH, C.S. **Análisis de vinos y mostos**. Zaragoza: Acribia, 1975.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2006.

BARON, E.T.; FINEGOLD, S.M. **Bailey & Scott's – Diagnostic microbiology**. 8 ed. St. Louis: The C.V. Mosby Co., 1990.

BORCH E.; KANT-MUERMANS, M.L.; BLIXT, Y. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, 1996.

BUSSOLO, T.B.; THOMÉ, V.A. **Efeito dos extratos de bagaços de uvas Niágara e Isabel na reologia das massas e na qualidade do pão de forma**. Campo Mourão. 2008.

COSTA, N.; BORÉM, A.; CARVALHO, V.F. **Biotecnologia e Nutrição: Saiba como o DNA pode enriquecer a qualidade dos alimentos**. São Paulo: Nobel, 2003.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed. 2002.

MAN, J.C.; ROGOSA, M.; SHARPE, M.E. A medium for the cultivation of Lactobacilli. **Journal of applied bacteriology**. v.23, p..130-135, 1961.

NOSKOWA, G.L. **Microbiologia de las Carnes Conservadas por el Frio**. Zaragoza-España: Acribia, 1978.

PALUMBO, S.A.; SMITH, J.L.; KISSINGER, J.C. Microbiology of The Frankfurter Process: Salmonella and Natural Aerobic Flora. **Applied Microbiology**. 1974.

PÉREZ-CHABELA, M.L.; TOTOSAUS, A.; GUERRERO, I. Evaluation of Thermotolerant Capacity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Commercial Sausages and the Effects of their Addition on the Quality of Cooked Sausages. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. 2008.

SHIRAHIGUE, L.D. **Caracterização química de extratos de semente e casca de uva e seus efeitos antioxidantes sobre carne de frango processada e armazenada sob refrigeração**. Disponível em: <http://www.ibict.br>. Acesso em 25 de agosto de 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A; SILVEIRA, N.F.A.. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. Ed.2. São Paulo: Varela. 2001.