SILVANI VERRUCK
Organizadora

AVANÇOS EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

VOLUME 1

editora científica

SILVANI VERRUCK
Organizadora

AVANÇOS EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

VOLUME 1

2020

editora científica

Copyright© 2020 por Editora Científica Digital

Copyright da Edição © 2020 Editora Científica Digital
Copyright do Texto © 2020 Os Autores

Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

A946 Avanços em ciência e tecnologia de alimentos [recurso eletrônico] : volume 1 / Organizadora Silvani Verruck. – Guarujá, SP: Científica Digital, 2020.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
ISBN 978-65-87196-58-9
DOI 10.37885/978-65-87196-58-9

1. Alimentos - análise. 2. Tecnologia de alimentos. I. Verruck, Silvani.

CDD 664.07

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download e compartilhamento desde que os créditos sejam atribuídos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

editora científica

EDITORA CIENTÍFICA DIGITAL LTDA
Guarujá - São Paulo - Brasil
www.editoracientifica.org - contato@editoracientifica.org

editora científica

CONSELHO EDITORIAL

Editor Chefe
Reinaldo Cardoso

Editor Executivo
João Batista Quintela

Editor Científico
Prof. Dr. Robson José de Oliveira

Assistentes Editoriais
Elielson Ramos Jr.
Érica Braga Freire
Erick Braga Freire
Bianca Moreira
Sandra Cardoso

Arte e Diagramação
Andrewick França
Bruno Gogolla

Bibliotecário
Maurício Amormino Júnior - CRB6/2422

Jurídico
Dr. Alandelon Cardoso Lima - OAB/SP-307852

editora científica

CONSELHO EDITORIAL

Prof. Dr. Robson José de Oliveira - Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Carlos Alberto Martins Cordeiro - Universidade Federal do Pará

Prof. Me. Ernane Rosa Martins - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Prof. Dr. Rossano Sartori Dal Molin - FSG Centro Universitário

Prof. Dr. Carlos Alexandre Oelke - Universidade Federal do Pampa

Prof. Me. Domingos Bombo Damião - Universidade Agostinho Neto, Angola

Prof. Dr. Edilson Coelho Sampaio - Universidade da Amazônia

Prof. Dr. Elson Ferreira Costa - Universidade do Estado Do Pará

Prof. Me. Reinaldo Eduardo da Silva Sale - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará

Prof. Me. Patrício Francisco da Silva - Faculdade Pitágoras de Imperatriz

Prof. Me. Hudson Wallença Oliveira e Sousa - Instituto Nordeste de Educação Superior e Pós-Graduação

Profª. Ma. Auristela Correa Castro - Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª. Drª. Dalízia Amaral Cruz - Universidade Federal do Pará

Profª. Ma. Susana Martins Jorge - Ferreira - Universidade de Évora, Portugal

Prof. Dr. Fabricio Gomes Gonçalves - Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Me. Erival Gonçalves Prata - Universidade Federal do Pará

Prof. Me. Gevair Campos - Faculdade CNEC Unaí

Prof. Esp. Flávio Aparecido de Almeida - Faculdade Unida de Vitória

Prof. Me. Mauro Vinicius Dutra Girão - Centro Universitário Inta

Prof. Esp. Clóvis Luciano Giacomet - Universidade Federal do Amapá

Profª. Drª. Giovanna Faria de Moraes - Universidade Federal de Uberlândia

Profª. Drª. Jocasta Lerner - Universidade Estadual do Centro-Oeste

Prof. Dr. André Cutrim Carvalho - Universidade Federal do Pará

Prof. Esp. Dennis Soares Leite - Universidade de São Paulo

Profª. Drª. Silvani Verruck - Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Me. Osvaldo Contador Junior - Faculdade de Tecnologia de Jahu

Profª. Drª. Claudia Maria Rinhel Silva - Universidade Paulista

Profª. Drª. Silvana Lima Vieira - Universidade do Estado da Bahia

Profª. Drª. Cristina Berger Fadel - Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª. Ma. Graciete Barros Silva - Universidade Estadual de Roraima

Prof. Dr. Carlos Roberto de Lima - Universidade Federal de Campina Grande

editora científica

CONSELHO EDITORIAL

Prof. Dr. Júlio Ribeiro - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Wescley Viana Evangelista - Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado

Prof. Dr. Cristiano Souza Marins - Universidade Federal Fluminense

Prof. Me. Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva - Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória

Prof. Dr. Daniel Luciano Gevehr - Faculdades Integradas de Taquara

Prof. Me. Silvio Almeida Junior - Universidade de Franca

Profª. Ma. Juliana Campos Pinheiro - Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Raimundo Nonato F. do Nascimento - Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Iramirton Figuerêdo Moreira - Universidade federal de Alagoas

Profª. Dra. Maria Cristina Zago - Faculdade de Ciências Administrativas e Contábeis de Atibaia

Profª. Dra. Gracielle Teodora da Costa Pinto Coelho - Centro Universitário de Sete Lagoas

Profª. Ma. Vera Lúcia Ferreira - Centro Universitário de Sete Lagoas

Profª. Ma. Glória Maria de França - Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Profª. Dra. Carla da Silva Sousa - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano

SUMÁRIO

CAPÍTULO 01 ..... **13**

ACEITABILIDADE DE BISCOITOS ELABORADOS COM FARINHA DE RESÍDUO DE CAJU (*ANACARDIUM OCCIDENTALE L.*)

Ana Dantas Pereira; Manuela Alves da Cunha; Anna Cecília Queiroz de Medeiros

DOI: 10.37885/201001870

CAPÍTULO 02 ..... **25**

ANÁLISE METABOLÔMICA DE CAGAITAS UTILIZANDO A ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO POR *PAPER SPRAY*

Mauro Ramalho Silva; Amauri GGeraldo de Souza; Raquel Linhares Bello de Araújo; Inayara Cristina Alves Lacerda; Rodinei Augusti; Júlio Onésio Ferreira. Melo; Henrique de Oliveira Prata Mendonça

DOI: 10.37885/201102065

CAPÍTULO 03 ..... **42**

ATIVIDADE ANTIATEROGÊNICA DAS ANTOCIANINAS

Pâmela Rubiane Braga Caldas; Beatriz Baumgratz Mota; Bruna Magalhãe; Reni Rockenbach; Monica Palomino de Los Santos; Guilherme Cassão Marques Bragança; Vera Maria de Souza Bortolini

DOI: 10.37885/201102138

CAPÍTULO 04 ..... **55**

SPME FIBER EVALUATION FOR VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS EXTRACTION FROM ACEROLA

Yesenia Mendoza García; José Carlos Moraes Rufini; Matheus Pena Campos; Mayara Neves Santos Guedes; Rodinei Augusti; Júlio Onésio Ferreira Melo

DOI: 10.37885/201102026

CAPÍTULO 05 ..... **71**

AVALIAÇÃO SENSORIAL DE DOCE DE ABÓBORA DE PESCOÇO E MARACUJÁ

Gláucia Cristina Moreira; Francieli Begnini Siepmann; Janice Gebert; Michele Wochner Mattei; Quirino Alison Vilas Boas da Silva

DOI: 10.37885/201102111

CAPÍTULO 06 ..... **77**

AVALIAÇÃO SENSORIAL DE LANCHES ELABORADOS PARA ESTUDANTES DE GEOLOGIA EM DIAS DE CAMPO

Zegliany Pinaffo; Manoela Cassa Libardi; Gisele Rodrigues Moreira; Flávia Vitorino Freitas

DOI: 10.37885/201001929

SUMÁRIO

CAPÍTULO 07 ..... **90**

AVANÇOS TECNOLÓGICOS NO PROCESSAMENTO DO CACAU E DERIVADOS E EFEITOS NO ORGANISMO

Yasmim da Fonseca Wagner

DOI: 10.37885/201001666

CAPÍTULO 08 ..... **102**

CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DE IOGURTE DE LEITE DE OVELHA CONCENTRADO POR ULTRAFILTRAÇÃO

Carla Prado Rosolém; Lorena Pereira da Silva; Vanessa Oliveira da Silva; Patrícia Saviani Trentin; Joice Sifuentes dos Santos

DOI: 10.37885/201001900

CAPÍTULO 09 ..... **111**

CONTAMINANTES FORMADOS DURANTE O PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS

Andressa Cunha Lemos; Priscila Tessmer Scaglioni; Verônica Simões de Borba; Eliana Badiale Furlong

DOI: 10.37885/201102166

CAPÍTULO 10 ..... **158**

DESENVOLVIMENTO DO PLANO APPCC PARA LINHA DE PRODUÇÃO DE QUEIJO MUSSARELA

Franciely Daiany Junkerfuerbom; Caroline Viapiana; Fábio Avelino Bublitz Ferreira

DOI: 10.37885/201001834

CAPÍTULO 11 ..... **169**

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ACEITABILIDADE DE PETISCO DE QUEIJO

Simone Melo Vieira; Sidney Fernandes Bandeira

DOI: 10.37885/201102119

CAPÍTULO 12 ..... **175**

DESENVOLVIMENTO, COMPOSIÇÃO E ACEITAÇÃO SENSORIAL DE CAFÉ SOLÚVEL ADICIONADO DE CAFÉ TORRADO MICRONIZADO

Julyene Silva Francisco; Ana Carolina Forgati dos Santos; André Luiz Buzzo Mori; Rodolfo Campos Zanin; Marta de Toledo Benassi

DOI: 10.37885/201102012

SUMÁRIO

CAPÍTULO 13 ..... **188**

ELABORAÇÃO DE TEMPERO EM PÓ OBTIDO A PARTIR DO RESÍDUO DE PESCADA AMARELA (*CYNOSCION ACOUPA*) COM ADIÇÃO DE PÓLEN APÍCOLA

Elen Vanessa Costa da Silva; Marília Luana Martins da Silva; Brenda Cabral Alves

DOI: 10.37885/201102171

CAPÍTULO 14 ..... **203**

ELABORAÇÃO E ANÁLISES CENTESIMAIS DE BISCOITOS TIPO COOKIE DE BIOMASSA DE BANANA VERDE (*MUSA SSP*).

Jiullie Delany Bastos Monteiro; Élida Viana de Souza; Leandro Fernandes Damasceno

DOI: 10.37885/201001925

CAPÍTULO 15 ..... **216**

EXTRATO ETANÓLICO DOS FRUTOS DE *CAPSICUM CHINENSE* E SUA AÇÃO CONTRA *ESCHERICHIA COLI* E *LISTERIA MONOCYTOGENES*: UM BREVE RELATO

Larissa Sousa Santos; Cassia Cristina Fernandes; Mayker Lazaro Dantas Miranda

DOI: 10.37885/201001857

CAPÍTULO 16 ..... **223**

GLUTEN-FREE BREAD MADE FROM *PROSOPIS NIGRA* FLOUR: NUTRITIONAL CONTRIBUTION AND HEDONIC RESPONSE OF CELIAC AND NON-CELIAC PEOPLE.

Estela Patricia López; Ana Gabriela **Torrelio** Martos

DOI: 10.37885/201001861

CAPÍTULO 17 ..... **237**

INFLUÊNCIA DA CONSTITUIÇÃO ALIMENTAR NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS

Danilo Furtado da Costa; Ana Beatriz da Silva Maia; Giovanna Medeiros Pereira; Luana Karoline Furtado Silveira; Rosely Carvalho do Rosário; Adriano Cruz da Costa Maciel; Yasmin Silva Lemos; Orquidea Vasconcelos dos Santos

DOI: 10.37885/201102152

CAPÍTULO 18 ..... **253**

INOVAÇÕES E TENDÊNCIAS NA UTILIZAÇÃO DO FRUTO DE BURITI (*MAURITIA FLEXUOSA* L.) E SEUS SUBPRODUTOS

Callebe **Camelo-**Silva; Eulália Lopes da Silva Barros; Marcio Augusto Ribeiro Sanches; Noádia Genuario Barroso; Silvani Verruck; Loyse Tussolini

DOI: 10.37885/201102159

SUMÁRIO

CAPÍTULO 19 ..... **263**

KEFIR: QUAIS OS BENEFÍCIOS NA SAÚDE HUMANA DO PROBIÓTICO MAIS ANTIGO JÁ DESCOBERTO?

Diego Lisboa Rios; Silvia de Siqueira Costa; Thiago Araújo Andrade; Paula Margarita Salazar Torres; Lucas Roberto da Silva; Pedro Gontijo Carneiro; Cássio Siqueira Souza Cassiano; Welington Ribeiro Aquino Marques; João Batista Matos Júnior; Fabyola Antunes Gonçalves Souza

DOI: 10.37885/201001939

CAPÍTULO 20 ..... **279**

MARACUJA-DO-MATO (*PASSIFLORA CINCINNATA* MAST.) JELLY DEVELOPED WITH PEQUI (*CARYOCAR BRASILIENSE* CAMB.) PEEL PECTIN AND COMMERCIAL PECTIN: A COMPARATIVE STUDY

Warley Bandeira da Silva; João Paulo Rodrigues de Sousa; Clara Mariana Gonçalves Lima; Josiane Ferreira da Silva; Silvani Verruck; Daniela Caetano; Edilene Alves Barbosa

DOI: 10.37885/201001803

CAPÍTULO 21 ..... **292**

METATRANSCRIPTOMA EM ALIMENTOS: O IMPACTO DA A EXPRESSÃO GÊNICA DO MICROBIOMA NA SAÚDE HUMANA

Diego Lisboa Rios; Silvia de Siqueira Costa; Thiago Araújo Andrade; Paula Margarita Salazar Torres; Lucas Roberto da Silva; Pedro Gontijo Carneiro; Cássio Siqueira Souza Cassiano; Welington Ribeiro Aquino Marques; João Batista Matos Júnior; Fabyola Antunes Gonçalves Souza

DOI: 10.37885/201001889

CAPÍTULO 22 ..... **307**

PERCEPÇÃO DO CONSUMIDOR SOBRE ANTIOXIDANTES ALIMENTARES. SINTÉTICO VS. NATURAL

Marina Leite **Mitterer-**Daltoé; Caroline Marques; Carla Cristina Lise; Jéssica Bordim; Leandra Schuatz Breda; Maira Casagrande; Vanderlei Lima

DOI: 10.37885/201102051

CAPÍTULO 23 ..... **319**

PERFIL ANTROPOMÉTRICO, HÁBITOS DE VIDA E AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR DOS ESTUDANTES DE GEOLOGIA DA UFES

Manoela Cassa Libardi; Zegliany Pinaffo; Flávia Vitorino Freitas

DOI: 10.37885/201001928

SUMÁRIO

CAPÍTULO 24 ..... **338**

PERFIL QUÍMICO DE AMÊNDOAS DE CACAU POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO POR *PAPER SPRAY*

Afonso Henrique de Oliveira Júnior; Ana Luiza Coeli Cruz Ramos; Mayara Neves Santos Guedes; Miriã Cristina Pereira Fagundes; Rodinei Augusti; Júlio Onésio Ferreira Melo; Henrique de Oliveira Prata Mendonça; Raquel Linhares Bello de Araújo; Luisa Del Carmen Barrett Reina

DOI: 10.37885/201102158

CAPÍTULO 25 ..... **354**

PHENOLIC COMPOUNDS IN NATIVE POTATO (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) COOKING WATER, WITH POTENTIAL ANTIOXIDANT ACTIVITY

Carmen Rosa **Rojas-Padilla;** Víctor Javier **Vasquez-Villalobos;** Camilo Elber Vital; Julio Cesar **Rojas Naccha;** Nelson Horacio **Ríos Campos;** Ángel Pedro **Lujan** Salvatierra; Viviano Paulino **Ninaquispe** Zare

DOI: 10.37885/201102010

CAPÍTULO 26 ..... **365**

POTENCIAL DE APLICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE *PSIDIUM GUAJAVA* EM PRODUTOS LÁCTEOS

Natália Lima Myazaki; Giordana Demaman Arend; Katia Rezzadori; Silvani Verruck

DOI: 10.37885/201102192

CAPÍTULO 27 ..... **385**

PRODUÇÃO DE PÃO FRANCÊS A PARTIR DA SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DE FARINHA DE TRIGO POR FARINHA DE BANANA VERDE

Fernanda Maria Vanin; Rosemary Aparecida de Carvalho; Yasmin Rodrigues

DOI: 10.37885/201102076

CAPÍTULO 28 ..... **396**

QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE RÚCULA ORIUNDA DE CULTIVO CONVENCIONAL E HIDROPÔNICO ARMAZENADA SOB REFRIGERAÇÃO

Lays Maransatto; Rafaela Prata; Gláucia Cristina Moreira

DOI: 10.37885/201102179

CAPÍTULO 29 ..... **405**

QUALIDADE SENSORIAL DE LINGUIÇA FRESCAL DE CARNE DE COELHO FORMULADA COM DIFERENTES FONTES DE LIPÍDEOS

Davi Custódio de Souza; Iago Mendes; José Aparecido Martins da Silva; Larissa Gonçalves Freitas; Raiane Tainá Guimarães Ribeiro; Flávia Michelon Dalla Nora; Clara Mariana Gonçalves Lima; Silvani Verruck; Márcia Antunes dos Santos Rodrigues; Thiago Moreira dos Santos; Daniela Caetano

DOI: 10.37885/201001786

SUMÁRIO

CAPÍTULO 30 ..... **414**

QUEIJOS COMERCIAIS DESIDRATADOS POR PROCESSO DE MICRO-ONDAS A VÁCUO: ANÁLISE DE TEXTURA

Neila Silvia Pereira dos Santos Richards; Isadora Andrade Monteiro Barreto; João Borges Laurindo

DOI: 10.37885/201001770

CAPÍTULO 31 ..... **424**

STABILITY OF BIOACTIVE COMPOUNDS IN FRUIT SMOOTHIES

Sílvia Cristina Sobottka Rolim de Moura; Fernanda Zaratini Vissotto; Shirley Aparecida Garcia Berbari; Elaine de Cássia Guerreiro Souza; Fabíola Guirau Parra Toti; Paulo Alves Júnior

DOI: 10.37885/201001884

CAPÍTULO 32 ..... **441**

SUPERFÍCIE DE AÇO INOXIDÁVEL FUNCIONALIZADA COM PRATA POR PULVERIZAÇÃO CATÓDICA

Fernanda Toloi Torqueti; Gabriela Lino Freitas; Deusmaque Carneiro Ferreira; Rogério Valentim Gelamo; Letícia Dias dos Anjos Gonçalves; Lucas Donizete Silva; Vitor Tomaz Guimarães Naves; Emiliane Andrade Araújo Naves

DOI: 10.37885/201102177

SOBRE A ORGANIZADORA **459**

ÍNDICE REMISSIVO **460**

01

“Aceitabilidade de biscoitos elaborados com farinha de resíduo de caju (*Anacardium occidentale L.*)

- Ana Dantas **Pereira**
  UFRN
- Manuela Alves da **Cunha**
  UFRN
- Anna Cecília Queiroz de **Medeiros**
  UFRN

10.37885/201001870

RESUMO

Objetivo: Desenvolver biscoitos, com e sem glúten, utilizando a farinha de resíduo de caju como ingrediente e verificar a aceitabilidade dos produtos elaborados. **Métodos:** Os resíduos foram submetidos a tratamento térmico em estufa ventilada à 60°C (por aproximadamente 14 horas) para desidratação e triturados, para obtenção de uma farinha, que posteriormente foi utilizada como ingrediente de produtos alimentícios. Foram desenvolvidos biscoitos (com e sem glúten) com base em receitas encontradas em livros de culinária. As receitas originais continham farinha de trigo, que foi substituída pela farinha de caju, de arroz e de aveia, além de amido e aveia em flocos. Os provadores expressaram o grau de aceitação dos produtos em relação a cada atributo específico (cor, sabor, aroma, textura, impressão geral) e demonstraram também a intenção de compra dos produtos. **Resultados:** Os resultados obtidos demonstraram que os produtos desenvolvidos com a farinha do resíduo de caju foram bem aceitos pelos provadores. O Índice de Aceitabilidade para o biscoito que continha glúten foi de 81,29%. Já para o biscoito que não continha glúten, o Índice de Aceitabilidade foi de 75,00%. **Conclusão:** A farinha de resíduo de caju pode ser utilizada como ingrediente para o desenvolvimento de produtos alimentícios. A utilização dessa farinha, mostra-se como uma alternativa viável para a redução das perdas no processamento de caju, podendo contribuir para melhorar a qualidade nutricional dos produtos alimentícios, e agregar valor ao resíduo, gerando fonte de renda para os produtores.

Palavras-chave: Cajucultura, Resíduo, Produtos Alimentícios, Glúten.

INTRODUÇÃO

De acordo com o Anuário Brasileiro de Fruticultura (2010), o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas (40 milhões de toneladas ao ano). A produção de frutas acontece em todos os estados brasileiros, como atividade econômica, envolvendo mais de cinco milhões de pessoas que trabalham de forma direta e indiretamente no setor (FACHINELLO et al., 2011). Na região nordeste, principalmente nos estados do Ceará, Paraíba, e Rio Grande do Norte, a cajucultura é uma atividade de destaque socioeconômico, sendo nesses estados onde se encontram os maiores plantios do país. (ARAGÃO, 2007).

Conforme Lima (2004), as amêndoas de castanhas de caju são excelentes fontes de vitamina E, dispondo ainda, de vitaminas do complexo B e minerais, enquanto que o pseudofruto é rico em vitamina C e minerais. O caju apresenta em sua composição teores de ácido ascórbico que variam de 120 a 300mg/100g. Além do seu consumo natural, o caju é amplamente utilizado na fabricação de doces e bebidas, tais como: doce em massa, caju-ameixa, cristalizado, doce em calda, geleia, suco, cajuínas, vinho, champanhe, vinagre, dentre outros produtos.

As indústrias produtoras de sucos de caju geram resíduos popularmente conhecidos como bagaço de caju que, em geral, são reaproveitados para o enriquecimento da ração animal ou descartados por falta de incentivo de seu uso na alimentação humana (PINHO, 2009). Segundo Siqueira e Brito (2013), o bagaço de caju consiste em um produto que é adquirido após a retirada da castanha (fruto) e extração do suco do pedúnculo, sendo composto principalmente pela polpa do pedúnculo restante. Esse resíduo industrial quando descartado na natureza gera poluentes tanto para atmosfera, como para a água e o solo. Desse modo, se faz necessário que o mesmo tenha um destino adequado para o seu descarte, devendo este procedimento ocorrer somente depois que os resíduos se encontrarem dentro dos padrões postos pela legislação ambiental para que não ocasionem poluição ao meio ambiente (PONTES, 2009).

A utilização de resíduos no desenvolvimento de novos produtos alimentícios tem evidenciado um importante seguimento para as indústrias de alimentos, especialmente no que envolve a demanda por produtos para dietas especiais (ALVES et al., 2011). Faustino (2014), ao realizar análise da composição físico-química do resíduo de caju, encontrou os seguintes resultados: umidade - 63,99%, cinzas - 0,92%, lipídeos - 0,68%, proteínas - 2,56%, carboidratos - 21,61%, fibras totais - 10,26%, pH - 4,43%, BRIX° - 17,12% e valor energético -102,08kcal. Logo, se percebe que o resíduo de caju apresenta considerável valor nutritivo, tendo em vista os valores encontrados para os nutrientes analisados. A Embrapa e outros membros que compõe o sistema agroindustrial do caju, afirmam que o beneficiamento integral do pedúnculo do caju é um alvo a ser alcançado. Algumas pesquisas já evidenciam

resultados que sinalizam novas alternativas de emprego do resíduo, transformando, assim, o bagaço residual da extração numa importante matéria-prima para a obtenção de novos produtos (SIQUEIRA; BRITO, 2013).

Os produtos de panificação têm se mostrado como ótimas opções para se utilizar a farinha oriunda do resíduo do caju. A aplicabilidade de farinhas obtidas por meio de resíduos agroindustriais na panificação, além de contribuir com a sustentabilidade, agrega valor aos produtos desenvolvidos, uma vez que traz como benefício o enriquecimento nutricional desses alimentos. Todavia, para que estes produtos passem a ser desenvolvidos e comercializados, se faz necessário o desenvolvimento de pesquisas. Em adição, a realização da avaliação sensorial dos alimentos desenvolvidos é de extrema importância para evidenciar o nível de aceitação destes, e para realizar pesquisas de mercado (SOARES et al., 2012).

OBJETIVO

Diante do exposto, o objetivo da pesquisa foi desenvolver biscoitos, contendo glúten e isentos de glúten, utilizando a farinha de resíduo de caju como ingrediente e verificar a aceitabilidade dos produtos elaborados.

MÉTODOS

Obtenção da farinha a partir do resíduo de caju

Os resíduos do pedúnculo do caju foram doados pela indústria produtora de concentrado de suco de caju “Incaju Agro Indústria Ltda”, localizada na cidade de Lagoa Nova/RN. Os resíduos foram transportados, em sacolas plásticas, até o Laboratório de Técnica Dietética da Faculdade de Ciências da Saúde do Trairi (FACISA/UFRN), onde foram distribuídos em sacolas menores e armazenados em freezer doméstico para posterior utilização.

Para produção da farinha, os resíduos foram descongelados e levados até o Laboratório de Análise e Bioquímica de Alimentos da FACISA/UFRN, onde foram dispostos em bandejas higienizadas e submetidos a tratamento térmico em estufa ventilada à 60°C, com verificação do nível de desidratação a cada 3 horas, até que estivessem desidratados (aproximadamente 14 horas). Em seguida, os resíduos foram triturados em processador doméstico de alimentos, até obtenção de uma farinha conforme metodologia desenvolvida no estudo de (BATISTA et al., 2012). A farinha obtida foi armazenada em sacolas plásticas próprias para alimentos, para posteriormente ser utilizada como ingrediente de produtos alimentícios.

Desenvolvimento dos biscoitos com farinha de resíduo do caju

Primeiramente o projeto foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa da FACISA/UFRN e foi aprovado. A pesquisa encontra-se registrada sob o CAAE: 54048816.7.0000.5568. Em seguida, biscoitos (com e sem glúten) foram desenvolvidos no Laboratório de Técnica Dietética da FACISA, com base em receitas encontradas em livros de culinária. As receitas originais continham farinha de trigo, que foi substituída pelas farinhas de caju, arroz e aveia, além de amido e aveia em flocos.

Avaliação sensorial dos biscoitos elaborados com farinha de resíduo do caju

Após desenvolvimento dos biscoitos, estes foram submetidos à avaliação sensorial. Os provadores voluntários foram convidados para participar da análise mediante a divulgação da pesquisa nas dependências da faculdade. O painel sensorial foi composto 58 provadores não treinados, com idades entre 18 e 60 anos, que expressaram seu consentimento com as condições do estudo através de assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE. Foi aplicado o teste afetivo de aceitação por escala hedônica, elaborado de acordo com a metodologia de Minim (2013), contendo sete pontos. Os provadores preencheram o Formulário de Avaliação Sensorial, expressando o grau de aceitação dos produtos em relação a cada atributo específico (cor, sabor, aroma, textura, impressão geral) e demonstraram também a intenção de compra dos produtos.

O Índice de Aceitabilidade (I.A.) dos produtos foi calculado de acordo com Oliveira (2010), a partir das notas médias do atributo impressão geral dos produtos, considerando a equação IA= (A x 100)/ B, em que A é a nota média dada ao atributo e B nota máxima da escala utilizada para avalia- lo. Segundo o referido autor, um produto é considerado de boa aceitabilidade quando o seu I.A. é superior a 70%.

RESULTADOS

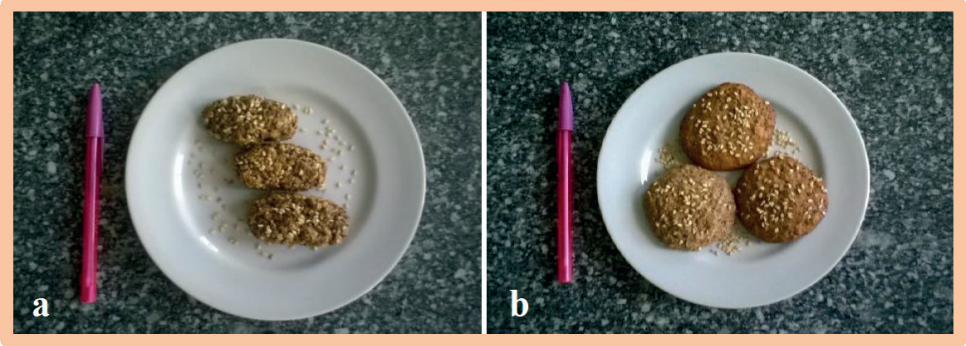
Para a produção dos biscoitos, contendo glúten e isentos de glúten, a farinha de resíduo de caju foi utilizada, juntamente com outros ingredientes (Tabela 1).

Tabela 1. Ingredientes utilizados na produção dos biscoitos

BISCOITO COM GLÚTEN		BISCOITO SEM GLÚTEN	
INGREDIENTES	Quantidade (g/mL)	INGREDIENTES	Quantidade (g/mL)
Farinha de resíduo de caju	62	Farinha de resíduo de caju	65
Farinha de aveia	51	Farinha de arroz	86
Aveia em flocos	73	Amido	73
Açúcar	54	Açúcar	59
Margarina	17	Margarina	15
Ovos	112	Ovos	163
Castanha do Pará	15	Castanha do Pará	14
Chia	9,4	Chia	10
Canela em pó	2,4	Canela em pó	2,7
Gergelim	7,2	Gergelim	7,2
Fermento em pó	5,0	Fermento em pó	4,5

Os biscoitos foram elaborados da seguinte forma: em um recipiente foram adicionados os ingredientes conforme sequência listada acima, que foram misturados até obtenção de uma massa, modelados em formato de biscoitos e levados ao forno para assar á 240°C. Após 25 minutos de cocção os biscoitos estavam prontos (Figura 1).

Figura 1. Biscoitos com farinha de resíduo de caju: (a) Biscoito com glúten e (b) Biscoito sem glúten.

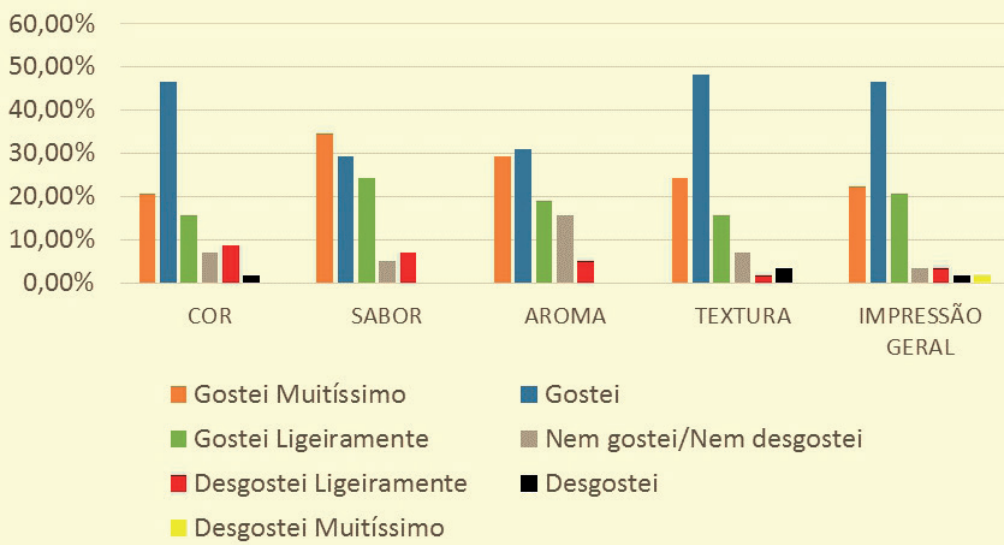


O biscoito com glúten evidenciou uma característica mais “fibrosa” com relação a sua textura, visto que dentre os ingredientes utilizados estava aveia em flocos, cujos grânulos são maiores, enquanto que no biscoito sem glúten foram utilizados amido e farinha de arroz, que são mais refinados, logo, o produto se mostrou com uma textura mais macia e característica de biscoito.

A Figura 2 expressa os resultados da avaliação sensorial do biscoito com glúten, produzido com farinha de resíduo de caju. É possível perceber que o produto desenvolvido teve uma ótima aceitação, pois os resultados se concentraram principalmente entre as variáveis “gostei”, “gostei muitíssimo” e “gostei ligeiramente”, em todos os atributos avaliados. Quando

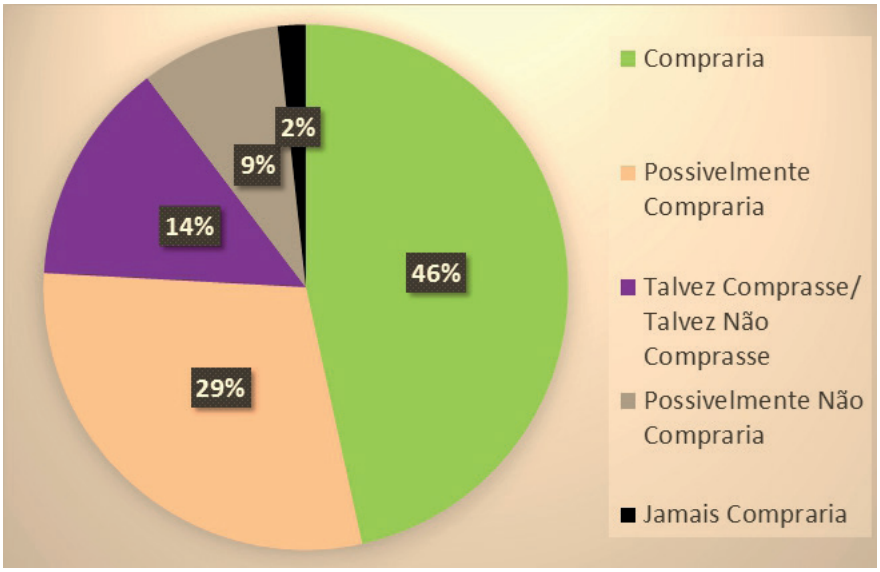
calculado o Índice de Aceitabilidade, foi verificado que este foi igual a 81,29%, sendo o biscoito, portanto, um produto de boa aceitação.

Figura 2. Avaliação sensorial do biscoito com glúten produzido com farinha de resíduo de caju.



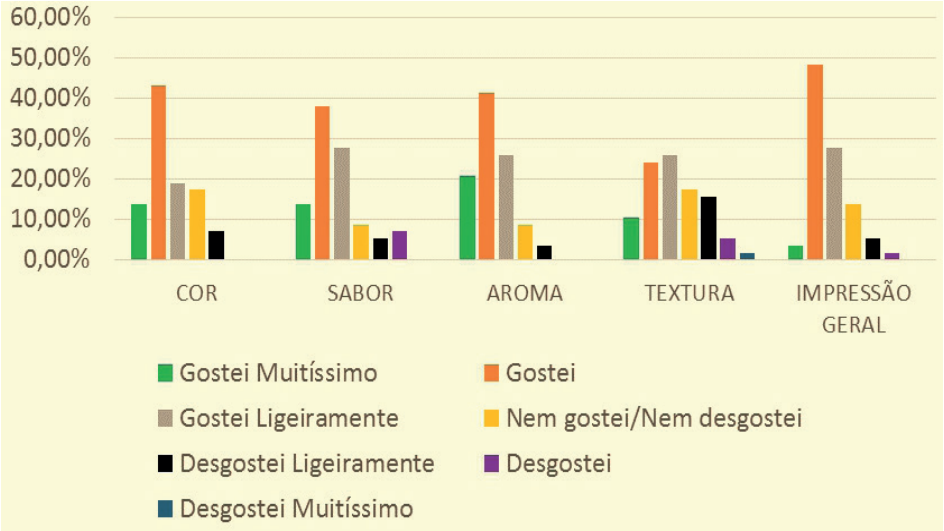
A intenção de compra para o biscoito com glúten, apresentou ótimos valores percentuais (Figura 3), sendo a variável "compraria" a primeira colocada. Somando-se as três variáveis com maiores percentuais ("compraria", "possivelmente compraria" e "talvez comprasse/ talvez não comprasse") é possível obter 89%, ou seja, a maioria dos avaliadores consideraram o produto suficientemente bom para ser comprado.

Figura 3. Intenção de compra do biscoito com glúten produzido com farinha de resíduo de caju.



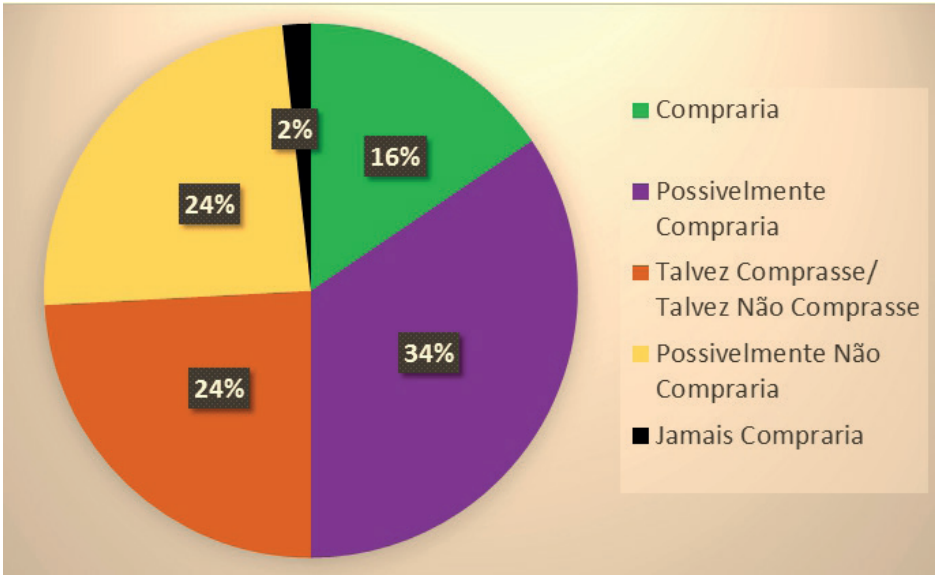
A Figura 4 expressa os resultados da avaliação sensorial do biscoito sem glúten, produzido com farinha de resíduo de caju. Em geral, o produto elaborado também demonstrou bons resultados em todas as variáveis avaliadas. O Índice de Aceitabilidade (I.A.) para o biscoito sem glúten, produzido com farinha de resíduo de caju, foi de 75,00%, o que mostra que o produto desenvolvido teve também boa aceitação pelos consumidores.

Figura 4. Avaliação sensorial de biscoito sem glúten produzido com farinha de resíduo de caju.



A intenção de compra para o biscoito sem glúten, que pode ser visualizada através da Figura 5, apresentou-se bastante distribuída, todavia, ao analisar as variáveis percebe-se que 50% dos provadores apresentam uma possível intenção de comprar o produto caso ele seja lançado no mercado.

Figura 5. Intenção de compra do biscoito sem glúten produzido com farinha de resíduo de caju.



Em suma, os resultados obtidos na avaliação sensorial demonstraram que os produtos desenvolvidos com a farinha do resíduo de caju, se mostrou com ótima aceitação para serem inseridos no mercado. Apesar do biscoito contendo glúten apresentar uma melhor aceitação do que o biscoito isento de glúten, esse último também foi bem aceito pelos provadores.

DISCUSSÃO

Na pesquisa realizada por Alves et al. (2011), foram desenvolvidos produtos de panificação com a farinha de caju, obtida por meio da secagem do resíduo, em substituição da farinha de trigo. Foram elaboradas preparações do tipo bolo e biscoito com três formulações diferentes, variando a quantidade de farinha utilizada, sendo estas, 20%, 30% e 40%. Os pesquisadores concluíram que os produtos mais aceitos foram os que possuíam 20% a 30% de farinha de caju. Tais resultados, se aproximam do encontrado no presente estudo, em que foram utilizadas as seguintes porcentagens para a farinha de resíduo de caju: biscoito com glúten - 33%, e o biscoito sem glúten - 29%, alcançando uma boa aceitação.

Em outra pesquisa feita por Santana e Silva (2008), também foram desenvolvidos biscoitos com a farinha obtida a partir do resíduo de caju, utilizando 30% dessa para formulação do produto. No estudo, as autoras afirmam que o produto desenvolvido se mostrou com boa aceitação pelos consumidores quanto aos parâmetros de aroma, sabor e textura. Resultados igualmente encontrados no presente estudo.

Apesar de haver muitos estudos acerca do caju, poucas ainda são as pesquisas desenvolvidas com a farinha do resíduo do seu pedúnculo, havendo mais pesquisas disponíveis quanto ao uso do próprio resíduo para formulação de novos produtos alimentícios. Oliveira et al. (2013), elaboraram barras de caju com o resíduo do pseudofruto, realizando em seguida a análise sensorial do produto. Os atributos avaliados foram: sabor, textura e impressão global. A barra de caju desenvolvida apresentou boa aceitação, já que foi bem aceita por 96% dos provadores. Nesse mesmo estudo, também houve a análise da intenção de compra, em que 74% dos provadores demonstraram interesse em comprar o produto e 26% afirmaram que talvez compraria. Esses resultados são semelhantes ao encontrado na presente pesquisa uma vez que ao avaliar a intenção de compra dos produtos, todos tiveram seus maiores percentuais concentrados nas variáveis “compraria”, “possivelmente compraria” e “talvez comprasse/ talvez não comprasse”.

Atualmente a indústria de alimentos tem buscado também elaborar produtos para dietas especiais, já que, a cada dia, maiores são os números de pessoas com intolerâncias, alergias e restrições alimentares, como é o caso de indivíduos que possuem sensibilidade as proteínas do glúten. Novas fontes de alimentos sem glúten estão sendo descobertas, e novos produtos alimentícios estão sendo desenvolvidos, para atender os consumidores celíacos

(SANTANA, 2014). No estudo feito por Santana (2014), a pesquisadora realizou o teste de aceitação para os atributos aparência, textura, sabor e impressão global para dois tipos de biscoitos desenvolvidos. Um deles era padrão, contendo características semelhantes às dos produtos comumente encontrados nos mercados. O outro biscoito, nomeado como “amostra”, consistiu no produto desenvolvido a partir da farinha de inhame, em substituição a farinha de trigo. Os autores concluíram que, para a maioria dos atributos avaliados, o produto “amostra” obteve resultados satisfatórios quando comparado ao produto já existente no mercado. Todavia, em relação a textura, o produto “amostra” apresentou menor índice de aceitação (62,7%) quando comparado ao padrão, que obteve um índice de aceitação de 71,9%.

Ao comparar os dados da pesquisa acima com os do presente estudo observa-se que os resultados foram semelhantes, visto que ambos demonstraram, por meio de suas análises, respostas satisfatórias quanto aos novos produtos desenvolvidos. Mas, em relação a textura, em ambos os trabalhos foram identificadas uma maior insatisfação por parte dos julgadores e tal razão, como a própria autora explica, pode se dar devido a granulometria das farinhas desenvolvidas, uma vez que essas foram maiores quando comparadas a farinha de trigo, cujos grânulos são menores e se desintegram facilmente. Ainda com relação ao estudo de Santana (2014), também foi verificada a intenção de compra dos produtos e foi visto que o biscoito desenvolvido com a farinha de inhame teve melhores resultados quando comparado ao biscoito padrão. Esses dados também se aproximam do encontrado no presente estudo, e evidenciam a importância de maiores investimentos em estudos que consistam no desenvolvimento de produtos a partir dessas farinhas, visto que as mesmas têm apresentado boa aceitação por consumidores.

Foi identificado ainda na literatura o desenvolvimento de produtos de panificação do tipo biscoitos e bolos com farinhas de bagaço de uva, casca de limão siciliano e maçã (PIOVESANA et al., 2013; THOMAZ et al., 2012; BALDI, 2013). É possível então perceber que produtos de panificação acrescidos de farinhas obtidas por meio de frutas e seus resíduos apresentam-se como boa alternativa de alimentos a serem inseridos na dieta da população. Portanto, os estudos citados, bem como o presente trabalho, afirmam por meio dos seus resultados que tanto o resíduo de caju quanto a farinha obtida por meio de processamento do mesmo apresentam-se como uma opção viável de ingredientes a serem inseridos em substituição da farinha de trigo no desenvolvimento de novos alimentos, em especial em produtos de panificação.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados, conclui-se que é possível desenvolver produtos alimentícios com boa aceitabilidade sensorial utilizando a farinha de resíduo de caju como

ingrediente de suas formulações. Os resultados da avaliação sensorial comprovaram uma excelente aceitação pelos provadores para os biscoitos obtidos com a farinha de resíduo de caju, demonstrando que a mesma possui um grande potencial de exploração pela indústria de alimentos, podendo ser utilizada na formulação de uma variada gama de produtos alimentícios.

A farinha elaborada a partir do resíduo do pedúnculo de caju mostrar-se como uma alternativa viável para a redução das perdas durante o processamento da fruta, podendo contribuir para melhorar a qualidade nutricional dos produtos alimentícios, e agregar valor ao resíduo, gerando fonte de renda para os produtores, além de ser uma ótima opção a ser inserida na dieta de indivíduos com restrições alimentares.

REFERÊNCIAS

1. ALVES, F. M. S.; MACHADO, A. V.; QUEIROGA, K. H. Alimentos Produzidos a Partir de Farinha de Caju, obtida por secagem. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável Grupo Verde de Agricultura Alternativa (GVAA)**, 6 (3), p. 131-138, 2011.

2. ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2010. 129 p.

3. ARAGÃO, R. F. **Secagem de fatias de caju (*Anacardium occidentale L.*) em secador de bandejas**, Campina Grande-PB. 2007. 126 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) - Universidade Federal de Campina Grande. Centro de Ciências e Tecnologia.

4. BALDI, J. S. **Produto de panificação (bolo) a partir das farinhas de arroz, maçã e soja**, Campo Mourão-PR. 2013. 30 f. Monografia (Graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

5. BATISTA, E. M.; MOISÉS, R. M. M.; LIMA, G. M. S.; FREITAS, H. L.; BARBOSA, M. C. F.; COSTA, C. H. C. **Avaliação do teor de fibra de biscoitos doces elaborados com substituição parcial da farinha de trigo por farinha de resíduos do pedúnculo de caju**. VIICONNEPI: congresso norte nordeste de pesquisa e inovação, Tocantins, 2012.

6. FACHINELLO, J. C. et al. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 33(1), p. 109-120, 2011.

7. FAUSTINO, A. F. M. **Análise físico-química do resíduo do pedúnculo do caju para possível utilização em produtos alimentícios**, Santa Cruz-RN. 2014. 23 f. Monografia (Graduação em Nutrição) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Faculdade de Ciências da Saúde do Trairi.

8. LIMA, A. C. **Estudo para a agregação de valor aos produtos de caju: elaboração de formulações de fruta e castanha em barra**, Campinas-SP. 2004. 160 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

9. MINIM, V. P. R. **Analise Sensorial: Estudos com Consumidores**. 3 ed. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes - Editora UFV, 2013, 332p.

10. OLIVEIRA, A. F. **Análise sensorial dos alimentos**, Londrina-PR. 2010. 65 f. Monografia (Curso superior de Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

11. OLIVEIRA, C. F. P. et al. Desenvolvimento, avaliação sensorial e físico-química de barra de cereal de caju. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, 7(1), p. 934-942, 2013.

12. PINHO, L. X. **Aproveitamento do resíduo do pedúnculo do caju (*Anacardiun occidentali L.*) para alimentação humana**, Fortaleza-CE. 2009. 85 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará. Departamento de tecnologia de alimentos.

13. 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**, 16(1), p. 68-72, 2013.

14. PONTES, C. R. **Enriquecimento protéico do bagaço de caju através de fermentação semi-sólida utilizando Aspergillus niger**, Fortaleza-CE. 2009. 70 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará.

15. SANTANA, M. F. S.; SILVA, I. C. **Elaboração de biscoitos com resíduo da extração de suco de caju**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado técnico, 214, 2008. 4p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/410033/1/Com.Tec.214.pdf >. Acesso em 05 de janeiro de 2018.

16. SANTANA, J. S. **Elaboração De Biscoitos Com Farinha De Inhame: uma alternativa para celíacos**, João Pessoa-PB. 2014. 61 f. Monografia (Graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba. Departamento de Tecnologia de Alimentos.

17. SIQUEIRA, A. M. A; BRITO, E. S. **Aproveitamento do bagaço do caju para alimentação humana e utilização em outras indústrias de alimentos**. In: Araújo, J. P. P. de (Ed.), Agronegócio caju: práticas e inovações. Brasília, DF: Embrapa, 2013. parte 5, cap. 3, p. 349-361.

18. SOARES, D. J.; RODRIGUES, C. S.; MAIA, G. A.; SOUSA; P. H. M.; FIGUEIREDO, R. W. Avaliação sensorial de amêndoas de castanha de caju obtidas dos cultivos convencional e orgânico. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, 14(3), p. 245-250, 2012.

19. THOMAZ, A.C.; SILVA, G.R.; NOVELLO, D.; DALLA SANTA, H.S.; RAYMUNDO, M.S.; BATISTA, M.G. Aceitabilidade sensorial de biscoito tipo cracker adicionado de farinha de casca de limão siciliano (*Citrus limon* L. Burm.). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 71(2), p. 324-30, 2012.

02

Análise metabolômica de cagaitas utilizando a espectrometria de massas com ionização por *paper spray*

- Mauro Ramalho **Silva**
  PUC-MG
- Amauri GGeraldo de **Souza**
  UFSJ
- Raquel Linhares Bello de **Araújo**
  UFMG
- Inayara Cristina Alves **Lacerda**
  UFMG
- Rodinei **Augusti**
  UFMG
- Júlio Onésio Ferreira. **Melo**
  UFSJ
- Henrique de Oliveira Prata **Mendonça**
  UFSJ

10.37885/201102065

RESUME

Objetivo: Este trabalho objetivou avaliar o emprego da espectrometria de massas com ionização por *paper spray* (PS-MS) para obtenção de *fingerprints* de cagaitas de regiões diferentes com auxílio da análise de componentes principais (PCA). **Métodos:** As amostras de cagaita foram coletadas das microrregiões de Sete Lagoas, Prudente de Moraes e Paraopeba, residentes do estado de Minas Gerais. Em seguida, foram selecionados os frutos maduros e higienizados com hipoclorito de sódio. Antes da realização das análises, os frutos foram despolpados e homogeneizados de acordo com cada microrregião para a análise, por PSMS, utilizou-se a polpa bruta dos frutos. **Resultados:** A análise do PS-MS nos modos positivo e negativo permitiu a identificação de várias substâncias, entre elas, ácidos orgânicos, açúcares, aminoácidos e várias classes de compostos fenólicos como antocianinas, ácidos hidroxicinâmicos, ácidos hidrobenzóicos e flavonas. A análise de componentes principais permitiu uma discriminação das amostras de cagaitas em função, principalmente, de constituintes como açúcares e diferentes tipos de compostos fenólicos. **Conclusão:** Assim sendo, demonstrou-se que o PS-MS correspondeu a um método simples com preparo mínimo de amostras, ultrarrápido e eficiente para obtenção de *fingerprints* de cagaitas.

Palavras-chave: Paper spray, Espectrometria de massas, *Eugenia dysenterica.*

INTRODUÇÃO

O cerrado, também conhecido como a Savana brasileira, é um bioma sul-americano que possui cerca de 200 milhões de hectares e abrange cerca de 22% do território do Brasil. Ele é reconhecido por sua biodiversidade de fauna e flora, além da abundância de recursos naturais. Para a exploração sustentável desses recursos é importante a caracterização das espécies nativas desta região (RIBEIRO et al., 2013; ALVES et al., 2017). Uma espécie típica deste bioma é a cagaiteira (*Eugenia dysenterica*), uma angiosperma pertencente à família Mirtaceae cujos frutos denominados de cagaita são amplamente consumidos pela população local (RIBEIRO et al., 2013).

Visando uma caracterização mais ampla da cagaita pode-se empregar técnicas analíticas instrumentais, tais como, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção por UV e/ou espectrometria e massas (HPLC-UV e HPLC-MS), Eletroforese Capilar (EC), Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-MS). De modo geral, estas permitem a execução de análises qualitativas e quantitativas precisas e exatas, apesar de apresentarem desvantagens como preparo laboratorioso de amostras, longo tempo e alto custo de análise. Nos últimos anos, o desenvolvimento de novas técnicas de espectrometria de massas com fontes de ionização ambiente têm superado tais limitações e têm proporcionado análises ultrarrápidas de matrizes complexas com elevada sensibilidade, seletividade e baixo custo. Estas têm como princípio minimizar ou eliminar o preparo das amostras e promover a ionização dos analitos da amostra em condições experimentais brandas (ZHI-PING, XIAO-NING, YA-JUN, 2014; GUO et al., 2017).

Dentre as técnicas de ionização ambiente, a espectrometria de massas com ionização por *paper spray* (PS-MS), desenvolvida por Wang et al. (2010), tem sido muito utilizada em análises de substâncias em matrizes complexas. Além de pesquisas com medicamentos, drogas ilícitas e moléculas biológicas, a PS-MS tem sido empregada em estudos envolvendo revesratrol em vinho tinto (DONNA et al., 2017), análise de azeites de oliva (MAZZOTTI et al., 2013), composição química de bebidas energéticas, verificação de fraudes em cervejas e uísques (PEREIRA et al., 2016; TEODORO et al., 2017), classificação de cafés (GARRETT et al., 2013), análise de cafeína em bebidas comerciais (TAVERNA et al., 2016; SNEHA, DULAY, ZARE, 2016) e em medicamentos , análise de pesticidas em frutas e vegetais (EVARD et al., 2015), controle de qualidade de chás (DENG e YANG, 2013), frutos de *corni* (GUO et al., 2017), corantes (TAVERNA et al., 2013), aditivos alimentícios e seus subprodutos (LI et al., 2013).

Outro grande atrativo da PS-MS é a possibilidade de rápida obtenção de espectros em amplas faixas de massas, os quais apresentam a relação de sinais de diversos analitos presentes na amostras. Estes espectros, denominados *fingerprints,* apresentam perfis diferentes

de acordo com a composição química da amostra e podem ser utilizados para a construção de métodos de classificação para a caracterização e controle de qualidade de alimentos.

Deste modo, o presente estudo teve por objetivo a identificação de outros constituintes químicos empregando-se a PS-MS e a diferenciação dos *fingerprints* de cagaitas coletadas em três regiões distintas com auxílio da Análise de Componentes Principais (PCA).

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de cagaita e material

Na safra de 2016 foram coletadas separadamente frutos maduros de 27 matrizes de cagaiteiras em diferentes locais de 3 microrregiões do estado de Minas Gerais (Brasil): Paraopeba (Latitude 19º 16' 23" e Longitude 44º 24' 52"), Prudente de Morais (Latitude 19º 28' 54" e Longitude 44º 08' 37") e de Sete Lagoas (Latitude 19° 28’ 36” e Longitude 44° 11’ 43”). As amostras foram transportadas para o Laboratório de Pesquisa - Unidade Química de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais.

Em seguida, os frutos de coloração amarela e morfologicamente perfeitos foram selecionados e lavados em água corrente e sanitizados empregando-se uma solução de hipoclorito de sódio de 200 ppm por 15 min com posterior enxague em água corrente. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em freezer a -18 ºC. Antes de cada análise, as polpas dos frutos foram obtidas a partir do descongelamento de 3 frutos de cada espécime, descarte das sementes e a homogenização utilizando-se um mixer (Arno, São Paulo, Brasil).

As determinações das propriedades físico-químicas e das atividades antioxidante foram realizadas a partir de um *poo*l constituído por 3 frutos de 9 cagaiteiras de cada microrregião. Já a análise por PS-MS considerou a análise bruta das polpas dos frutos provenientes de 9 cagaiteiras de cada uma das 3 microrregiões (27 amostras).

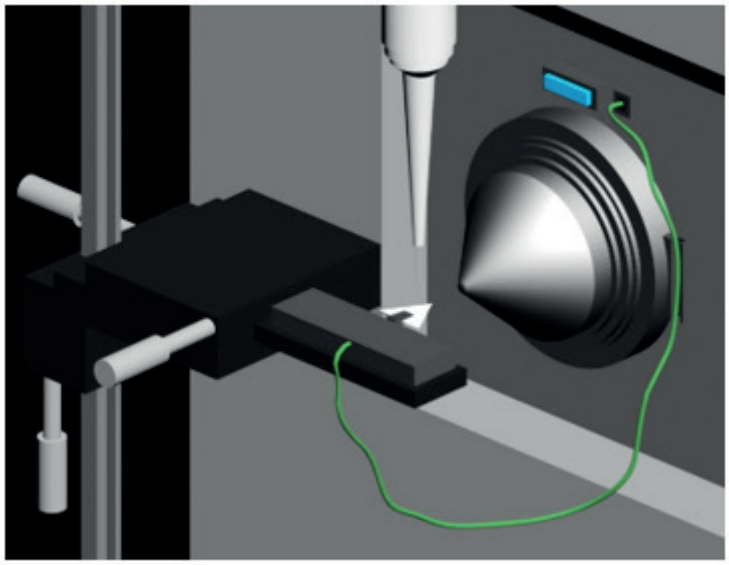
PS-MS fingerprints

A análise do perfil químico das amostras foi realizada utilizando um espectrômetro de massas LCQ Fleet (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA) equipado com uma fonte de ionização *paper spray*. As análises das 27 amostras foram executadas nos modos positivo e negativo.

Para a realização das análises, papel cromatográfico cortado na forma de um triângulo equilátero (1,5 cm) foi posicionado a frente da entrada do espectrômetro de massas. Este papel era suportado por um conector metálico e posicionado a uma distância de 0,5 cm com auxílio de um plataforma móvel (XYZ). Este aparato foi conectado a fonte de alta tensão do

espectrômetro de massas por meio de um fio de cobre. Por fim, 2,0 μL das polpas foram aplicados na extremidade dos triângulos, 40,0 μL de metanol eram transferidos para o papel cromatográfico e a fonte de voltagem foi ligada para aquisição dos dados (Figura 1). As análises de cada polpa individual foram realizadas em triplicata para ambos os modos de ionização (positivo e negativo). (CAMPELO et al., 2020; MINIGHIN et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2020; RAMOS et al., 2020; SILVA, E. B. M. et al., 2020; SILVA, M. R et al., 2020; SILVA, V. D. M.; ARQUELAUA, P. B. F. et al., 2020; SILVA, V. D. M., MACEDO, M. C. C. et al., 2020).

Figura 1. Diagrama da fonte de ionização por *paper spray.*



As condições instrumentais das análises foram: voltagem da fonte PS-MS igual a + 4,0 kV (modo positivo) e – 3,0 kV (modo negativo); voltagem do capilar de 40 V; temperatura do tubo de transferência de 275 °C; voltagem das lentes do tubo de 120 V; faixa de massas de 50 a 600 *m/z* (modo positivo) e de 50 a 1000 *m/z* (modo negativo). Para identificação dos compostos foi realizada a comparação das razões massa carga de dados da literatura com os sinais instrumentais obtidos e a subsequente fragmentação por meio da espectrometria de massas sequencial. As energias de colisão utilizadas para fragmentação dos compostos variou de 15 a 30 e V.

Análise estatística

Os espectros de massas obtidos foram processados utilizando o software Xcalibur versão 2.1 (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA). Os espectros PS-MS médios dos modos positivo e negativo para cada amostra foram determinados utilizando uma planilha do Excel 2013 (Microsoft, Redmond, WA, EUA).

Os *fingerprints* das amostras no modo positivo e negativo foram dispostos, respectivamente, em uma matriz X (25 x 551) e Y (25 x 901). Os dados foram centrados na média e

a análise de componentes principais foi realizada utilizando-se o software MatLab, versão 7.9.0.529 (Mathworks, Natick, Massachusetts, EUA) com auxílio do PLS Toolbox, versão 5.2.2 (Eigenvectors Research, Manson, Washington, EUA).

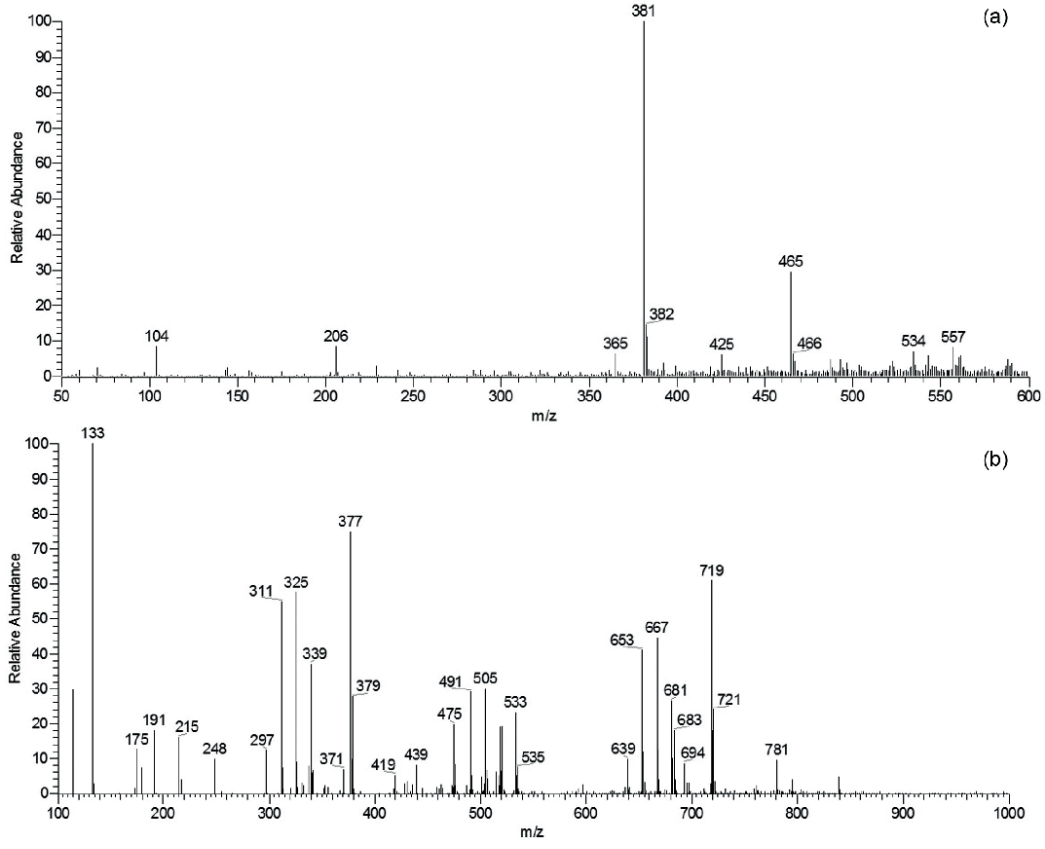
A fim de avaliar a capacidade de diferenciação do modelo PCA, um modelo de fusão de dados foi proposto (GUTIÉRREZ et al., 2013). Isto é possível porque os compostos detectados em ambos os modos de ionização foram distintos, portanto, padrões de informações diferentes estão presentes nos resultados da PS(+)-MS e PS(-)-MS. Para isto, as matrizes X e Y foram concatenadas de modo a se obter uma matriz Z (25 x 1452). Os dados da matriz resultante foram tratados de modo similar aos anteriores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fingerprints PS-MS

Exemplos de espectros PS-MS de cagaitas nos modos positivo e negativo estão ilustrados na Figura 2. De modo geral, foi possível identificar íons referentes a moléculas de aminoácidos, açúcares, delfinidinas e cumarinas no modo positivo na forma de moléculas protonadas e/ou adutos de potássio. Já no modo negativo encontrou-se ácidos orgânicos, açúcares, compostos fenólicos ionizados nas formas de moléculas desprotonadas.

Figura 2. Representação do (+)PS-MS (A) e (-)PS-MS (B) de uma amostra de cagaita.



Fingerprints PS(+)-MS

Na Tabela 4 está apresentado o *fingerprint* das cagaitas obtido empregando-se a PS-MS no modo positivo.

Fazendo-se a atribuição dos sinais detectados no modo positivo e analisando os resultados dos ensaios MS/MS (*m/z* 60), identificou-se o íon m/z 104 como colina. Este composto derivado da serina indica condições de estresse aos quais a planta foi exposta, tais como a menor disponibilidade de água, frio/congelamento ou a presença de metais tóxicos (SERVILLO et al., 2011).

O sinal *m/z* 175 refere-se à *L*-arginina protonada. Esse aminoácido apresenta um padrão de fragmentação diferente ao comumente observado em outros aminoácidos, não sendo caracterizado pela perda de NH3. Sua identificação foi confirmada pelos íons característicos obtidos após as reações de fragmentação (*m/z* 60, 70 e 129).

O sinal com *m/z* 381 pode ser identificado como sacarose $[Suc + K]^+$ ou hexose $[2Hex + K - H_2O]^+$. Tal caracterização também foi realizada nos trabalhos de Asakawa e Hiraoka (2010) e Chen et al. (2011) ao investigarem a presença de oligossacarídeos em frutas usando espectrometria de massas. A existência desses açúcares em polpas de cagaitas com casca já foi relatada por Ribeiro et al. (2011) ao encontrarem 2,54% de frutose, 1,75% de glicose e 0,59% de sacarose.

O íon com *m/z* 206 pode ser reconhecido como citropteno, uma cumarina que foi identificada baseada na sua transição MS/MS 206→121, a qual também foi observada por Ledesma-Escobar, Priego-Capote e Castro (2015) ao avaliarem os parâmetros de identificação de cumarinas em limão (*Citrus limon*) por LC-MS. O íon com m/z 465 foi atribuído a delfinidina-3-glicosídeo, sendo a confirmação baseada no seu íon MS2 (*m/z* 303, -162 amu), resultante da perda de uma unidade de hexose. Estudos anteriores com cagaitas avaliaram somente as antocianinas totais conforme descrito por Siqueira et al. (2013) que encontraram 0,38 mg 100 g^{-1}.

Table 1. Compostos identificados em cagaitas por PS(+)-MS.

Composto	m/z	ID	MS/MS	Referência
Colina	104	$[M+H]^+$	60	Servillo et al. (2011)
L-arginina	175	$[M+H]^+$	60, 70, 129	Gogichaeva, Williams e Alterman (2006), Ozcan e Senyuva (2006)
Citropteno	206	$[M]^+$	121	Ledesma-Escobar, Priego-Capote e Castro (2015)
Sacarose ou Hexoses	381	$[Suc + K]+$ ou $[M+K]^+$	-	
Delfinidina-3-glicosídeo	465	$[M]^+$	303	Flores et al. (2012) e Silva et al. (2014)

Fingerprints PS(-)-MS

O *fingerprint* da cagaita obtido empregando-se a PS-MS no modo negativo está apresentado na Tabela 4. Esse método permitiu a identificação de vários compostos abrangendo ácidos orgânicos, açúcares e compostos fenólicos.

Ácidos orgânicos

Os sinais com *m/z* 115 e 133 apresentaram íons fragmentados com *m/z* 71 [$C_3H_3O_2$]- e 89 [M - H - CO_2]-, portanto, foram identificados como ácido málico. O íon com *m/z* 191 foi denominado como ácido cítrico com base nos íons obtidos após a reação de fragmentação com *m/z* 85 e 111 [M - H_2O - COOH - OH]-. Esses dois ácidos orgânicos também foram encontrados por Ramos et al. (2015) ao investigarem os constituintes do araçá-pera (*Psidium acutangulum*) por meio da HPLC-MS.

Açúcares

Baseado no perfil de fragmentação apresentado na Tabela 4, os sinais com *m/z* 179, 215, 377 e 521 foram reconhecidos como açúcares. Ribeiro et al. (2011) relataram a presença de glicose e frutose (1,75 e 2,54 g $100g^{-1}$, respectivamente) em polpas de cagaitas com casca por meio da HPLC. Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com o observado por Chen et al. (2011) ao determinarem os oligossacarídeos presentes em frutas por meio da *electrospray droplet impact/secondary ion mass spectrometry* (EDI/SIMS) e por Roesler et al. (2007) ao investigarem os principais constituintes de araticum (*Annona crassiflora*) através do ESI-MS.

Ácidos hidroxicinâmicos

O sinal com *m/z* 311 apresentou íon de fragmentação com m/z 133, sendo desta maneira identificado como ácido caftárico, o qual corresponde a um composto fenólico não flavonoide que tem sua origem a partir da esterificação do ácido cafeico com o ácido tartárico. Estudos anteriores já relataram sua presença em uma planta medicinal chinesa (*Taraxacum formosanum*) e em vinhos (SUN et al., 2007; CHEN et al., 2012).

O íon com *m/z* 325 correspondeu a um ácido hidroxinâmico conjugado a uma hexose denominado hexosídeo de ácido *p*-cumárico. A identificação foi confirmada pelo espectro de massa MS2 com *m/z* 119 e 145. Essa substância foi relatada anteriormente por Kajdžanoska et al. (2010) em morangos (*Fragaria ananassa*) e por Mikulic-Petkovsek et al. (2015) em mirtilos (*Vaccinium myrtillus* L.) por meio do LC/DAD/ESI-MS.

O sinal com *m/z* 339 foi atribuído ao ácido cafeico na forma conjugada com uma hexose (cafeoil-D-glicose). O íon fragmentado obtido (*m/z* 159) foi resultante da perda do ácido cafeico (-170 amu). O ácido cafeico já foi descrito em cagaitas no estudo realizado por Guedes et al. (2017), empregando-se a HPLC. Essa substância nessa forma conjugada foi relatada anteriormente por Chen et al. (2012) em ervas medicinais chinesas por meio da LC-MS/MS.

O íon com *m/z* 681 pode ser definido como galoilado de hexosídeo de ácido cafeico, uma vez que apresentou perfil de fragmentação característico proveniente da perda de ácido gálico (íon m/z 511, -170 amu). A substância com m/z 683 pode ser identificada como dímero de ácido cafeico 3-glicosídeo, uma vez que apresentou a transição MS/MS 683→341, provavelmente resultante da perda de hexoses (-342 amu).

Ácidos hidroxibenzóicos

O sinal com *m/z* 359 pode ser reconhecido como hexosídeo de ácido siríngico, pois, apresentou íons fragmentados com *m/z* 153 ([M - H - CO_2]) e 197, o qual foi resultante da eliminação de um grupo hexosil (-162 amu). O ácido siríngico já foi descrito anteriormente em cagaitas no trabalho de Guedes et al. (2017). O sinal com *m/z* 491 apresentou íon fragmentado com *m/z* 454, sendo, assim, identificado como hexosídeo dimetil ácido elágico.

Flavonas

A substância com *m/z* 431 com perfil de fragmentação com *m/z* 341 ([$C_{18}H_{13}O_7$]-) foi reconhecida como vitexina. Essa flavona, pertencente à classe de flavonoides e já foi relatada anteriormente por Silva et al. (2014) em frutas de jussara (*Euterpe edulis* Mart.), utilizando-se a HPLC-DAD-MS/MS. Koolen et al. (2013) também identificaram esse flavonoide ao investigarem os compostos fenólicos do buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) por UPLC–ESI-MS/MS.

Tabela 2. Íons identificados em cagaitas por PS(-)-MS.

Composto	m/z	ID	MS/MS	Referência
Ácido málico	115	[M - H_2O - H]-	71	Wang et al. (2017)
Ácido málico	133	[M - H]-	71, 89, 115	Roesler et al. (2007)
Hexose	179	[M - H]-	71, 89	Roesler et al. (2007), Wang et al. (2017)
Ácido cítrico	191	[M - H]-	85, 111	Wang et al. (2017)
Hexose	215	[Hex + $2H_2O$ - H]-	71, 89, 179	Guo et al. (2017), Wang et al. (2017)
Ácido caftárico	311	[M - H]-	133	Abu-Reidah et al. (2015)
Hexosídeo de ácido *p*-cumárico	325	[M - H]-	119, 145	Aaby, Ekeberg e Skrede (2007), Kajdžanoska et al. (2010)
Cafeoil-D-glucose	339	[M - H]-	159	-
Hexosídeo de ácido siríngico	359	[M - H]-	153, 197	Barros et al. (2012); Abu-Reidah et al. (2015)

Composto	m/z	ID	MS/MS	Referência
Hexose ou sacarose	377	[2Hex + H_2O - H]- ou [Suc + $2H_2O$ - H]-	341	Chen et al. (2011)
Vitexina	431	[M - H]-	341	Koolen et al. (2013); Wang et al. (2017)
Hexosídeo dimetil ácido elágico	491	[M - H]-	454	Gordon et al. (2011)
Hexose	521	[3Hex - H_2O - H]-	341	-
Galoilado de hexosídeo de ácido cafeico	681	[M - H]-	511	-
Dímero de ácido cafeico 3-glicosídeo	683	[M - H]-	341	Spinola et al. (2015)

Análise de Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais foi executada para as matrizes de dados X (25 x 551) e Y (25 x 901) construídas a partir dos espectros PS(+)-MS e PS(-)-MS. Os resultados destes modelos (Figuras 2) apresentaram a diferenciação de algumas amostras devido principalmente aos compostos *L*-arginina, sacarose, delfinidina-3-glicosídeo, colina e citropteno no modo positivo e às substâncias ácido cítrico, ácido caftárico, hexosídeo de ácido *p*-cumárico, hexoses e hexosídeo dimetil ácido elágico no modo negativo. Ambos os modelos foram construídos selecionando-se 3 componentes principais, as quais explicaram, respectivamente, 92,23% (modo positivo) e 70,79% (modo negativo) da variabilidade total dos dados.

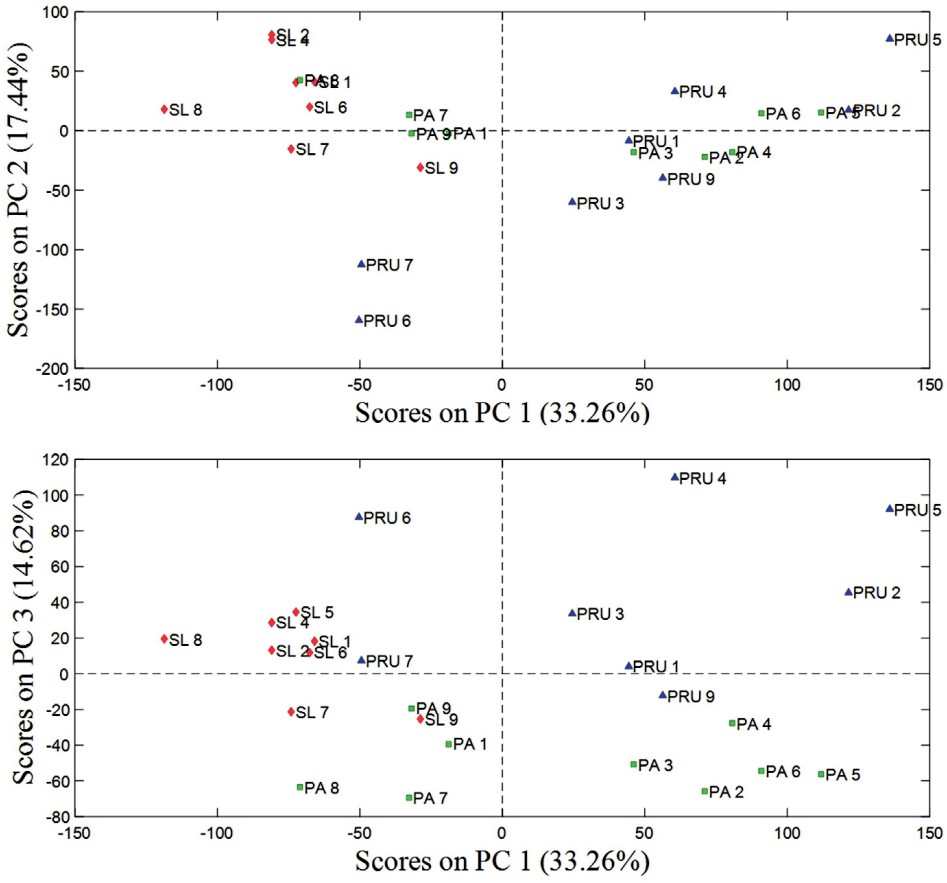
Como os padrões de informação obtidos por ambos os métodos de ionização foram diferentes, optou-se também pela construção de modelos de classificação a partir da abordagem da fusão de dados. Desta forma, foi possível correlacionar as distintas informações provenientes destes conjuntos de dados para aumentar a capacidade de classificação do modelo.

A fusão de dados foi realizada a partir da simples concatenação das matrizes de dados X e Y, o que resultou em uma matriz Z (25 x 1452). O modelo PCA resultante consistiu na seleção de três variáveis principais, as quais explicaram um total de 65,32% da variabilidade total dos dados.

A Figura 3 ilustra os escores de CP 1, CP 2 e CP 3 do modelo PCA após a fusão de dados. A componente principal 1 (33,26 % de variabilidade dos dados) permitiu a separação de grande parte das amostras provenientes das microrregiões de Prudente de Moraes e Paraopeba (escores positivos) em relação às amostras de Sete Lagoas (escores negativos). A análise dos pesos da CP 1 mostra que as amostras com valores positivos apresentaram íons com *m/z* 381 (modo positivo) e *m/z* 179, 191, 215, 311, 325, 340, 371, 491, 505 e 519 (modo negativo). Já as amostras com valores negativos de escores apresentam as variáveis *m/z* 377, 431, 521, 683 e 719 (modo negativo) e m/z 206, 392 e 465 (modo positivo) com maiores valores de pesos.

Isto indica que fatores que podem ter sugerido a diferenciação das amostras destas regiões se diferiram principalmente devido ao tipo de substâncias fenólicas provenientes das condições de estresse metabólico e da variabilidade genética. Esta hipótese é plausível, visto que algumas amostras provenientes da região de Paraopeba (PA 1, 7, 8 e 9) se encontram agrupadas junto as amostras de Sete Lagoas.

Figura 3. Escores de CP 1, CP 2 e CP 3.



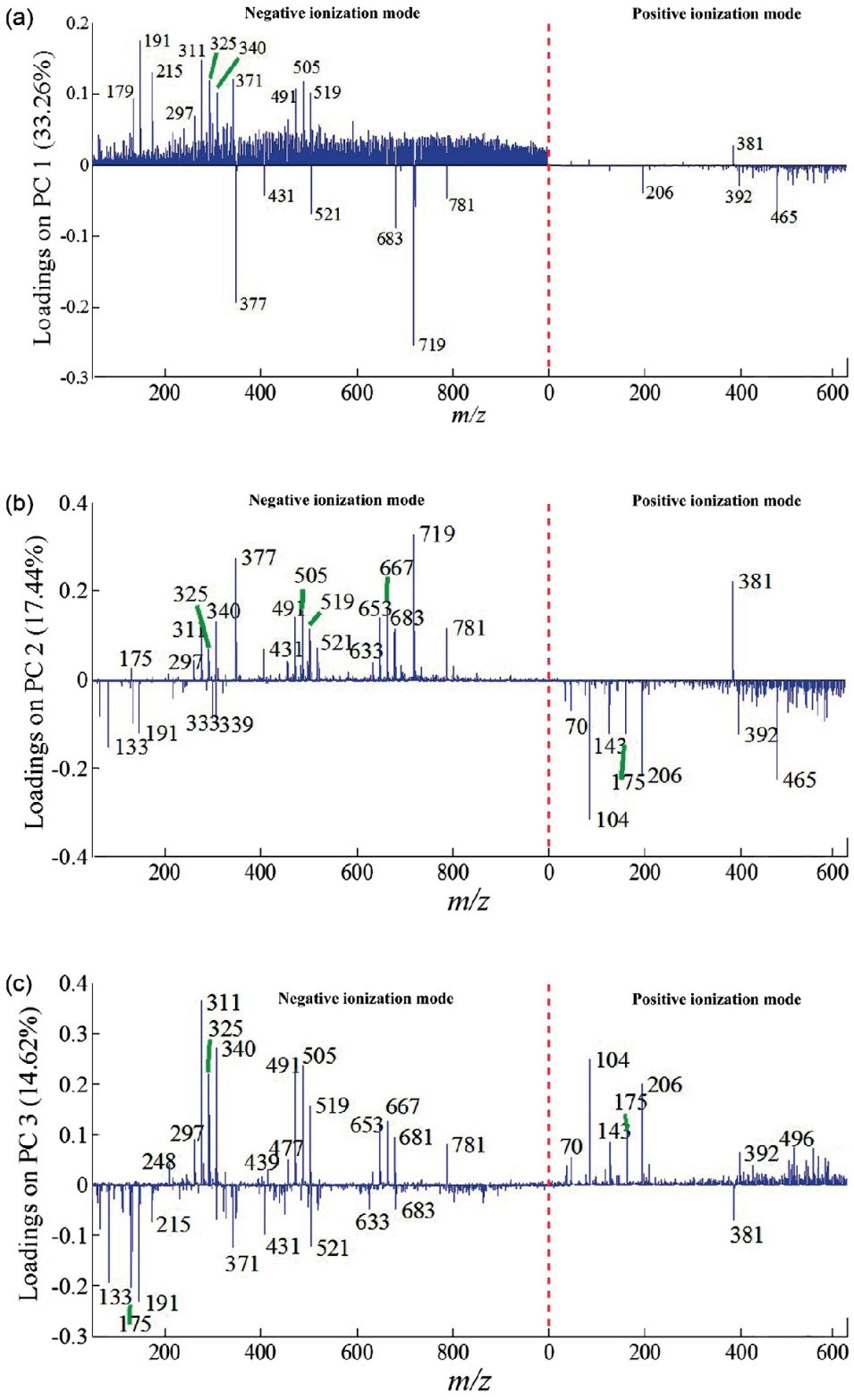
A componente principal 2 (17,44% da variabilidade) foi responsável pela diferenciação de algumas amostras provenientes da região Prudente (PRU 6 e PRU 7) em relação as demais amostras. A análise dos pesos desta componente indica que as amostras PRU 6 e PRU 7 apresentaram sinais com *m/z* 133, 191, 333 e 339 (modo negativo) e *m/z* 70, 104, 143, 175, 206, 392 e 465 (modo positivo).

Já a componente principal 3 (14,62% da variabilidade) permitiu a discriminação das cagaitas provenientes de Paraopeba (escores negativos). A análise dos pesos dessa CP mostrou que a diferenciação dessas amostras ocorreu principalmente devido aos sinais com m/z 133, 175, 191, 371, 431 e 521 (modo negativo) e *m/z* 381 (modo positivo).

Na Figura 4 estão mostrados os pesos das variáveis da CP 1 (A), CP 2 (B) e CP 3 (C). Os sinais de alguns açúcares com *m/z* 377 ([2Hex + H_2O - H]- ou [Suc + $2H_2O$ - H]-) e do sinal com m/z 719 contribuíram com sinais negativos mais intensos para a formação do

agrupamento 1 e 2 em CP 1. Por outro lado, o agrupamento 3 deu-se em função do sinal positivo proveniente do aduto de potássio da sacarose ([M+K]$^+$, *m/z* 381) e dos sinais da hexose (*m/z* 179), ácido cítrico (m/z 191), hexose (*m/z* 215), ácido caftárico (*m/z* 311), hexosídeo de ácido p-cumárico (*m/z* 325) e hexosídeo dimetil ácido elágico (*m/z* 491).

Figura 4. Pesos da CP 1 (A), CP 2 (B) e CP 3 (C).



Ressalta-se, ainda, que variações na composição das cagaitas podem estar associadas a alguns fatores como a localização geográfica dos frutos, variabilidade genética, fatores de estresse, exposição solar e a temperatura (RIBEIRO et al., 2013).

Portanto, isto é um indicativo que o método PS-MS possa ser uma ferramenta mais adequada para a análise de determinações de teores de substâncias fenólicas, visto que é possível a análise rápida, simples e com baixo custo de frutos de cada indivíduo.

CONCLUSÃO

A análise por PS-MS mostrou-se como uma técnica simples, rápida e eficiente na obtenção do *fingerprint* dos constituintes das cagaitas, permitindo a identificação de vários compostos tais como ácidos orgânicos, açúcares, aminoácidos e compostos fenólicos. O emprego da Análise dos Componentes Principais possibilitou uma diferenciação entre as cagaitas em função, principalmente, de açúcares e de diferentes compostos fenólicos.

REFERÊNCIAS

1. ALVES, A. M.; DIAS, T.; HASSIMOTTO, N. M. A.; NAVES, M. M. V. Ascorbic acid and phenolic contents, antioxidant capacity and flavonoids composition of Brazilian Savannah native fruits. **Food Science and Technology**, p. 1-6, 2017. https://doi.org/10.1590/1678-457x.26716

2. ASAKAWAY, D.; HIRAOKA, K. Direct profiling of saccharides, organic acids and anthocyanins in fruits using electrospray droplet impact/secondary ion mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 24, p. 2431-2438, 2010. https://doi.org/10.1002/rcm.4660

3. BARROS, L.; DUEÑAS, M.; CARVALHO, A. M.; FERREIRA, I. C. F. R.; SANTOS-BUELGA, C. Characterization of phenolic compounds in flowers of wild medicinal plants from northeastern Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 1576-1582, 2012. https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.004

4. CAMPELO, F. A.; HENRIQUES, G. S.; SIMEONE, M. L. F.; QUEIROZ, V. A. V.; SILVA, M. R.; AUGUSTI, R.; MELO, J. O. F.; LACERDA, I. C. A.; ARAÚJO, R. L. B. Study of Thermoplastic Extrusion and Its Impact on the Chemical and Nutritional Characteristics and Two Sorghum Genotypes SC 319 and BRS 332. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 788-802, 2020. http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20190243

5. CARDOSO, L. M.; MARTINO, H. S. D.; MOREIRA, A. V. B.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Cagaita (Eugenia dysenterica DC.) of the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: Physical and chemical characterization, carotenoids and vitamins. **Food Research International**, v. 44, p. 2151-2154, 2011. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.005

6. CHEN, H.-J.; INBARAJ, B. S.; CHEN, B.-H. Determination of phenolic acids and flavonoids in *Taraxacum formosanum* Kitam by liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with a post-column derivatization technique. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 260-285, 2012. https://doi.org/10.3390/ijms13010260

7. CHEN, R.; WANG, L.; XIONG, C.; ZHOU, Y.; ZHEN, C.; ZHANG, N.; TANG, Y.; ZHOU, X.; WANG, J.; NIE, Z.; CHEN, Y. Direct analysis of oligosaccharides and alpha hydroxy acids in fruits using electrosonic spray ionization mass spectrometry. **Analyst**, v. 136, p. 3809-3814, 2011. https://doi.org/10.1039/C1AN15390K

8. DENG, J.; YANG, Y. Chemical fingerprint analysis for quality assessment and control of Bansha herbal tea using paper spray mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 785, p. 82-90, 2013. https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.04.056

9. DONNA, L. D.; TAVERNA, D.; INDELICATO, S.; NAPOLI, A.; SINDONA, G.; MAZZOTTI, F. Rapid assay of resveratrol in red wine by paper spray tandem mass spectrometry and isotope dilution. **Food Chemistry**, v. 229, p. 354-357, 2017. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.098

10. EVARD, H.; KRUVE, A.; LÕHMUS, R.; LEITO, I. Paper spray ionization mass spectrometry: Study of a method for fast-screening analysis of pesticides in fruits and vegetables. **Journal of Food Composition & Analysis**, v. 41, p. 221-225, 2015. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.010

11. FLORES, G.; DASTMALCHI, K.; PAULINO, S.; WHALEN, K. DABO, A. J.; REYNERTSON, K. A., FORONJY, R. F.; D'ARMIENTO, J. M.; KENNELLY, E. J. Anthocyanins from *Eugenia brasiliensis* edible fruits as potential therapeutics for COPD treatment. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1256-1262, 2012. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.086

12. GARRETT, R.; REZENDE, C. M.; IFA, D. R. Coffee origin discrimination by paper spray mass spectrometry and direct coffee spray analysis. **Analytical Methods**, v. 5, p. 5944-5948, 2013. https://doi.org/10.1039/C3AY41247D

13. GOGICHAEVA, N. V.; WILLIAMS, T.; ALTERMAN, M. A. MALDI TOF/TOF Tandem mass spectrometry as a new tool for amino acid analysis. J**ournal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 18, p. 279-284, 2007. https://doi.org/10.1016/j.jasms.2006.09.013

14. GUEDES, M. N. S.; RUFINI, J. C. M.; MARQUES, T. R.; MELO, J. O. F.; RAMOS, M. C. P.; VIOL, R. E. Minerals and phenolic compounds of cagaita fruits at different maturation stages (*Eugenia dysenterica*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 1, p. 1-9, 2017.

15. GUO, Y.; GU, Z.; LIU, X.; LIU, J.; MA, M.; CHEN, B.; WANG, L. Rapid analysis of corni fructus using paper spray-mass spectrometry. **Phytochemical Analysis**, v. 28, p. 344-350, 2017. https://doi.org/10.1002/pca.2681

16. GUTIÉRREZ, J. M.; HADDI, Z.; AMARI, A.; BOUCHIKHI, B.; MIMENDIA, A.; CETÓ, X.; VALLE, M. D. Hybrid electronic tongue based on multisensory data fusion for discrimination of beers. **Sensors and Actuators B**, v. 177, p. 989-996, 2013. https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.11.110

17. KAJDŽANOSKA, M.; GJAMOVSKI, V.; STEFOVA, M. HPLC-DAD-ESI-MSn identification of phenolic compounds in cultivated strawberries from Macedonia. **Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 29, n. 2, p. 181-194, 2010. http://dx.doi.org/10.20450/mjcce.2010.165

18. KOOLEN, H. H. F.; SILVA, F. M. A.; GOZZO, F. C.; SOUZA, A. Q. L.; SOUZA, A. D. L. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 51, p. 467-473, 2013. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.039

19. LEDESMA-ESCOBAR, C. A.; PRIEGO-CAPOTE, F.; CASTRO, M. D. L. Characterization of lemon (*Citrus limon*) polar extract by liquid chromatography–tandem mass spectrometry in high resolution mode. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 50, p. 1196-1205, 2015. https://doi.org/10.1002/jms.3637

20. LI, A.; WEI, P.; HSU, H.-C.; COOKS, R. G. Direct analysis of 4-methylimidazole in foods using paper spray mass spectrometry. **Analyst**, v. 138, p. 4624-4630, 2013. https://doi.org/10.1039/C3AN00888F

21. MAZZOTTI, F.; DONNA, L. D.; TAVERNA, D.; NARDI, M.; AIELLO, D.; NAPOLI, A.; SINDONA, G. Evaluation of dialdehydic anti-inflammatory active principles in extra-virgin olive oil by reactive paper spray mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 352, p. 87-91, 2013. https://doi.org/10.1016/j.ijms.2013.07.012

22. MIKULIC-PETKOVSEK, M.; SCHMITZER, V.; SLATNAR, A.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R. A comparison of fruit quality parameters of wild bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) growing at diferent locations. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, p. 776-785, 2015. https://doi.org/10.1002/jsfa.6897

23. MINIGHIN, E. C.; ANASTÁCIO, L. R.; MELO, J. O. F.; LABANCA, R. A. Açai (*Euterpe oleracea*) and its contributions to achieve acceptable daily intake of essential fatty acids. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, e760986116, 2020. http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6116

24. OLIVEIRA, C. T.; RAMOS, A. L. C. C.; MENDONCA, H. O. P.; CONSENZA, G. P.; SILVA, M. R.; FERNANDES, C.; AUGUSTI, R.; MELO, J. O. F.; FERREIRA, A. V. M.; ARAUJO, R. L. B. Quantification of 6-gingerol, metabolomic analysis by paper spray mass spectrometry and determination of antioxidant activity of ginger rhizomes (*Zingiber officinale*). **Research, Society and Development**, v. 9, p. e366984822, 2020. http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.4822

25. OZCAN, S.; SENYUVA, H. Z. Improved and simplified liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry method for the analysis of underivatized free amino acids in various foods. **Journal of Chromatography A**, v. 1135, p. 179-185, 2006. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.09.039

26. PEREIRA, H. V.; AMADOR, V. S.; SENA, M. M.; AUGUSTI, R.; PICCIN, E. Paper spray mass spectrometry and PLS-DA improved by variable selection for the forensic discrimination of beers. **Analytica Chimica Acta**, v. 940, p. 104-112, 2016. https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.08.002

27. RAMOS, A. L. C. C.; MENDES, D. D.; SILVA, M. R.; AUGUSTI, R., MELO, J. O. F.; ARAÚJO, R. L. B.; LACERDA, I. C. A. Chemical profile of *Eugenia brasiliensis* (Grumixama) pulp by PS/MS paper spray and SPME-GC / MS solid-phase microextraction. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, e318974008, 2020. http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4008

28. RAMOS, A. S.; SOUZA, R. O. S.; BOLETI, A. P. A.; BRUGINSKI, E. R. D.; LIMA, E. S.; CAMPOS, F. R.; MACHADO, M. B. Chemical characterization and antioxidant capacity of the araçá-pera (*Psidium acutangulum*): An exotic Amazon fruit. **Food Research International**, v. 75, p. 315-327, 2015. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.026

29. RIBEIRO, E. M. Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com e sem casca. Rio de Janeiro: Faculdade de Farmácia, Universidade Federa do Rio de Janeiro, 2011. 77 p. (Dissertação, Mestrado em Ciências Farmacêuticas).

30. RIBEIRO, E. M. G.; CARVALO, L. M. J.; ORTIZ, G. M. D.; CARDOSO, F. S. N.; VIANA, D. S.; CARVALHO, J. L. V.; GOMES, P. B.; TEBALDI, N. M. An overview on cagaita (**Eugenia dysenterica** DC) macro and micro components and a technological approach. In: MUZZALUPO, I. Food Industry. Rijeka: Viktorija Zgela, p. 3-22, 2013.

31. ROESLER, R.; CATHARINO, R. R.; MALTA, L. G.; EBERLIN, M. N.; PASTORE, G. Antioxidant activity of *Annona crassiflora*: Characterization of major components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1048-1054, 2007. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.017

32. SERVILLO, L.; GIOVANE, A.; BALESTRIERI, M. L.; BATA-CSERE, A.; CAUTELA, D.; CASTALDO, D. Betaines in fruits of citrus genus plants. **Journal of Food Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 9410-9416, 2011. https://doi.org/10.1021/jf2014815

33. SILVA, E. B. M.; AUGUSTI, R; MELO, J. O. F.; TAKAHASH, J. A.; ARAÚJO, R. L. B. de. Physicochemical characterization, antioxidant activity and fingerprints of industrialized "detox" mixed beverages by paper spray mass spectrometry. **Química Nova**, v. 43, n. 3, p.319-324, 2020. http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170490

34. SILVA, M. R.; FREITAS, L. G.; SOUZA, A. G.; ARAÚJO, R. L.; LACERDA, I. C.; PEREIRA, H. V.; AUGUSTI, R.; MELO, J. O. F. Antioxidant Activity and Metabolomic Analysis of Cagaitas (*Eugenia dysenterica*) using Paper Spray Mass Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 5, p. 1034-1044, 2019. https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190002

35. SILVA, N. A.; RODRIGUES, E.; MERCADANTE, A. Z.; ROSSO, V. V. Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 5072-5084, 2014. https://doi.org/10.1021/jf501211p

36. SILVA, V. D. M.; ARQUELAUA, P. B. F.; SILVA; M. R.; AUGUSTI, R.; MELO, J. O. F.; FANTE, C. A. Use of paper spray-mass spectrometry to determine the chemical profile of ripe banana peel flour and evaluation of its physicochemical and antioxidant properties. **Química Nova**, v. 43, n. 5, p. 579-585, 2020. http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170521

37. SILVA, V. D. M.; MACEDO, M. C. C.; SANTOS, A. N.; SILVA, M. R.; AUGUSTI, R.; LACERDA, I. C. A.; MELO, J. O. F.; FANTE, C. A. Bioactive activities and chemical profile characterization using paper spray mass spectrometry of extracts of Lindl. leaves. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 34, p. 1, 2020. https://doi.org/10.1002/rcm.8883.

38. SIQUEIRA, E. M. A.; ROSA, F. R.; FUSTINONI, A. M.; SANT'ANA, P.; ARRUDA, S. F. Brazilian savanna fruits contain higher bioactive compounds content and higher antioxidant activity relative to the conventional red delicious apple. **Plos One**, v. 8, n. 8, p. 1-7, 2013. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072826

39. SNEHA, M.; DULAY, M. T.; ZARE, R. N. Introducing mass spectrometry to first-year undergraduates: Analysis of caffeine and other components in energy drinks using paper-spray mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 418, p. 156-161, 2016. https://doi.org/10.1016/j.ijms.2016.09.019

40. SUN, J.; LIANG, F.; BIN, Y.; LI, P.; DUAN, C. Screening Non-colored phenolics in red wines using liquid chromatography/ultraviolet and mass spectrometry/mass spectrometry libraries. **Molecules**, v. 12, p. 679-693, 2007. https://doi.org/10.3390/12030679

41. TAVERNA, D.; DONNA, L. D.; BARTELLA, L.; NAPOLI, A.; SINDONA, G.; MAZZOTTI, F. Fast analysis of caffeine in beverages and drugs by paper spray tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, p. 3783-3787, 2016. https://doi.org/10.1007/s00216-016-9468-1

42. TAVERNA, D.; DONNA, L. D.; MAZZOTTI, F.; POLICICCHIO, B.; SINDONA, G. High-throughput determination of Sudan Azo-dyes within powdered chili pepper by paper spray mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 48, p. 544-547, 2013. https://doi.org/10.1002/jms.3181

43. TEODORO, J. A. R.; PEREIRA, H. V.; SENA, M. M.; PICCIN, E.; ZACCA, J. J.; AUGUSTI, R. Paper spray mass spectrometry and chemometric tools for a fast and reliable identification of counterfeit blended Scottish whiskies. **Food Chemistry**, v. 237, p. 1058-1064, 2017. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.062

44. WANG, H.; LIU, J.; COOKS, R. G.; OUYANG, Z. Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 49, p. 877-880, 2010. https://doi.org/10.1002/anie.200906314

45. WU, S.-B.; DASTMALCHI, K.; LONG, C.; KENNELLY, E. J. Metabolite Profiling of jaboticaba (Myrciaria cauliflora) and other dark-colored fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 7513-7525, 2012. https://doi.org/10.1021/jf301888y

46. ZHI-PING, Z.; XIAO-NING, L.; YA-JUN, Z. Ambient ionization-paper spray ionization and its application. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 42, n, 1, p. 145-152, 2014. https://doi.org/10.1016/S1872-2040(13)60706-9

03

Atividade antiaterogênica das antocianinas

- Pâmela Rubiane Braga **Caldas**
  URCAMP
- Beatriz Baumgratz **Mota**
  URCAMP
- Bruna **Magalhães**
  URCAMP
- Reni **Rockenbach**
  URCAMP
- Monica Palomino de Los **Santos**
  URCAMP
- Guilherme Cassão Marques **Bragança**
  URCAMP
- Vera Maria de Souza **Bortolini**
  URCAMP

doi 10.37885/201102138

RESUMO

Conforme a Organização Mundial da Saúde, as doenças cardiovasculares são as principais causas de morte no mundo, tornando alimentação saudável imprescindível para a prevenção e/ou tratamento destas patologias. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão na literatura sobre os eventuais efeitos benéficos das antocianinas relacionados à prevenção e tratamento da aterosclerose. Foram utilizados os banco de dados: Scielo, Lilacs, Pubmed, Bireme e Google acadêmico, com textos nacionais e internacionais publicados entre 2005 e 2015. Baseado nos termos de indexação da base de dados e nos termos apresentados na literatura, foram determinadas as palavras a serem utilizadas na busca: aterosclerose, antocianinas, atividade antioxidante, atividade anti- inflamatória, totalizando em 110 textos de busca, selecionados 39 relacionados às Palavras-chave e 9 estudos experimentais com humanos, ratos, camundongos e coelhos referentes ao tema principal: atividade antiaterogênica das antocianinas. Sendo assim, conclui-se que a literatura analisada mostrou-se unânime quanto aos benefícios das antocianinas na aterosclerose, atribuindo os benéficos antiaterogênicos às ações antioxidante, anti-inflamatória, vasodilatadora, hipolipidêmica e ainda regressiva da placa. Porém, faz-se necessário novos estudos, que possam aumentar as evidencias desses fatos e estabelecer o mecanismo pelo qual as antocianinas poderiam, de fato, auxiliar na prevenção e tratamento da aterosclerose.

Palavras-chave: Aterosclerose, Antocianinas, Atividade Antioxidante, Atividade Anti-Inflamatória.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a saúde mundial passou por uma transição nutricional, em que o padrão alimentar, baseado no consumo de cereais, leguminosas, raízes e tubérculos vêm sendo substituído por uma alimentação rica em gorduras e açúcares. Tais mudanças expõem a população ao maior risco de desenvolvimento de doenças crônicas, como a aterosclerose (MARTINS et al., 2013).

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica que ocorre em resposta à agressão endotelial, acometendo principalmente a camada íntima de artérias de médio e grande calibre (Xavier, 2007, Alves & Marques, 2009). Os estudos desta patologia investigam a hipótese oxidativa como precursora do processo aterosclerótico. Essa hipótese afirma que a modificação oxidativa da *Low Density Lipoprotein* (LDL) é característica fundamental para o desenvolvimento da aterosclerose (LOTTENBERG, 2009).

É imprescindível enfatizar a importância da alimentação, que por sua vez, associada ao sedentarismo, está entre os dez principais fatores relacionados ao desenvolvimento da aterosclerose (MENDES, 2009; MARIANI, SPERETTA, 2011). Neste contexto destacamos o papel preventivo das antocianinas, que através das suas cores atrativas, solubilidades em água, capacidade antioxidante e principalmente aos efeitos benéficos à saúde promovidos por estas características. Seu potencial antioxidante é regulado por suas diferenças na estrutura química e, além disso, esta classe de compostos fenólicos demonstrou também atividades anti-inflamatórias, antiaterogênicas e propriedades anticarcinogênicas (VOLP et al., 2009). O objetivo deste estudo foi avaliar os eventuais efeitos benéficos das antocianinas relacionados à prevenção e tratamento da aterosclerose.

METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão bibliográfica sobre a atividade antiaterogênica das antocianinas, enfatizando a doença aterosclerótica, antocianinas, atividades antioxidante e anti-inflamatória destes compostos fenólicos e as recomendações para a patologia cardiovascular em questão. Para o levantamento, foram utilizados os banco de dados: Scielo, Lilacs, Pubmed, Bireme e Google acadêmico, com textos nacionais e internacionais publicados entre 2005 e 2015. Baseado nos termos de indexação da base de dados e nos termos apresentados na literatura, foram determinadas as palavras a serem utilizadas na busca e sua forma de combinação: aterosclerose, antocianinas, atividade antioxidante, atividade anti-inflamatória. O levantamento bibliográfico realizado totalizou em 110 textos de busca, sendo selecionados 39 relacionados às palavras chaves e 9 estudos experimentais com humanos, ratos, camundongos e coelhos referentes ao tema principal: atividade antiaterogênica das antocianinas.

Tais estudos tiveram como objetivo a relação das antocianinas e a hipercolesterolemia, antocianinas e atividade antioxidante, antocianinas e atividade anti-inflamatória, antocianinas e hipertrigliceridemia e antocianinas e dislipidemia, atendendo assim aos objetivos da pesquisa. Os textos excluídos consistem em publicações fora do período estabelecido ou não faziam relação com o tema proposto.

Aterosclerose

A Doença Arterial Coronariana (DAC), também conhecida como aterosclerose, é caracterizada pelo estreitamento das artérias coronárias em virtude do espessamento endotelial causado pelo acúmulo de placas ateromatosas causando obstruções que impedem o fluxo sanguíneo. Trata-se da principal causa de infartos, acidentes vasculares e doença arterial periférica. (ALVES e MARQUES, 2009). Conforme a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2016), as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo. Estima- se que 17,5 milhões de pessoas morreram por doenças cardiovasculares em 2012, representando 31% de todas as mortes em nível global.

O desenvolvimento da aterosclerose é relacionado à presença de diferentes fatores de risco, sendo eles classificados como modificáveis e não modificáveis. Os fatores não modificáveis independem do modo de como o indivíduo leva a vida, e incluem a hereditariedade, o sexo, a idade e a etnia, enquanto os fatores modificáveis estão intimamente ligados às características de vida de cada um, sendo eles o sedentarismo, o consumo alimentar inadequado, a obesidade, o tabagismo, a hipertensão arterial, as dislipidemias e o *diabetes mellitus* (SALVARO e JÚNIOR, 2009). Outro ponto que merece destaque, associado ao desenvolvimento da aterosclerose, é a presença de elevadas concentrações plasmáticas de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) – colesterol - no organismo, estando esta disfunção presente em patologias como a hipertensão arterial sistêmica, e nas dislipidemias (SILVA, MARANHÃO e VINAGRE, 2010).

O estresse oxidativo está presente em cada um dos fatores de risco para aterosclerose de que se tem conhecimento. Acredita-se que o excesso crônico de fluxo das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio no organismo está vinculado com o início e/ou a progressão da aterosclerose, pois ativam o endotélio vascular a um perfil pró-aterogênico (SIGNORI et al., 2006).

Nutrição e Aterosclerose

O papel da nutrição vem de encontro ao contexto abordado, agindo de forma positiva, e intervindo significativamente frente às doenças crônicas (ZIMMERMANN e KIRSTEN, 2008). Logo, um dos principais tratamentos para as dislipidemias é a dietoterapia, podendo ser

aplicada isoladamente ou em conjunto. As frutas e verduras são fundamentais a todo regime alimentar saudável, entretanto a redução do consumo de sal nos alimentos processados, açúcares e gorduras na dieta, particularmente as saturadas, a prática regular de atividade física, não fumar, aumentar o consumo de ácidos graxos ômega-3 provenientes de óleo de peixe ou fontes vegetais, nozes e grão integrais e manter um peso saudável são indispensáveis para compor o conjunto preventivo da aterosclerose (SCHERR, 2009).

Antocianinas

A categoria dos flavonoides constitui o mais importante grupo de compostos fenólicos, e estão divididos nos seguintes subgrupos: antocianinas, flavanas, flavononas, flavonas, flavonóis e isoflavonóides. Os flavonóides podem auxiliar na prevenção de DCNT, quando ingeridos de forma regular através da dieta, devido aos seus efeitos antioxidantes, anticarcinogênicos, anti-inflamatórios, antiaterogênicos, hipoglicemiantes, além de atividades antibacterianas e antivirais, os quais se refletem diretamente na prevenção e tratamento de várias doenças, principalmente as cardiovasculares (PIMENTEL, FRANCKI, GOLLUCKE, 2005; CARDOSO, LEITE, PELUZIO, 2011).

A estrutura química básica de uma antocianina é a de um difenilpropanóide [C6 (anel A)-C3(anel C) - C6(anel B)] baseado numa estrutura em anel polifenólica (PRIOR;WU, 2006).

Na dieta humana, as antocianinas são encontradas no vinho tinto, em algumas variedades de cereais, em vários vegetais folhosos e tubérculos (couve, feijão, cebola, berinjelas e rabanete), mas é achada abundantemente nos frutos (OGAWA et al., 2008). A quantidade de antocianinas nos alimentos é geralmente proporcional à intensidade da cor e aumentam conforme a maturação do fruto. Encontram-se, preferencialmente, na pele, embora algumas também existam na polpa e conferem as colorações vermelha, azul e roxa a muitas frutas e vegetais (CURTIS, 2009).

Atividade antioxidante

As antocianinas são os compostos hidrossolúveis que contribuem com a maior capacidade antioxidante (OLIVEIRA et al, 2015), conforme Chakraborty (2009), os antioxidantes agem protegendo as células do organismo de lesões causadas por substâncias instáveis, como os radicais livres, destruindo-as, além de fornecer um suporte para o sistema imunológico, evitando assim o aparecimento e a progressão de uma variedade de doenças. Os radicais livres caracterizam-se por possuírem um ou mais elétrons desemparelhados, sendo extremamente instáveis e reativos colaborando de maneira prejudicial para o organismo resultando em lesões. Podem ser sintetizados quer por fontes endógenas, através de processos metabólicos fisiológicos, como por exemplo, através da respiração aeróbica, pela

atividade dos peroxissomas e enzimas do citocromo P450, quer por fontes exógenas, como por exemplo, devido à exposição a radiações ultravioleta (UV), gama ou raio-X, ozono, fármacos, stress, dieta, tabaco, poluição e solventes orgânicos (BIANCHI; ANTUNES, 2010 APUD VALENTE, 2014).

O efeito antioxidante das antocianinas torna-as uma importante ferramenta na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis e prevenção de diversos tipos de neoplasias (SANTOS et al, 2014).

Atividade anti-inflamatória

A atividade anti-inflamatória das antocianinas é sugerida por alguns autores através dos seguintes mecanismos: Inibição da ativação do fator nuclear Kappa B (NF-kB) em humano (KARLSEN, et.al, 2007). Inibição da resposta inflamatória e a apoptose de células endoteliais humanas induzidas pelo fator CD40 (LING, et. al., 2009). Redução da frequência de núcleos necróticos grandes, da espessura da cápsula fibrosa e um aumento no conteúdo de colágeno 1 (XIA, et al, 2006).

Antocianinas na prevenção e no tratamento do processo aterosclerótico

Foram realizados vários estudos com enfoque na possível ação das antocianinas na prevenção e no tratamento da aterosclerose. Podemos citar Winther, et al., 2005; Ribeiro, et al., 2005; Xia, et al., 2006; Miyazaki, et al, 2008; Ling, et al., 2009; Xia, et al. 2009; Mauray et al., 2009; Souza, et al., 2010; Zhu et al., 2011, que analisaram a ingestão de cápsulas de antocianinas em coelhos, extrato de arroz preto em ratos, batata doce roxa em ratos, cápsulas de antocianinas em humanos, uvas em camundongos, polpa de açaí em ratos e antocianinas puras em humanos e ratos, respectivamente.

Ribeiro et al., 2005 analisaram os efeitos da antocianina de uva no peso e níveis sanguíneos de glicose e triglicerídeos em coelhos diabéticos e constataram que os animais diabéticos desenvolveram hipertrigliceridemia, fator este relacionado com a aterosclerose, no qual associaram como consequência da diabetes, estendendo-se também para os animais do grupo tratado. Os resultados apresentados por um dos grupos evidenciaram que a antocianina foi eficiente em reduzir os níveis de triglicerídeos em coelhos com hipertrigliceridemia induzida por diabetes e que a redução se tornou significativa aos 35 dias de experimento, porém houve ganho de peso significativo neste mesmo grupo.

Xia et al., 2006 investigaram a influência de dietas suplementadas com extrato de arroz preto com alto teor de antocianina (300 mg/Kg/dia) e com sinvastatina (50 mg/ Kg/dia) no estado de placas ateroscleróticas avançadas em camundongos idosos deficientes na apoproteína E. A potência e a eficácia do extrato contendo antocianinas neste modelo animal

bem caracterizado foram comparáveis às da sinvastatina, um agente clássico de redução do colesterol e anti-inflamatório. Após 20 semanas de intervenção, o tamanho da placa aterosclerótica foi reduzido em 18% e 13% nos grupos de animais que receberam o extrato e a sinvastatina, respectivamente. Em ambos os grupos houve redução da frequência de núcleos necróticos grandes, da espessura da cápsula fibrosa e um aumento no conteúdo de colágeno 1, comparado ao grupo controle. Sabe-se que o aumento no conteúdo de colágeno é importante, pois contribui para a estabilização das placas ateroscleróticas. Nos grupos que receberam o extrato e a sinvastatina também houve decréscimo da expressão da iNOS (óxido nítrico sintase reduzida) e do fator tecidual, que são importantes fatores pró-inflamatórios durante o desenvolvimento e progressão das lesões ateroscleróticas. Em adição, a suplementação na dieta com o extrato de arroz preto melhorou o perfil lipídico plasmáticos dos camundongos, diminuindo os triglicerídeos, colesterol total e a fração não HDL, porém, também reduziu a fração HDL (High Density Lipoproteins), comparado com o grupo controle. Comparado com o grupo do extrato, o grupo que recebeu sinvastatina apresentou níveis maiores de triglicerídeos e menores de HDL. Os autores atribuíram esses resultados benéficos do extrato ao seu alto conteúdo de antocianinas, pois a evidência experimental demonstrou que há aumento da estabilidade da placa em um modelo de camundongos apoE-deficiente, relacionado ao mecanismo da propriedade hipolipemiante e à sua atividade anti-inflamatória. Essas observações sugerem que as antocianinas podem fornecer meios terapêuticos acessíveis a fim de combater a placa vulnerável em pacientes e prevenir a ruptura da mesma e a posterior formação do trombo.

Karlsen, et.al, 2007 estudaram a possível inibição do (NF-kB) por ação das antocianinas, este fator é ativado pelo estresse oxidativo e estímulos pró-inflamatórios como citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão, proteínas de fase aguda, reguladores da apoptose e da proliferação celular, além de controlar a expressão de numerosos genes envolvidos na resposta inflamatória. Portanto, a inibição desta via pode contribuir para a redução do processo aterosclerótico. Em monócitos cultivados, as antocianinas isoladas de mirtilos e groselhas pretas (Medox) eliminaram efetivamente a ativação induzida por LPS (Lipopolissacarídeo) de NF-kB. Os resultados deste estudo sugere que a suplementação com antocianinas Medox para adultos saudáveis durante 3 semanas diminuíram as concentrações plasmáticas de várias quimiocinas pró-inflamatórias reguladas por NF-kB e citocinas imunorreguladoras. Houve também a inibição direta de LPS, responsável por induzir a ativação de NF-kB. O efeito benéfico da potencial redução de concentrações plasmáticas de vários mediadores inflamatórios, após a suplementação de antocianinas, sugerindo assim que as antocianinas possuem efeitos anti-inflamatórios.

Miyazaki et al., 2008 avaliaram o potencial antiaterogênico de antocianinas da batata doce roxa adicionadas por 4 semanas na dieta (1%) de camundongos deficientes na apoproteína-E e com 6 semanas de idade, alimentados com dieta enriquecida de colesterol e gorduras. In vitro, estas antocianinas foram capazes de aumentar a resistência da LDL à oxidação, comparado ao ácido L-ascórbico. Comparado ao grupo controle, os animais que receberam a dieta suplementada com antocianinas da batata doce roxa apresentaram uma redução de 46 % da placa aterosclerótica. Além disso, diminuiu os níveis de marcadores de estresse oxidativo, como TBARS (substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico) no fígado e rim e o nível plasmático de sVCAM- 1(Soluble Vascular Adhesion Molecule 1), porém, não foi observado efeito significativo no perfil lipídico no plasma e no fígado destes animais. Os resultados sugerem a hipótese de que a ingestão habitual de antocianinas da batata doce roxa como alimento evita doenças associadas ao estilo de vida e reduz o risco de aterosclerose em seres humanos.

Ling, et al., 2009 analisaram o tratamento com as antocianinas cianidina-3-glicosídeo (Cy-3-g) e peonidina-3-glicosídeo (Pn-3-g) por 24 horas em cultura de células endoteliais(-CE) humanas. O tratamento com antocianinas mostrou resultados significativos, tais como, impediu a produção de moléculas de adesão mediadas por CD40 induzidas por sCD40L (VCAM-1 e ICAM-1) e diminuiu a detecção e as atividades das MMPs, contribuindo para a estabilização da placa, além disso, as antocianinas também diminuíram a ativação de JNK (C-Jun n-Terminal Kinase) e p38 induzidas por CD40. Coletivamente, nossos achados sugeriram que a inibição da ativação de JNK e p38 interrompe a ativação da célula endotelial induzida por CD40 e a apoptose, o que pode representar um mecanismo que explicaria a resposta anti-inflamatória da antocianina e sua função de proteção antiaterogênica.

Xia, et al., 2009, investigaram os efeitos dos suplementos de antocianina derivados de baga no perfil lipídico sérico em pacientes dislipidêmicos. O estudo recrutou um total de 120 indivíduos dislipidêmicos (idade 40-65 anos), no qual foram divididos em dois grupos. Os pacientes elegíveis foram distribuídos aleatoriamente por idade para o grupo antocianina (n = 60; 21 homens e 39 mulheres) ou o grupo placebo (n= 60; 21 homens e 39 mulheres). A duração total deste teste foi de 12 semanas, período durante o qual os sujeitos foram solicitados a manter sua dieta habitual e estilo de vida. O grupo antocianina foi instruído a consumir duas cápsulas de antocianina de 80 mg (Medox; Polyphenols AS, Sandnes, Noruega) duas vezes ao dia (30 minutos após o café da manhã e a ceia) para uma ingestão total de antocianinas de 320 mg / d. O grupo placebo tomou 2 cápsulas de placebo duas vezes ao dia).

O presente estudo (XIA, et al., 2009) mostrou que as antocianinas puras resultaram em um duplo efeito benéfico na redução do colesterol LDL e na elevação das concentrações

de HDL-colesterol. Isso nos levou a sugerir que as antocianinas puras derivadas de bagas podem resultar em uma maior redução nos fatores de risco das doenças cardiovasculares do que o suplemento de vinho e uva, que só diminui o colesterol LDL no soro ou aumenta o colesterol HDL no soro.

Estudos realizados por Neeli e Rader, (2008), indicaram que a deficiência de Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP) é um possível mecanismo para elevação do colesterol HDL e diminuição do colesterol LDL. No presente estudo, as antocianinas derivadas de frutos vermelhos reprimem a CETP plasmática sem influenciar a pressão arterial e outros biomarcadores, com exceção das lipoproteínas. Assim, as antocianinas podem ser consideradas uma categoria de inibidores da CETP limpa. Em conclusão, os autores sugerem que a suplementação de antocianinas em pacientes dislipidêmicos tem um efeito benéfico no perfil das lipoproteínas, que inclui uma diminuição do colesterol LDL e um aumento das concentrações de HDL - colesterol. Estes efeitos benéficos podem ser parcialmente mediados através da inibição da CETP.

Mauray et al., 2009, observaram o efeito antiaterogênico da suplementação na dieta (0,02%) por 16 semanas com dois extratos ricos em antocianinas extraídos de uvas fermentadas e não fermentadas, em camundongos deficientes na apoproteína E. A suplementação na dieta com os extratos de uva não fermentada e fermentada reduziu as lesões ateroscleróticas em 15% e 36%, respectivamente. O melhor resultado foi observado com o extrato de uvas fermentadas, sugerindo que a fermentação gerou novos compostos bioativos mais eficientes na atenuação da progressão da aterosclerose. Entretanto, não foram observadas alterações na capacidade antioxidante no plasma, determinada pelas técnicas de capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC), peroxidação lipídica hepática e perfil lipídico (colesterol total e triglicerídeos) plasmático e no fígado dos animais.

Souza et al., 2010, investigaram o potencial antioxidante e os efeitos hipocolesterolêmicos da ingestão de polpa de açaí em ratos alimentados com uma dieta padrão ou hipercolesterolêmica. A polpa do açaí possui vários antioxidantes, mas as antocianinas são os fitoquímicos predominantes. Além desses pigmentos, o açaí também possui em sua composição compostos fenólicos, dentre outros, que também são componentes antioxidantes. As antocianinas são os compostos hidrossolúveis que contribuem com a maior capacidade antioxidante, além de serem responsáveis pela cor vermelha escura característica da polpa do açaí. Quanto mais escuro o tom vermelho da polpa do açaí, maior será a concentração de antocianinas. Os resultados revelaram que a suplementação com a polpa de açaí aumentou significativamente o peso e a produção fecal de ratos do grupo controle e do grupo hipercolesterolêmico. Estes dados mostraram que a ingestão de açaí melhorou o índice de eficiência alimentar aumentando o peso sem aumentar a ingestão de alimentos.

Quanto ao efeito da polpa de Açaí no perfil lipídico sérico, foi observado que a adição de polpa de açaí na dieta hipercolesterolêmica teve um efeito hipocolesterolêmico ao reduzir os níveis de colesterol (total e não-HDL), o que pode ser explicado por um alimento de menor ingestão e maior excreção fecal. No entanto, os exatos mecanismos por trás desse efeito hipocolesterolêmico devem ser examinados devido aos vários componentes da dieta. O índice aterogênico de ratos hipercolesterolêmicos foi reduzido por administração de polpa de Açaí, demonstrando uma diminuição significativa nos níveis séricos de triglicerídeos em ratos hipercolesterolêmicos comparados com ratos de controle.

Zhu et al., 2011, analisaram em um estudo cruzado de curto prazo, 12 indivíduos hipercolesterolêmicos que receberam antocianinas orais (320 mg) isoladas de bagas ou placebo por 7 dias. A dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial (FMD) foi avaliada antes e após a intervenção usando um método baseado em ultra- som. Os resultados mostraram que os efeitos relaxantes das antocianinas sobre os anéis aórticos pré-tratados com fenilefrina com um endotélio funcional foram significativamente aumentados quando a concentração acumulada de antocianinas atingiu 5 µg / ml. O relaxamento máximo foi de 80,1% (18,6%) (n = 8) quando a concentração acumulada de antocianinas atingiu 50 µg / mL. Este efeito não foi observado nos anéis aórticos sem endotélio funcional. Mais importante ainda, o efeito de relaxamento das antocianinas não foi observado na presença do inibidor NOS L-NMMA (a nitric oxide synthase inhibitor) ou ODQ (Oxadiazolo-Quinoxalin-1-ona) do inibidor de GC (Guanilato Ciclase). A disfunção endotelial observada na hipercolesterolemia está entre os primeiros eventos no desenvolvimento da aterosclerose e é atribuível a várias anormalidades cardiovasculares. Em indivíduos hipercolesterolêmicos, a função endotelial pode ser prejudicada por dislipidemia e inflamação crônica leve, representada como aumento do colesterol total ou concentrações de LDL-C e aumento da expressão de sVCAM1. Em conclusão, demonstramos pela primeira vez que a suplementação dietética de antocianina melhora a vasodilatação dependente do endotélio através da ativação da via de sinalização de NO-cGMP em indivíduos hipercolesterolêmicos.

CONCLUSÕES

A aterosclerose é uma doença multifatorial e que exige cuidados nutricionais na prevenção e tratamento de seus fatores de risco. Sabe-se que a prevenção das doenças cardiovasculares está diretamente relacionada a uma dieta equilibrada, priorizando redução de gorduras saturadas, preferindo as monoinsaturadas, a ingestão adequada de fibras e o consumo de fontes de antioxidantes. O estudo realizado evidencia que o consumo de alimentos fontes de antocianinas tem relação protetora contra o estresse oxidativo, redução dos níveis de triglicerídeos, da placa aterosclerótica, da oxidação do LDL e dos triglicerídeos,

diminuição do LDL, aumento do HDL e melhora na vasodilatação do endotélio. A literatura analisada mostrou-se unânime quanto aos benefícios das antocianinas na aterosclerose, atribuindo os benéficos antiaterogênicos às ações antioxidante, anti-inflamatória, vasodilatadora, hipolipidêmica e ainda regressiva da placa. Porém, os estudos com antocianinas como componentes alimentares ainda são escassos na literatura, fazendo-se necessário novos estudos, que possam aumentar as evidencias desses fatos e estabelecer o mecanismo pelo qual as antocianinas poderiam, de fato, auxiliar na prevenção e tratamento da aterosclerose.

REFERÊNCIAS

1. ALVES, A.; MARQUES, I.R.(2009) Fatores relacionados ao risco de doença arterial coronariana entre estudantes de enfermagem. Revista Brasileira de Enfermagem. São Paulo, Nov./Dec.

2. CARDOSO, L.M.; LEITE, J.P.V.; PELUZIO, M.C.G. (2011) Efeitos biológicos das antocianinas no processo aterosclerótico. Revista Colombiana Cien. Quím. Farm., vol. 40, p. 116-138. Viçosa-MG.

3. CHAKRABORTY, P. et al. (2009). Role of antioxidants in common health diseases. Research Journal of Pharmacy and Technology. Vol.2, n.2, p. 238-244.

4. CURTIS, P.J. et al.(2009) Cardiovascular disease risk biomarkers and liver and kidney function are not altered in postmenopausal women after ingesting an elderberry extract rich in anthocyanins for 12 weeks. Journal of Nutrition, vol. 139, p. 2266-2271, 2009.

5. KARLSEN, A. et al. (2007) Anthocyanins inhibit nuclear factor-kappaB activation in monocytes and reduce plasma concentrations of pro-inflammatory mediators in healthy adults. Journal of Nutrition.

6. LING, W., et al. (2009) Anthocyanin attenuates CD40-mediated endothelial cell activation and apoptosis by inhibiting CD40-induced MAPK activation. Atherosclerosis.vol.202, p.41-47.

7. LOTTENBERG, A.M.P.(2009) Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. Arq Bras Endocrinol Metab. SP.

8. MARIANI, T.A.; SPERETTA, G.F.F.(2011) Nutrição e exercício físico na prevenção dos fatores de risco para o desenvolvimento da aterosclerose. Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento. São Paulo, Maio/Jun.

9. MARTINS, L.O. et al. (2013) Relação entre o hábito alimentar e o desenvolvimento de aterosclerose em idosos. Rev Bras Nutr Clin., vol.28, p. 61-63.

10. MAURAY, A. et al. (2009)Atheroprotective effects of bilberry extracts in Apo E-deficient mice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.*57*, p. 11106–11111.

11. MENDES, E. V. (2009) Agora mais do que nunca - uma revisão bibliográfica sobre Atenção Primária à Saúde. In: Conselho Nacional de Secretários De Saúde. Oficinas de Planificação da Atenção Primária à Saúde nos Estados. Brasília: CONASS.

12. MIYAZARI, K. et al. (2008) Anthocyanins from purple sweet potato Ipomoea batatas cultivar Ayamurasaki suppress the development of atherosclerotic lesions and both enhancements of oxidative stress and soluble vascular cell adhesion molecule-1 in Apolipoprotein E-deficient mice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol.*56*, p.11485–11492.

13. NEELI, H.; RADER, D.J. (2008) Cholesteryl ester transfer protein (CETP) inhibitors: is there life after torcetrapib? Cardiology Clinics. Vol.26, p.537–546.

14. OGAWA, K. et al. (2008)Anthocyanin composition and antioxidant activity of the Crowberry (Empetrum nigrum) and other berries. Jour Agric Food Chem, vol.56, n.12, p. 4457-4462, p.

15. OLIVEIRA, A.G.; COSTA, M.C.D.; ROCHA, S.M.B.M.(2015) Benefícios Funcionais do Açaí na Prevenção das Doenças Cardiovasculares. Journal of Amazon Health Science Vol.1, n.1, p. 12-13.

16. OMS.Organização Mundial da Saúde. Doenças cardiovasculares,(2016). Disponível em: <http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253:doencardiovasculares&I mid=839.

17. PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLÜCKE, A. P. B.(2005) Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos. São Paulo: Livraria Varela, p.1-13.

18. PRIOR, R.L.; WU, X. (2006) Anthocyanins: structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. Free Radic Res. Vol.40, n.10, p. 1014-1028.

19. RIBEIRO, J.N. et al. (2005) Efeitos da antocianina de uva no peso e níveis sanguíneos de glicose e triacilgliceróis em coelhos diabéticos. Revista Brasileira de Análises Clínicas. vol. 37, p.195-199.

20. SALVARO, R. P.; JÚNIOR, S. A(2009). Perfil Lipídico e a sua Relação com Fatores de Risco Cardiovascular em Estudantes de Nutrição. Rev SOCERJ. Vol. 22.n.5 pág.309-317.

21. SANTOS, A.C.A. et al. (2014) Potencial antioxidante de antocianinas em fontes alimentares: revisão sistemática. R. Interd. v. 7, n. 3, p. 149-156, jul. ago. set.

22. SCHERR, C; RIBEIRO, J.P. (2009) Colesterol e gorduras em alimentos brasileiros: implicações para a prevenção da aterosclerose. Arq Bras Cardiol.

23. SIGNORI, L. U. et al. (2007) Papel da Lipemia Pós-Prandial na Gênese da Aterosclerose: Particularidades do Diabetes Mellitus. Arq Bras Endocrinol Metab.

24. SILVA, J.L, MARANHÃO RC, VINAGRE CGCM. (2010) Efeitos do treinamento resistido na lipoproteína de baixa densidade. Rev Bras Med Esporte. São Paulo, Jan/Fev.

25. SOUZA, M.O. et al. (2010) Diet supplementation with açaí (Euterpe Oleracea Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. Journal Nutrition. V.26, p. 804–810.

26. VALENTE, E.P. O uso de antioxidante na prevenção da doença. Dissertação, Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Fernando Pessoa. Portugal, 2014.

27. VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C.(2008) Flavonoidesantocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. Rev Bras Nutr Clin, v. 23, n.2, pág. 141-149.

28. XAVIER; H.T, et al. (2007) IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq Bras Cardiol.

29. XIA, M., et al. (2009) Anthocyanin attenuates CD40-mediated endothelial cell activation and apoptosis by inhibiting CD40-induced MAPK activation. Atherosclerosis.

30. XIA, M., et al. (2006) An Anthocyanin-Rich Extract from Black Rice Enhances Atherosclerotic Plaque Stabilization in Apolipoprotein E–Deficient Mice. The Journal of Nutrition. V.136, nº. 8, p. 2220-2225.

31. XIA, M. et al. (2009)Anthocyanin supplementation improves serum LDL- and HDL-cholesterol concentrations associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subjects. American Society for Nutrition, v. 90, no. 3,485-492.

32. ZHU, Y, et al. (2011) Purified anthocyanin supplementation improves endothelial function via NO-cGMP activation in hypercholesterolemic individuals. Clin Chem. V. 57, p. 1524–1533.

33. ZIMMERMANN, A.M.; KIRSTEN, V.R. (2008) Alimentos com função antioxidante em doenças crônicas: uma abordagem clínica. Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 9, n. 1, p. 51-68, 2008.

04

Spme fiber evaluation for volatile organic compounds extraction from acerola

- Yesenia Mendoza **García**
  UFSJ
- José Carlos Moraes **Rufini**
  UFSJ
- Matheus Pena **Campos**
  UFSJ
- Mayara Neves Santos **Guedes**
  UFPA
- Rodinei **Augusti**
  UFMG
- Júlio Onésio Ferreira **Melo**
  UFSJ

doi 10.37885/201102026

RESUMO

Foram isolados compostos orgânicos voláteis (COVs) de frutos de acerola (*Malpighia emarginata* D. C.), por meio de diferentes fibras SPME. Para a sua extração, utilizou-se o método de microextração em fase sólida no modo de *headspace* (SPME-HS), sendo identificados por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas (GC-MS). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência das fibras SPME e determinar assim as melhores condições para a extração dos COVs dos frutos de acerola. As condições investigadas foram: tempo de extração (20, 30 e 40 min), temperatura de extração (25, 45 e 65 °C) e agitação (0, 50 e 100 rpm). Das fibras avaliadas, o polidimetilsiloxano (PDMS) /divinilbenzeno (DVB) extraiu o maior número de COVs, sendo a maioria pertencentes a terpenos, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos. De acordo com as condições investigadas, o maior número de compostos foi obtido com um tempo de extração de 20 min, temperatura de extração (65 °C), e sem agitação. Os compostos cumeno, o-xileno, timol, *m*-cimeno, *o*-cimeno, 2-metil-1,3-butadieno, anetol, 3-buten-2-ona e éster metil octadecanóico foram responsáveis pelo perfil volátil da acerola.

Palavras-chave: Aroma, Frutos Tropicais, Malpighia Emarginata, GC-MS, Microextração em Fase Sólida.

INTRODUÇÃO

A acerola (*Malpighia emarginata* D. C.) é originaria das Antilhas, Norte da América do Sul e América Central, sendo cultivada amplamente no Brasil, Porto Rico, Cuba e Estados Unidos. Devido à sua capacidade de aproveitamento industrial e, em decorrência de seu elevado teor de vitamina C, tem atraído o interesse de fruticultores, podendo ser comercializada "in natura" ou industrializada na forma de iogurtes, doces, biscoito, bolo, sorvetes e refrescos (SILVA et al., 2013).

No Brasil, essa frutífera é cultivada comercialmente, desde meados dos anos 80, principalmente no Nordeste do Brasil, onde a cultura se adaptou melhor às condições de clima e solo (FREITAS et al., 2006; RITZINGER e RITZINGER, 2011). O fruto é uma drupa carnosa, de tamanho, forma e peso variáveis, trata-se de um fruto climatérico, o qual pode apresentar diferentes tonalidades, que vão do amarelo ao vermelho intenso ou roxo, critério principal para caracterizar o amadurecimento do fruto (ADRIANO et al., 2011).

A acerola apresenta-se atrativa pelo seu sabor agradável, o qual varia do levemente ácido ao muito ácido. A aceitação do fruto deve-se diretamente ao sabor, fator decisivo entre as sensações do gosto e do aroma, dados pelos compostos voláteis e não voláteis presentes nos alimentos (FREITAS et al., 2006; THOMAZINI e FRANCO, 2000).

Os compostos não voláteis são atribuídos à sensação proveniente do gosto, classificada em quatro categorias básicas: doce, salgado, azedo e amargo. Os compostos voláteis são responsáveis pela sensação do aroma, uma classe muito mais complexa, já que o olfato humano pode discriminar entre vários compostos (THOMAZINI e FRANCO, 2000). O aroma é um dos atributos de qualidade mais pesquisados, devido às inúmeras sensações olfativas geradas pelas diferentes moléculas dos frutos (THOMAZINI e FRANCO, 2000; MARTINS et al., 2010).

O aroma típico da acerola resulta da combinação de um grande número de substâncias voláteis responsáveis pelo odor despedido pela fruta, os quais são representados por diversas classes químicas, com diferentes propriedades físico-químicas, tais como os ésteres, ácidos, cetonas, aldeídos, álcoois e terpenos, que são utilizados em quantidades mínimas, para a formação dos aromas dos alimentos (FIB, 2015; THOMAZINI e FRANCO, 2000).

Atualmente, diversos métodos de extração são utilizados para a análise dessas substâncias, com destaque para a microextração em fase sólida (SPME). É uma técnica que proporciona uma extração mais rápida dos compostos, pois requer menor volume de amostra, além de não precisar de solvente orgânico. A SPME podendo ser utilizada na extração direta e *headspace* (HS), (BARROS NETO et al., 2003), sendo esta última a mais usada para a análise dos compostos dos frutos (PAWLISZYN et al., 1997; KATAOKA et al., 2000).

Para a análise de separação e identificação desses compostos, são utilizados instrumentos de cromatografia gasosa (CG) acoplado a espectrometria de massas (MS), sendo precedidos pela técnica de SPME, que consiste na extração dos compostos voláteis pela fibra e transferência do material da fibra para o injetor de um cromatógrafo (FIB, 2015; NETTO et al., 2008).

A quantidade de analitos extraídos pela fibra pode ser afetada pelo tipo de revestimento utilizado, pelas condições de extração (temperatura e tempo) e pela agitação da amostra. O tipo de revestimento da fibra é uma das principais características a escolher, se deseja alcançar uma boa seletividade de analitos, pois de acordo com o revestimento, serão obtidos diferentes tipos de compostos químicos (PENALVER et al., 1999).

OBJETIVO

Avaliar a eficiência de diferentes fibras de SPME na extração de compostos voláteis da acerola e determinar as melhores condições de extração para definir o perfil volátil característico da acerola.

MÉTODOS

Na extração dos compostos orgânicos voláteis (COVs) foram avaliadas cinco fibras SPME com diferentes polaridades, duas fibras polares: poliacrilato (PA), 85 µm e carbowax (CW) / divinilbenzeno (DVB), 65 µm e três fibras semipolares: polidimetilsiloxano (PDMS) / DVB, 65 µm, DVB / Carboxen (CAR) / PDMS, 50 µm e CAR / PMDS), 75 µm.

Equipamentos

As análises foram realizadas por um GC (Trace GC Ultra) acoplado a um detector de MS (Polaris Q) da Thermo Scientific, com analisador do tipo "*ion-trap*", com injetor *split/splitless*, no modo *splitless*, instalado no Laboratório de Espectrometria de Massas do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais.

O hélio foi utilizado como gás de arraste em fluxo constante de 1mL min^{-1}. As condições de análise cromatográfica foram: temperatura do injetor 250°C, tempo de dessorção 5 min, temperatura da fonte de íons 200°C, temperatura da interface 275°C.

Uma coluna capilar HP-5 MS (5% fenil e 95% metilpolisiloxano) (30 m de comprimento, 0,25 mm de d.i e 0,25 µm de espessura de filme) foi usada (Agilent Techonolgies INC, Alemanha). O aquecimento da coluna foi programado a partir de 40°C, permanecendo por 5

minutos, aquecimento de 2,5ºC min^{-1} a 125ºC e depois de 10ºC min^{-1} a 245ºC, temperatura à qual a isoterma foi mantida por 3 min (BELO et al., 2013).

Delineamento experimental

Foi utilizado um planejamento fatorial 2^3 com triplicata do ponto central (BARROS NETO et al., 2003). O efeito das variáveis dependentes tempo de extração (t), temperatura de extração (°C) e agitação (rpm) foi utilizado para a extração dos COVs da acerola (Tabela 1). Para o planejamento fatorial, foi utilizado o *software* STATISTICA na versão 10.0 (STATSOFT, 2010). O número de COVs capturados por ensaio foi usado como resposta para a otimização dos fatores avaliados.

Tabela 1. Planejamento fatorial (2^3) com triplicata do ponto central.

Variáveis	Níveis		
	(-)	0	(+)
Tempo de extração / min	20	30	40
Temperatura de extração / °C	25	45	65
Agitação / rpm	0	50	100

Preparo das amostras

Os frutos utilizados foram de uma variedade desconhecida de acerola, localizada no município de Sete Lagoas-MG, Brasil, a 761 m de altitude, com coordenadas geográficas de latitude 19° 27' 57" S e 44° 14' 48" O de longitude. Os frutos maduros de acerola foram coletados durante a safra de 2014.

Aproximadamente 100 frutos foram selecionados na fase de maturação vermelha (VENDRAMINI e TRUGO, 2000). Após a coleta, os frutos foram transportados em sacos de polietileno para o Laboratório de Produção Vegetal da Universidade Federal de São João Del-Rei / Campus Sete Lagoas, onde foram higienizados com água corrente para a eliminação de impurezas.

Em seguida, os frutos foram processados utilizando um mixer e armazenados em freezer a -18°C até a análise. Para o preparo das amostras, a polpa previamente obtida foi utilizada para a extração dos compostos voláteis.

Extração dos COVs

HS-SMPE foi utilizado para a extração dos COVs, para o qual apenas 2,0 g das amostras da polpa de acerola foram retiradas do freezer. As amostras foram pesadas e colocadas

em frascos de HS com capacidade de 20 mL, lacrados com lacre de alumínio e septo de borracha (BELO et al., 2013).

Os frascos de HS foram submetidos a diferentes tempos de extração (20, 30 e 40 min), diferentes temperaturas de extração (25, 45 e 65 °C) e diferentes agitações (0, 50 e 100 rpm). Estas variáveis foram utilizadas a fim de determinar as condições ótimas para atingir o equilíbrio de partição dos analitos entre a amostra e a fibra no modo HS, as quais provocam maior recuperação dos COVs após a análise cromatográfica.

Depois dos frascos serem submetidos às diferentes condições, a fibra SPME foi introduzida no modo HS para absorção dos analitos e posteriormente exposta à fase gasosa. Após o tempo de extração, foi inserido no injetor do cromatógrafo a 250°C, por 5 min para a dessorção dos COVs extraídos (BELO et al., 2013).

Identificação dos COVs

Os picos presentes nos cromatogramas foram selecionados de acordo com aqueles que apresentaram uma relação de sinal-ruído (S/N) superior a 50, bem como em comparação com os dados obtidos através da biblioteca *National Institute of Standards and Technology* (NIST) considerando um nível de similaridade (índice de força relativa, RSI) superior a 500 (DUARTE et al., 2010; GARCÍA et al., 2016; VIANA et al., 2018; VILELA et al., 2012).

Os COVs foram identificados pela razão massa-carga (m/z) correspondente a cada pico gerado pelo cromatograma de íons totais de cada amostra analisada, e comparados com os espectros de massa obtidos por ionização por impacto de elétrons (EI), que usa uma energia de 70 eV, com a faixa de varredura completa de 50 a 650 m/z) (GARCÍA et al., 2016). Para a confirmação dos COVs, foi realizada uma comparação dos compostos obtidos com os já relatados na literatura (VIANA et al., 2018).

Os valores da relação S/N, assim como a intensidade dos picos obtidos, foram retirados do programa Xcalibur 1.4 (Thermo Scientific) e transferidos para o Microsoft Office Excel 2013, programa em que os picos foram selecionados, de acordo com a relação S/N (BELO et al., 2013).

RESULTADOS

Otimização das condições de extração das fibras por HS-SPME

Os COVs identificados no presente estudo foram extraídos em diferentes tempos de extração, em diferentes temperaturas de extração e sob diferentes agitações, conforme apresentado na Tabela 1, referente ao planejamento fatorial utilizado. Para a separação e identificação desses compostos, foi utilizado um GC-MS.

Os resultados obtidos para o planejamento fatorial 2^3 com triplicata do ponto central, são apresentados na Tabela 2, onde a resposta analisada foi o número dos COVs extraídos para cada uma das fibras estudadas e ensaios realizados. O número de compostos extraídos, de acordo com as condições propostas pelo delineamento experimental, ariou entre 13 e 37 COVs.

Tabela 2. Número de COVs extraídos por diferentes fibras de SPME.

Ensaio	Variáveis			Resposta				
	A / min	B / °C	C / rpm	CAR/PDMS	CW/DVB	DVB/CAR/PDMS	PA	PDMS/DVB
01	20	25	0	24	22	20	22	25
02	40	25	0	26	22	23	26	26
03	20	65	0	23	16	22	35	33
04	40	65	0	18	17	18	29	24
05	20	25	100	21	18	16	23	17
06	40	25	100	21	21	27	34	29
07	20	65	100	15	20	28	34	24
08	40	65	100	24	18	13	29	24
09[a]	30	45	50	19	25	28	37	21
10[a]	30	45	50	19	20	24	32	21
11[a]	30	45	50	23	17	27	30	20

[a]: triplicata do ponto central. A: tempo de extração; B: temperatura de extração; C: agitação; CAR/PDMS: carboxeno/polidimetilsiloxano; CW/DVB: carbowax/divinilbenzeno; DVB/CAR/PDMS: divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano; PA: poliacrilato; PDMS/DVB: polidimetilsiloxano/divinilbenzeno.

As melhores condições obtidas para a eficiência de cada uma das fibras de SPME foram baseadas na quantidade máxima de compostos voláteis isolados de acordo com cada uma das condições analisadas na Tabela 1, portanto, de acordo com o maior número de compostos voláteis extraídos de cada fibra, as condições obtidas são apresentadas na Tabela 3. Observe-se que das cinco fibras avaliadas, três apresentaram condições de extração similares (CW/DVB, DVB/CAR/PDMS e PA), enquanto para as outras duas (CAR/PDMS e PDMS/DVB), as condições de extração apresentaram comportamentos distintos para a extração dos COVs de acerola.

Tabela 3. Condições experimentais e respostas obtidas para a extração dos compostos orgânicos voláteis de acerola, por HS-SPME e GC-MS.

Fibras de SPME	Resposta		
	Tempo de extração t (min)	Temperatura de extração T (°C)	Agitação (rpm)
CAR/PDMS	40	25	0
CW/DVB	20	25	0
DVB/CAR/PDMS	20	25	0
PA	20	25	0
PDMS/DVB	20	65	0

De acordo com o número de compostos extraídos e as condições experimentais estudadas, a fibra com melhor eficiência de extração de COVs foi a fibra de poliacrilato (PA), pois foi capaz de extrair a maior dos compostos nas seguintes condições: menor tempo de extração (20 min), temperatura máxima de extração (65°C), sem necessidade de expor a amostra à agitação (0 rpm).

COVs da acerola

No presente estudo, 51 COVs estavam presentes em frutos de acerola, 13 dos quais foram relatados pela primeira vez na literatura (3-buten-2-ona, éster metil octadecanóico, éster de formiato de isopropila, etil vanilina, eucaliptol, *m*-cimeno, *o*-cimeno, ácido cítrico, ácido propanóico, ácido tridecanóico , cumeno, dodecano e *o*-xileno), e 27 comuns entre todas as fibras, tais como: 3-buten-2-ona, acetofenona, 2-butanol, álcool benzílico, éster metil octadecanóico, anetol, eugenol, benzaldeído, furfural, 2-metil-1,3-butadieno, m -cimeno, o-cimeno, p-cimeno, terpinen-4-ol, terpinoleno, timol, α-terpineno, ácido decanóico, ácido dodecanóico, ácido heptanóico, ácido hexadecanóico, ácido nonanóico, ácido tetradecanóico, cumeno, etilbenzeno, m-xileno e o-xileno.

Os COVs extraídos foram classificados em oito diferentes classes químicas: cetonas, álcoois, ésteres, fenóis, aldeídos, terpenos, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos. Para a extração desses compostos, foi utilizado o HS-SPME. Foram utilizadas fibras SPME com polaridades diferentes, as quais, em sua maioria, extraíram compostos pertencentes às classes dos terpenos, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos.

Eficiência das fibras SPME

Um total de 33 COVs foram extraídos utilizando a fibra CAR/PMDS, 39 usando a fibra CW/DVB, 43 com a fibra DVB/CAR/PDMS, 41 com a fibra PA e 44 com a fibra PDMS/DVB, conforme mostrado na Tabela 4.

Tabela 4. COVs extraídos da acerola, usando fibras de diferentes polaridades, por HS-SPME/GC-MS.

Nº.	Compostos orgânicos voláteis	Fibras SPME				
		CAR/PDMS	CW/DVB	DVB/CAR/PDMS	PA	PDMS/DVB
	CETONAS					
1.	3-Buten-2-ona	x	x	x	x	x
2.	Acetofenona [1,2,3,4]	x	x	x	x	x
3.	Ciclohexanona [2,3,4]	–	x	x	–	x
	ÁLCOOIS					
4.	1-Octadecanol [1,2,4]	–	x	–	–	x
5.	1-Tetradecanol [2,4]	–	–	x	x	x
6.	2-Butanol [2,4]	x	x	x		x
7.	2-etil-1-hexanol [2]	x	–	x	x	x
8.	2-Metil-3-buten-2-ol [2,3]	–	x	x	–	x
9.	3-Metil-1-Butanol [2,3,5,6]	–	x	–	x	–
10.	Álcool bencílico [2,3,6]	x	x	x	x	x
	ÉSTERES					
11.	Acetato de 3-metil-1-butanol [3,6]	–	x	–	–	–
12.	Éster metil octadecanóico	x	x	x	x	x
13.	Éster de formiato de isopropila	x	–	–	–	–
14.	Acetato de etila [1,2,3,4,7]	x	x	x	–	x
15.	Miristato de isopropila [2]	–	x	x	x	x
16.	Palmitato de isopropilo [2,4]	x	x	–	x	x
	FENILPROPANOIDES					
17.	Anetol [2]	x	x	x	x	x
18.	Etil vanilina			x		
19.	Eugenol [1,2,3]	x	x	x	x	x
20.	Vanilina [1,2,3]		x	x	x	x
	ALDEÍDOS					
21.	Benzaldeído [3,4]	x	x	x	x	x
22.	Furfural [3,5]	x	x	x	x	x
	TERPENOS					
23.	2-Metil-1,3-Butadieno [2]	x	x	x	x	x
24.	Eucaliptol		x	x	x	x
25.	m-Cimeno	x	x	x	x	x
26.	o-Cimeno	x	x	x	x	x
27.	p-Cimeno [2,3,4]	x	x	x	x	x
28.	Terpinen-4-ol [2,3,4]	x	x	x	x	x
29.	Terpinoleno [2,3,4]	x	x	x	x	x
30.	Timol [8]	x	x	x	x	x
31.	α-Terpineno [2,3]	x	x	x	x	x

Nº.	Compostos orgânicos voláteis	Fibras SPME				
		CAR/PDMS	CW/DVB	DVB/CAR/PDMS	PA	PDMS/DVB
	ÁCIDOS CARBOXILICOS					
32.	Ácido acético [3]			x		x
33.	Ácido cítrico			x	x	
34.	Ácido decanóico [3,4]	x	x	x	x	x
35.	Ácido dodecanóico [1,2,3,4]	x	x	x	x	x
36.	Ácido heptanóico [1,2,3,6]	x	x	x	x	x
37.	Ácido hexadecanóico [1,2,3,5]	x	x	x	x	x
38.	Ácido hexanóico [3,4,6]		x			x
39.	Ácido nonanóico [2,3,4]	x	x	x	x	x
40.	Ácido octanóico [3,4]	x			x	
41.	Ácido pentanóico [4]			x	x	x
42.	Ácido propanóico			x	x	x
43.	Ácido tetradecanóico [1,2,3,4]	x	x	x	x	x
44.	Ácido tridecanóico		x	x	x	x
	HIDROCARBONETOS					
45.	Cumeno	x	x	x	x	x
46.	Dodecano			x	x	x
47.	Etilbenzeno [2,4]	x	x	x	x	x
48.	Heptadecano [1,3]	x			x	
49.	Hexadecano [2]			x	x	x
50.	m-Xileno [2,3,4]	x	x	x	x	x
51.	o-Xileno	x	x	x	x	x
	Total de compostos	33	39	43	41	44

SPME: microextrção em fase sólida; CAR/PDMS: carboxeno/polidimetilsiloxano; CW/DVB: carbowax/divinilbenzeno; DVB/CAR/PDMS: divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano; PA: poliacrilato; PDMS/DVB: polidimetilsiloxano/divinilbenzeno. Os números sobrescritos referem-se a compostos que foram detectados por outros autores: Vendramini e Trugo; [1] García et al.; [2] Franco e Janzantti; [3] Pino e Marbot; [4] Bicas et al.; [5] Boulanger e Crouzet; [6] Carasek e Pawliszyn; [7] Polo et al. [8]

Dentre as fibras SPME avaliadas, a fibra semipolar PDMS/DVB foi melhor comparada às outras fibras, pois extraiu a maioria dos COVs do fruto da acerola. Porém, a fibra CAR/PDMS extraiu o menor número de compostos entre as classes, devido à baixa polaridade que a fibra apresenta em relação às demais fibras.

No entanto, a fibra CAR/PDMS foi capaz de extrair três dos compostos não extraídos pela fibra PDMS/DVB, pertencentes às classes químicas hidrocarbonetos (heptadecano), ácidos carboxílicos (ácido octanóico) e ésteres (éster de formiato de isopropila).

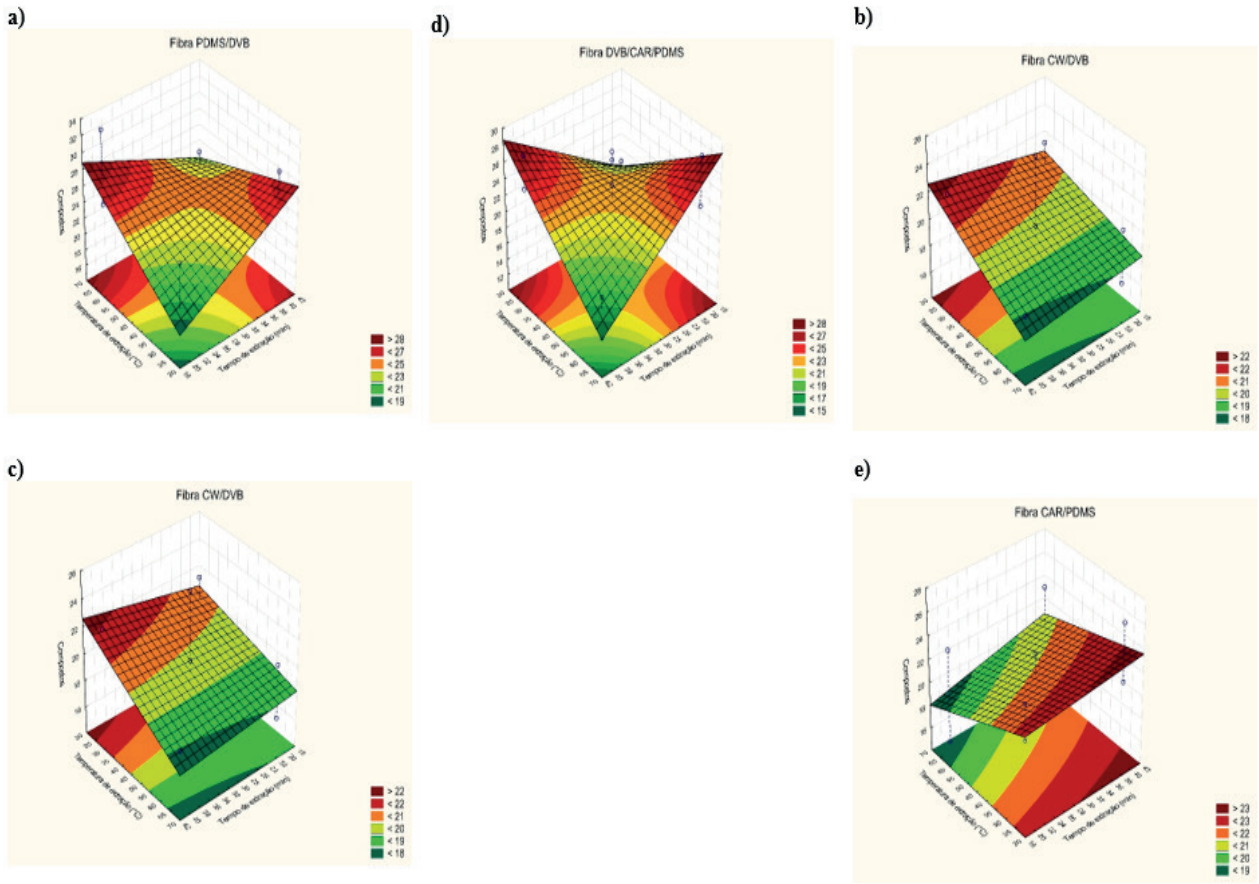
Na Tabela 4, pode-se observar que a fibra apresentou maior afinidade por compostos polares, quando comparada à fibra PA, que extraiu menor número de compostos, embora tivessem a mesma polaridade. Os compostos polares ciclohexanona, 1-octadecanol, 2-butanol,

2-metil-3-buten-2-ol, acetato de 3-metil-1-butanol, acetato de etila e ácido hexadecanoico, foram extraídos por CW/DVB; tais compostos não foram isolados pela fibra PA.

Avaliação da eficiência de extração de fibras de SPME

De acordo com o gráfico de superfície de resposta apresentado na Figura 1a, a interação entre o tempo e a temperatura de extração teve uma influência positiva pelo uso da fibra PDMS/DVB. Seu efeito positivo está associado ao maior número de compostos voláteis extraídos, ou seja, quanto maior o aumento da temperatura e o tempo de extração, maior o número de compostos voláteis extraídos. A temperatura de extração foi, assim, verificada como a principal condição para a extração dos compostos voláteis da acerola, onde o número de COVs era superior a 28, representado pela cor vermelha mais escura.

Figura 1. Gráficos de superfície de resposta para as fibras (a) PDMS/DVB; (b) CW/DVB; (c) PA; (d) DVB/CAR/PDMS; e (e) CAR/PDMS.



Na Figura 1b, é mostrado o gráfico da superfície de resposta para a fibra CW/DVB, a interação das variáveis mais significativas mostra que a temperatura de extração influenciou mais do que o tempo de extração e a agitação, que tendeu a valores de extração mais baixos. Isso indica que o maior número de COVs extraídos é atingido para os menores valores de

temperatura, resultado oposto ao obtido com a fibra PDMS/DVB, que exigiu o maior aumento de temperatura para a extração da maior quantidade de COVs.

As fibras PA e DVB/CAR/PDMS apresentaram as mesmas condições em resposta à extração dos compostos voláteis (Tabelas 3 e 4). Os gráficos de superfície de resposta apresentados nas Figuras 1c e 1d, respectivamente, mostraram que a interação entre as variáveis, tempo de extração e temperatura de extração foram as mais relevantes, pois, como os valores de extração são menores, o número de compostos voláteis extraídos por cada fibra foi muito maior.

No caso da variável agitação não houve influência na extração dos compostos voláteis, portanto, nenhuma dessas variáveis teve efeito estatisticamente significativo para os COVs de extração. Porém, a fibra DVB/CAR/PDMS extraiu um pouco mais compostos em relação à fibra PA, que é utilizada para compostos polares em meio aquoso, por ser uma fibra mais hidrofílica, portanto, o comportamento de ambas as fibras foi semelhante (Tabela 2).

Da mesma forma que nas fibras anteriores, para a fibra CAR/PDMS, as variáveis de interação foram analisadas por meio do gráfico de superfície de resposta, conforme mostrado na Figura 1e. A Figura mostra a interação das variáveis que tiveram maior efeito para a extração dos compostos voláteis. Como pode ser observado, o tempo de extração teve maior influência em comparação com a temperatura de extração, pois quando há aumento da temperatura, o número de compostos voláteis extraídos é menor.

Observou-se o tempo de extração como principal condição para a extração dos voláteis da acerola, pois teve um efeito maior, extraindo mais de 23 voláteis em comparação à temperatura de extração e agitação. Porém, nenhuma das variáveis investigadas foi significativa para a extração de compostos voláteis, por meio do uso dessa fibra.

DISCUSSÃO

De acordo com a otimização das condições de extração, a agitação não influenciou a capacidade de extração da fibra, o que minimiza o tempo necessário para que o equilíbrio dos analitos entre a fibra e a amostra e/ou HS seja alcançado (VALENTE e AUGUSTO, 200) Assim, com o aumento da temperatura de extração, a sensibilidade pode ser melhorada em relação aos compostos com peso molecular mais elevado, ao mesmo tempo que pode dificultar a extração dos compostos de baixo peso molecular.

A fibra composta por componentes líquidos (PDMS) e sólidos (DVB e/ou CAR) apresentam melhor eficiência na extração dos COVs de frutas tropicais, entre elas a acerola (CARASEK e PAWLISZYN, 2006). A fibra PDMS/DVB apresenta uma mistura de polímeros sólidos porosos de DVB com líquido polimérico PDMS, a qual apresenta eficiência para a extração de moléculas entre 2 e 12 átomos de carbono, pois moléculas superiores a $C_{12,}$

apresentam difícil dessorção, embora possuam alta capacidade de adsorção (PEREIRA e CARDEAL, 2005).

O revestimento com DVB apresenta uniformidade no tamanho dos poros, resultado em uma menor discriminação da adsorção de compostos com diferentes pesos molares (PAWLISZYN, 1997) A combinação desses dois polímeros (PDMS e DVB), proporciona melhor retenção de analitos menores do que com o uso do polímero PDMS. Além disso, o polímero DVB tem maior afinidade para analitos mais polares (CARASEK e PAWLISZYN, 2006).

A fibra CW/DVB é uma mistura de partículas de divinilbenzeno com a fase líquida carbowax (PEREIRA e CARDEAL, 2005). O polímero CW é relativamente polar, mas quando é combinado com o polímero DVB, sua polaridade aumenta, por isso é indicado como o mais adequado para extrair analitos polares (POLO et al., 2007).

Para este estudo, os resultados obtidos na literatura mostram que os compostos obtidos por dois métodos, extração em fase sólida (SPE) e extração por destilação simultânea (SDE), ésteres, álcoois e cetonas, foram as principais classes de compostos detectados em frutos maduros de acerola (FRANCO e JANZANTTI, 2005). Outros estudos consideram o acetato de etila um composto de grande importância em relação ao sabor da fruta.

Foram identificados 37 compostos voláteis presentes na fração volátil do fruto da acerola, em três diferentes estágios de maturação. No estádio de maturação vermelho, foram detectados compostos pertencentes às classes de ácidos carboxílicos, fenilpropanóides, álcoois, ésteres e cetonas, contudo, os compostos que estiveram presentes durante os três estágios de maturação foram os ácidos hexadecanóico, octadecanóico e tetradecanóico (VENDRAMINI e TRUGO, 2000). Segundo os autores, esses compostos fazem parte das características do flavor da acerola, especialmente os ésteres, álcoois e cetonas, detectados no presente estudo.

Em geral, a maioria dos estudos científicos em que foram avaliados os COVs da acerola concorda que os álcoois e os ésteres são as principais classes químicas que caracterizam os frutos da acerola, compostos que participam diretamente do aroma fresco e frutado; portanto, o aroma é uma qualidade que qualquer fruta deve ter (PINO e MARBOT, 2001; BOULANGER e CROUZET, 2001).

Entretanto, outros estudos relatam monoisoprenoides e cetonas como compostos fortemente relacionados ao sabor dos frutos da acerola (VENDRAMINI e TRUGO, 2000; VENDRAMINI e TRUGO, 2000). Contudo, álcoois, aldeídos, ésteres, fenilpropanoides e terpenóides têm sido relatados recentemente como as principais classes químicas que caracterizam o perfil volátil dos frutos da acerola (GARCÍA et al., 2016).

CONCLUSÃO

O uso das técnicas de HS–SPME e GC-MS são eficientes para a extração de compostos voláteis em frutos de acerola.

As fibras de SPME avaliadas permitiram extrai, juntas, um total de 51 compostos voláteis, dos quais 26 foram comuns entre si.

Os compostos pertencentes às classes dos terpenos, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos foram considerados os principais constituintes da acerola.

A temperatura influenciou levemente na extração dos compostos voláteis, visto que houve variação de temperatura de uma fibra para outra, porém, estatisticamente nenhuma dass variáveis investigadas foi significativa.

A fibra PDMS/DVB apresentou melhor eficiência nas condições de extração: temperatura de extração de 65 °C e tempo de extração de 20 min, sem agitação.

REFERÊNCIAS

1. ADRIANO, ELISA; LEONEL, SARITA; EVANGELISTA, REGINA MARTA. Qualidade de fruto da aceroleira cv. Olivier em dois estádios de maturação. **Revista. Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. spe1, p. 541-545, oct. 2011. https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000500073.

2. BARROS NETO, B. de.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria 2. ed. Campinas: Unicamp, 2003. 401p.

3. BELO, R. F. C.; AUGUSTI, R.; LOPES, P. S. N.; JUNQUEIRA, R. G. Characterization and classification of pequi trees (Caryocar brasiliense Camb.) based on the profile of volatile constituents using headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and multivariate analysis. **Food Science and Technology**, Campinas, v.33, supl.1, p. 116-124, feb. 2013. https://doi.org/10.1590/S0101-20612013000500018

4. BICAS, J. L.; MOLINA, G.; DIONÍSIO, A. P.; BARROS, F. F. C.; WAGNER, R.; MARÓSTICA JR, M. R.; PASTORE, G. M. Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1843-1855, ago. 2011. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.012

5. BOULANGER, R.; CROUZET, J. Identification of the aroma components of acerola (Malphigia glabra L.): free and bound flavour compounds. **Food Chemistry**, v. 74, n. 2, p. 209-216, ago. 2001. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00128-5

6. CARASEK, E.; PAWLISZYN, J. Screening of tropical fruit volatile compounds using solid phase microextraction (SPME) fibers and internally cooled SPME fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 23, p. 8688-8696, oct. 2006. https://doi.org/10.1021/jf0613942

7. DUARTE, A. R.; NAVES, R. R.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Genetic and environmental influence on essential oil composition of Eugenia dysenterica. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 21, n.8, p. 1459-1467, 2010. https://doi.org/10.1590/S0103-50532010000800008

8. FIB (Food Ingredients Brasil). “Aromas”, 2016. Disponível em <http://www.revistafi.com>. Acesso 27 fev. 2016.

9. FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. Aroma of minor tropical fruits. **Flavour and fragrance journal**, v. 20, n. 4, p. 358-371, jul./ago. 2005. https://doi.org/10.1002/ffj.1515

10. FREITAS, C. A. S. de.; MAIA, G. A.; COSTA, J. M. C. da.; FIGUEIREDO, R. W. de.; SOUSA, P. H. M. de. Acerola: produção, composição, aspectos nutricionais e produtos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 4, p. 395-400, out./dez. 2006. https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/view/4688/3521

11. GARCIA, Y. M.; GUEDES, M. N. S.; RUFINI, J. C. M.; SOUZA, A. G.; AUGUSTI, R.; MELO, J. O. F. Volatile compounds identified in Barbados Cherry ‘BRS-366 Jaburú.’. **Scientific Electronic Archives**, v.9, n. 3, p. 67-73, jul. 2016. http://sea.ufr.edu.br/index.php?journal=SEA&page=article&op=view&path%5B%5D=352&path%5B%5D=pdf

12. KATAOKA, H.; LORD, H. L.; PAWLISZYN, J. Applications of solid phase microextraction in food analysis. **Journal of chromatography A**, v. 880, n. 1-2, p. 35-62. jun. 2000. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00309-5

13. MARTINS, C. R.; FARIA, J. C.; ROMBALDI, C. V.; MELLO FARIAS, R. DE. Qualidade Sensorial de Maçãs produzidas em diferentes sistemas de produção. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 091-099, Mar./Apr. 2010. http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v11i2.16526

14. NETTO, D. C.; REIS, R. M.; MENDES, C. B.; GOMES, P. C.; MARTINS, I.; SIQUEIRA, M. E. P. Headspace solid-phase microextraction procedure for gas-chromatography analysis of toluene in urine. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 6, p. 1201-1206, 2008. http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532008000600022.

15. PARREIRA, F. V.; CARDEAL, Z. D. L. Amostragem de compostos orgânicos voláteis no ar utilizando a técnica de microextração em fase sólida. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 646-654, jul./ago. 2005. https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000400018

16. PAWLISZYN, J. *Solid Phase Microextraction: Theory and Practice*; Wiley-VCH: New York, 1997.

17. PENALVER, A.; POCURULL, E.; BORRULL, F.; MARCE, R. M. Trends in solid phase microextraction for determining organic pollutants in environmental samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, n. 8, p. 557-568, ago. 1999. https://doi.org/10.1016/S0165-9936(99)00145-4

18. PINO, J. A.; MARBOT, R. Volatile flavor constituents of acerola (Malpighia emarginata DC.) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 12, p. 5880-5882, nov. 2001. https://doi.org/10.1021/jf010270g

19. POLO, M.; GARCIA-JARES, C.; LLOMPART, M.; CELA, R. Optimization of a sensitive method for the determination of nitro musk fragrances in waters by solid-phase microextraction and gas chromatography with micro electron capture detection using factorial experimental design. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 388, n. 8, p. 1789-1798, jun. 2007. https://doi.org/10.1007/s00216-007-1359-z

20. RITZINGER, R.; RITZINGER, C. H. S. P. Acerola. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, MG: EPAMIG, v. 32, n. 264, p. 17-25, sept./out. 2011. https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/915423/1/AcerolaRITZINGERRogerio.pdf

21. SILVA, M. L. S.; MENEZES, C. C.; PORTELA, J. V. F.; SILVA ALENCAR, P. E. B. da; CARNEIRO, T. B. Teor de carotenoides em polpas de acerola congeladas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mosorró v. 8, n. 1, p. 170-173, jan./mar. 2013. https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/1829/1526

22. STATSOFT, Inc.; Statistica, version 10.0; StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA, 2010.

23. THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 34, n. 1, p. 52-59, jan./jun. 2000.

24. VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. SPME, solid phase micro-extration. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 523-530, july/aug.2000. https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000400016

25. VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (Malpighia punicifolia L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, n.2, supl. 1, p. 195-198, nov. 2000. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00152-7

26. VIANA, I. T. S.; PEREIRA, H. V.; SILVA, M. R.; GUEDES, M. N. S.; SOUZA, A. G. DE.; AUGUSTI, R.; FREITAS, J. R. L.; BUENO, G. H.; MELO, J. O. F. Characterization and evaluation of volatile compounds of three grape varieties (Vitis labrusca) from the region of Bento Gonalves RS. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 22, p. 1128-1135, may. 2018. https://doi.org/10.5897/AJAR2017.12883

27. VILELA, E. C.; CARVALHO, T. C.; DUARTE, A. R.; NAVES, R. R.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Spatial structure of Eugenia dysenterica based on essential oil chemovariations and implications for conservation and management of the genetic diversity of its populations. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 23, n. 10, p. 1776-1782, oct. 2012. https://doi.org/10.1590/S0103-50532012005000043

05

Avaliação sensorial de doce de abóbora de pescoço e maracujá

- Gláucia Cristina **Moreira**
- Francieli Begnini **Siepmann**
- Janice **Gebert**
- Michele Wochner **Mattei**
- Quirino Alison Vilas Boas da **Silva**

10.37885/201102111

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo desenvolver um doce de abóbora de pescoço e maracujá e realizar a análise sensorial para verificar a aceitação das formulações produzidas. Foram realizadas cinco formulações (tratamentos): T1: 5% albedo, 5% polpa de maracujá, 40% polpa de abóbora e 50% de açúcar; T2: 20% albedo, 5% polpa de maracujá, 25% polpa de abóbora e 50% de açúcar; T3: 5% albedo, 20% polpa de maracujá, 25% polpa de abóbora e 50% açúcar; T4: 20% albedo, 20% polpa de maracujá, 10% polpa de abóbora e 50% açúcar e T5: 12,5% de albedo, 12,5% de polpa de maracujá, 25% de polpa de abóbora e 50% de açúcar; onde as variáveis estudadas foram a concentração de polpa de abóbora de pescoço, albedo (casca) e polpa de maracujá. A concentração de açúcar não foi alterada para que o produto fosse caracterizado como doce em massa. A análise sensorial foi realizada com 120 provadores não treinados de ambos os sexos com idade entre 18 e 65 anos e não diabéticos, o método empregado foi o teste da escala hedônica, aplicado aos atributos cor, aroma, sabor, textura e impressão global. Os dados obtidos foram comparados pela análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade. Verificou-se que o tratamento que obteve uma maior aceitação provadores foi o tratamento 3. Assim, se lançado no mercado, esta formulação de doce pode vir a se tornar um produto bem aceito pelos consumidores.

Palavras-chave: Passiflora Edulis, Cucurbita Moschata, Doce, Análise Sensorial.

INTRODUÇÃO

A cada ano a demanda e procura por alimentos saudáveis e economicamente acessíveis vem aumentando, sendo assim a indústria de alimentos tem como meta transformar alimentos naturais em industrializados para atender as necessidades da população e garantir o abastecimento dos grandes centros (TIMOFIECSYK e PAWLOWSKY, 2000).

O principal objetivo da indústria de alimentos é o produto final, embora seu processamento gere grande quantidade de resíduos, que representa perda de matéria-prima. As perdas ocorrem desde a recepção até o produto final, pois envolve grande quantidade de frutos rejeitados, cascas, sementes e bagaço (MATSUURA, 2005).

O aproveitamento de subprodutos gerados durante o processamento de alimentos é de grande importância, visto que servem como fontes de proteínas, enzimas, lipídios e fibras possíveis de serem extraídos e aproveitados (COELHO et al., 2001). Segundo Barroso (2008) os subprodutos acarretam questões ambientais, por serem descartados indevidamente no ambiente).

Pesquisas têm destacado o potencial, a composição e as várias finalidades da polpa de maracujá, sendo que a sua ação antioxidante tem sido muito estudada, sendo esta atribuída aos polifenóis (HEIM et al., 2002).

Gomes (2004) relata que a casca do maracujá (parte branca) é rica em niacina, pectina, ferro, cálcio e fósforo. Quando utilizada na alimentação humana a niacina atua na produção de hormônios e previne problemas no intestino e estômago. Já o ferro ajuda na prevenção da anemia, o cálcio no crescimento e fortalecimento dos ossos e o fósforo na formação celular.

Frutas e hortaliças constituem uma rica e barata fonte de vitaminas, minerais e energia que o nosso organismo necessita, mas possuem tempo de conservação muito curto. Os consumidores quando se dirigem ao supermercado ou feira estão à procura de frutas e hortaliças que possuam uma aparência agradável aos seus olhos, já as que não se enquadram nessas exigências (fora dos padrões de qualidade) são descartadas. Uma alternativa para minimizar o desperdício desses alimentos de alta permissibilidade é a elaboração de doces e geleias (JACKIX, 1988).

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi realizar a análise sensorial de diferentes formulações do doce em massa a base de abóbora de pescoço e maracujá.

MÉTODOS

Todo o processo de produção dos doces de abóbora de pescoço e maracujá foi realizado no Laboratório de Vegetais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Medianeira – Paraná.

Para iniciar o processo de produção do doce de abóbora de pescoço e maracujá, procedeu-se a limpeza e sanitização dos materiais e utensílios que seriam utilizados através da lavagem com detergente líquido e enxágue com solução de hipoclorito de sódio a 200 mg L^{1} e em seguida com água corrente.

Para o estudo, foram delineados cinco tratamentos, sendo que em todas as formulações os ingredientes utilizados foram: polpa de abóbora de pescoço, polpa e albedo de maracujá e açúcar cristal. A diferença entre as formulações foi a adição de polpa e albedo de maracujá e polpa de abóbora em diferentes concentrações.

Os tratamentos elaborados foram: T1: 5% albedo, 5% polpa de maracujá, 40% polpa de abóbora e 50% de açúcar; T2: 20% albedo, 5% polpa de maracujá, 25% polpa de abóbora e 50% de açúcar; T3: 5% albedo, 20% polpa de maracujá, 25% polpa de abóbora e 50% açúcar; T4: 20% albedo, 20% polpa de maracujá, 10% polpa de abóbora e 50% açúcar e T5: 12,5% de albedo, 12,5% de polpa de maracujá, 25% de polpa de abóbora e 50% de açúcar.

O albedo de maracujá utilizado na elaboração do doce em massa primeiramente foi cozido por 25 minutos, até que se percebesse que o mesmo começava a ficar incolor. A polpa de abóbora de pescoço também foi cozida por aproximadamente 1 hora até que a mesma apresentasse consistência macia. Em seguida, as matérias primas e demais ingredientes foram pesados para cada formulação e triturados no liquidificador.

A avaliação sensorial foi realizada após as análises microbiológicas a fim de garantir a segurança dos julgadores, no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Medianeira – Paraná, nos períodos da tarde e noite. A análise sensorial foi realizada com 120 provadores não treinados de ambos os sexos com idade entre 18 e 65 anos e não diabéticos, o método empregado foi o teste da escala hedônica. As amostras foram avaliadas sensorialmente através de uma ficha de análise sensorial, avaliando os atributos cor, aroma, sabor, textura, impressão global utilizando-se escala hedônica segundo o modelo descrito pela NBR 12806 (ABNT, 1993) e NBR 14141 (ABNT, 1998), a qual utiliza uma escala de nove pontos variando de “desgostei extremamente” (1) a “gostei extremamente” (9). A intenção de compra foi avaliada através de uma escala de 5 pontos variando de certamente não compraria a certamente compraria. As amostras foram fornecidas em copos plásticos descartáveis, mantidas à temperatura de refrigeração (5°C), codificadas com três dígitos aleatórios, em cabines individuais sob luz branca, sendo

recomendada a ingestão de água destilada entre cada amostra para que não interferisse na avaliação da amostra seguinte.

O experimento foi conduzido em delineamento estatístico inteiramente casualizado composto por 5 tratamentos e 3 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade por meio do programa Infostat.

RESULTADOS

Os resultados da análise sensorial do doce mediante a utilização da escala hedônica de nove pontos estão representados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados dos atributos de cor, aroma, sabor, textura e impressão global, do doce de abóbora de pescoço e maracujá.

	Cor (%)	Aroma (%)	Sabor (%)	Textura (%)	Impressão global (%)
T 1	7,48a	7,08ab	7,13ab	6,93b	7,23a
T 2	6,90bc	6,22c	6,06cd	6,40bc	6,34b
T 3	7,63a	7,50a	7,47a	7,53a	7,44a
T 4	6,56c	6,31c	5,44d	5,53c	5,73c
T 5	7,38ab	6,73bc	6,48bc	6,49bc	6,63b
CV (%)	21,48	24,82	28,44	26,94	23,98

Média de 120 julgamentos. Escala Hedônica: (9) gostei extremamente; (8) gostei muito; (7) gostei moderadamente; (6) gostei ligeiramente; (5) indiferente; (4) desgostei ligeiramente (3) desgostei moderadamente; (2) desgostei muito; (1) desgostei extremamente. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si. CV: coeficiente de variação

DISCUSSÃO

Analisando os dados estatísticos observa-se que o tratamento T3 obteve os maiores resultados, sendo assim, o que teve as melhores características sensoriais.

Os resultados obtidos na intenção de compra variaram entre certamente compraria, pro-vavelmente compraria, talvez comprasse, talvez não comprasse e provavelmente não compraria. Dos 120 provadores 40% (48 provadores) provavelmente compraria o doce de abobora de pes-coço e maracujá se fosse lançado no mercado. Já 30% (36 provadores) talvez comprasse, talvez não comprasse, 27,5% (33 provadores) certamente compraria, já apenas 2,5% (3 provadores) provavelmente não compraria. Se o doce de abóbora de pes-coço e maracujá fosse lançado no mercado ele teria grandes chances de ser bem aceito, pois 40% dos provadores certamente compraria o produto desenvolvido.

Para o atributo cor, os tratamentos T1 e T3 não apresentaram diferença significativa entre si, sendo os mesmos superiores estatisticamente aos tratamentos T2 e T4. Com relação aos atributos aroma e sabor, o tratamento T3 foi superior estatisticamente aos tratamentos

T2, T4 e T5. Enquanto que para o atributo textura, o tratamento T3 diferiu dos demais tratamentos, sendo superior aos demais. Para a impressão global, os tratamentos T1 e T3 apresentaram médias significativamente superiores aos demais tratamentos.

CONCLUSÃO / CONSIDERAÇÕES FINAIS

Verificou-se que o tratamento que obteve uma maior aceitação dos provadores foi o tratamento 3 (T3: 5% albedo, 20% polpa de maracujá, 25% polpa de abóbora e 50% de açúcar). Assim, se lançado no mercado, esta formulação de doce pode vir a se tornar um produto bem aceito pelos consumidores.

REFERÊNCIAS

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. NBR 14141: esca- las utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1998. 3 p.
2. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. NBR 12806. Aná-lise sensorial dos alimentos e bebidas: terminologia. Rio de Janeiro. 1993. 8 p.
3. BARROSO, A.P.S. Caracterização físico-química do mesocarpo da melancia (Citrullus lanatus) cultivada no vale do São Francisco. In: Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, 3, 2008, Fortaleza. Anais. . . Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2008. CD Rom.
4. COELHO, M. A. Z.; LEITE, S. G. F.; ROSA, M. F.; FURTADO, A. A. L. Aproveitamento de resíduos agroindustriais: produção de enzimas a partir da casca de coco verde. Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos. Curitiba. v.19, n.1, p.33-42, 2001.
5. GOMES, C. Aproveitamento da casca do maracujá para fabricação de doces. O Agronô-mico. São Paulo. Ciência e Cultura, v. 20, n. 2, 1968. 43 p.
6. HEIM K. E.; TAGLIAFERRO A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structureactivity relationships. Journal Nutr Biochem 13: 572-584. 2002.
7. JACKIX, M. H. Industrialização de Frutas em Calda e Cristalizadas, Geleias e doces em Massa. Série Tecnologia Agroindustrial; Secretaria do Estado da Indústria, Comércio e Tecnologia, Governo do Estado de São Paulo, 19 – São Paulo: UNICAMP, p.107-210 1988.
8. MATSUURA, F. C. A. U. Estudo do albedo de maracujá e de seu aproveitamento em barra de cereais. Tese de Doutorado. Campinas: UNICAMP/FEA, 2005. 89p.
9. TIMOFIECSYK, F. C.; PAWLOWSKY, U. Minimização de resíduos na indústria de alimentos: revisão. Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos. Curitiba. v.18, n.2, p.221236, 2000.

06

Avaliação sensorial de lanches elaborados para estudantes de geologia em dias de campo

- Zegliany **Pinaffo**
- Manoela Cassa **Libardi**
- Gisele Rodrigues **Moreira**
- Flávia Vitorino **Freitas**

10.37885/201001929

RESUMO

Introdução: mudanças nos hábitos alimentares são muito comuns para os estudantes universitários e, particularmente, para os estudantes do curso de Geologia nos dias de atividade de campo. Deste modo, é usual o consumo de lanches repetitivos e com baixo teor de nutrientes durante esses dias. **Objetivo:** elaborar lanches práticos e nutritivos, além de realizar teste sensorial, para os estudantes de Geologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo em dias de aulas de campo. **Métodos e Resultados:** foram elaborados três sanduíches e três sucos com suas respectivas fichas técnicas. Verificou-se, pelo AVANUTRI®, que os lanches apresentaram valor calórico total médio de 673,41 kcal (± 28,54 kcal) e atenderam às recomendações relacionadas à distribuição do percentual de energia aceitável para os macronutrientes. As amostras elaboradas foram avaliadas quanto à sua aceitabilidade por 53 estudantes para a avaliação dos sanduíches e por 51 estudantes para a avaliação dos sucos. Os dados obtidos pelo teste sensorial foram analisados pela Análise de Variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 1% de significância. Observou-se ótima aceitação dos lanches servidos e constatou-se que não houve diferença significativa entre as amostras de sanduíches e sucos em relação ao atributo aparência. Considerando sabor e nota final, notou-se diferença significativa entre as amostras servidas. **Conclusão:** As dificuldades encontradas na formulação dos lanches não impediram que os aspectos nutricionais, higiênicos e sensoriais fossem adequados.

Palavras-chave: Teste Sensorial, Lanches, Estudantes, Geologia.

INTRODUÇÃO

Os jovens que ingressam na universidade confrontam-se com desafios pessoais, interpessoais, familiares e institucionais. Diante desta situação, novos hábitos de vida podem ser adotados, como o consumo de bebidas alcoólicas e fumo, sedentarismo, omissão de refeições e outros[1].

Borges e Lima Filho[2] afirmam que o ingresso à universidade pode influenciar e até determinar alguns comportamentos alimentares. Desta forma, mudanças nos hábitos alimentares são muito comuns para os estudantes universitários e, particularmente, para os estudantes do curso de Geologia, que praticam atividades de campo ao longo de quase todo o currículo. Estas aulas são caracterizadas por dias que demandam atividade física de grande esforço pelos estudantes e pouco tempo dedicado para a realização das refeições. Além disto, deve ser considerado que o local da alimentação influencia nas escolhas alimentares, principalmente quando o local físico apresenta limitações[3].

Ao mesmo tempo, sabe-se que em dias de atividade física as necessidades energéticas e nutricionais são aumentadas e a dieta realizada deve alcançar esta necessidade para que se tenha melhor desempenho físico[4]. Diante desta situação, é evidente a dificuldade dos estudantes de Geologia em suprir as necessidades nutricionais nos dias de campo.

Deste modo, é muito comum o consumo de lanches repetitivos e com baixo teor de nutrientes durante as atividades de campo, mostrando assim, a importância de oferecer preparações que atendam as necessidades energéticas e nutricionais destes dias e, desta forma, melhorar a disposição física para realização das atividades que deverão ser cumpridas pelos graduandos de Geologia.

Até pouco tempo atrás, os lanches eram vistos como episódios menores e menos estruturados quando comparado com as refeições principais. Entretanto, devido ao conceito de lanche saudável e equilibrado, este vem ganhando importância cada vez maior nos dias atuais[5]. O avanço significativo do consumo de lanches pode ser explicado com a mudança no estilo de vida da população que por buscar economia no tempo para preparação dos alimentos, normalmente, substitui as grandes refeições por lanches rápidos e práticos[6].

A realização da análise sensorial é de suma importância, pois quando se trata da qualidade de um produto deve-se considerar a satisfação do consumidor. Sendo assim, mesmo que um produto apresente características químicas, físicas ou microbiológicas excelentes, esse poderá ter pouca aceitação por parte do consumidor se o aspecto sensorial não for considerado. Ao avaliar a aceitação de um alimento, o analista sensorial deve realizá-lo com a população de indivíduos a quem o produto de fato se destina, para que os resultados coletados sejam confiáveis em relação à aceitabilidade do alimento[7].

OBJETIVO

Elaborar lanches práticos e nutritivos, além de realizar teste sensorial, para os estudantes de Geologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA/UFES) em dias de aulas de campo.

MÉTODOS

Tipo de estudo

Este trabalho faz parte de um projeto intitulado: “Avaliação do consumo alimentar e elaboração de preparações para estudantes de Geologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo nos dias de atividade de campo”, que foi realizado com os estudantes do curso de Geologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA/UFES), no município de Alegre, ES.

A pesquisa realizada é do tipo observacional analítica[8,9] e foi realizada ao longo do segundo semestre de 2011, nos laboratórios de Técnica Dietética e Análise Sensorial do CCA/UFES.

População e amostra

A população em questão totalizou 70 alunos. Foram excluídos os estudantes do segundo período por não apresentarem aulas de campo e do décimo período do curso por estarem em fase de estágio, o que poderia inviabilizar o trabalho. Sendo assim, os alunos dos demais períodos foram convidados a participarem do teste de aceitabilidade. Entretanto, a amostra foi definida apenas pelos indivíduos que concordaram em participar e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Como se tratava de uma população finita, a seguinte fórmula foi utilizada para o cálculo amostral[10] dos julgadores:

$$n = \frac{Z^2 \times S^2 \times N}{d^2 \times (N-1) + Z^2 \times S^2}$$

Em que:

Z = abscissa da distribuição normal para o grau de confiança de 5%;

S^2 = variância amostral da variável peso (kg);

N = tamanho da população;

d = semi-intervalo de confiança (IC/2) ou erro padrão da estimativa.

Foi estabelecido um erro amostral de 2,5 resultando em um número amostral representativo de 48 estudantes.

A amostra obtida no teste sensorial foi de 53 estudantes para a avaliação dos sanduíches e 51 estudantes para a avaliação dos sucos, sendo a amostra coletada estatisticamente significante ($p \geq 0,05$).

Instrumentos e procedimentos de coleta de dados

Primeiramente foi aplicado um questionário aos professores (Apêndice A) responsáveis pelas disciplinas com aulas de campo a fim de esclarecer a dinâmica de realização das atividades, considerando o local de realização, o tempo de permanência dos alunos no local, as atividades desenvolvidas e a existência de ajuda de custo.

Ainda foi calculado o gasto energético amostral, baseando-se nos dados antropométricos coletados no projeto que este trabalho faz parte. O fator de atividade utilizado foi ativo, tanto para homens quanto para mulheres[11]. De acordo com o tempo diário em que os estudantes permanecem nas aulas de campo, adotou-se que os lanches com os sucos deveriam atender 45% (colação, almoço e lanche) das necessidades nutricionais diárias.

Assim, o valor encontrado foi de 681,73 calorias, considerando dois momentos para alimentar-se. Foi considerada ainda a distribuição energética entre macronutrientes, sendo 45% - 65% para carboidrato, 20% - 35% para lipídeo e 10% - 35% para proteína[11].

Em seguida, as preparações foram formuladas e elaboradas no Laboratório de Técnica Dietética do Prédio de Alimentos e Nutrição do CCA/UFES. A escolha dos ingredientes foi definida considerando-se os grupos alimentícios que seriam adequados às condições das aulas de campo, considerando aspectos nutricionais, higiênicos e sensoriais. Quesitos como custo, perecibilidade e praticidade dos alimentos também tiveram importância.

Durante a formulação dos sanduíches foi dada preferência, pelo menos, a uma fonte de carboidrato (pão), um recheio protéico e um vegetal folhoso. Já os sucos deveriam conter duas frutas ou uma fruta com uma hortaliça, sendo denominado como um suco misto.

Foram então elaborados três lanches, sendo esta denominação dada à combinação do sanduíche com um suco misto. Em seguida, teve a formulação das fichas técnicas simplificadas, a serem entregues aos estudantes, independente das notas da análise sensorial. Nestas fichas foram inclusas informações como ingredientes, quantidades em gramas ou mililitros, medidas caseiras, técnica de preparo, rendimento, tempo de preparo e custo da preparação. Na sequência, foi realizado o cálculo nutricional das preparações utilizando-se o software AVANUTRI®

Os testes de aceitabilidade foram conduzidos no Laboratório de Análise Sensorial do Prédio de Alimentos e Nutrição do CCA/UFES, em duas sessões, com intervalo de 24 horas

entre as sessões. Na primeira, os julgadores degustaram as amostras de suco e, na segunda, as amostras de sanduíche. As avaliações foram realizadas em cabines individuais e as amostras servidas em recipientes descartáveis de cor branca, de forma aleatória e monádica, codificadas com três dígitos numéricos, em temperatura ambiente, em cada sessão, sob luz branca, segundo metodologia citada por Minim[7].

Em todas as sessões o julgador recebeu uma ficha para cada amostra, em que lhe foi solicitado que indicasse na escala hedônica de nove pontos, entre "gostei extremamente" (9) a "desgostei extremamente" (1), a sua aceitação em relação à aparência e ao sabor do produto. Na ficha de avaliação também continha nota final de cada preparação (de 0 a 10) e a pergunta se os julgadores levariam a amostra servida para as aulas de campo.

Tratamento dos dados

A partir dos resultados obtidos no teste sensorial, foi realizada a Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 1% de significância, através do programa *Statistica®* 7.0.

Por fim, para verificar a intenção do julgador em levar ou não o lanche servido para o campo, foi feito o cálculo de frequência.

Cuidados éticos

Como o trabalho faz parte do projeto "Avaliação do consumo alimentar e elaboração de preparações para estudantes de Geologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo nos dias de atividade de campo", teve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFES, através do parecer nº 012/11.

Todos os julgadores que concordaram em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

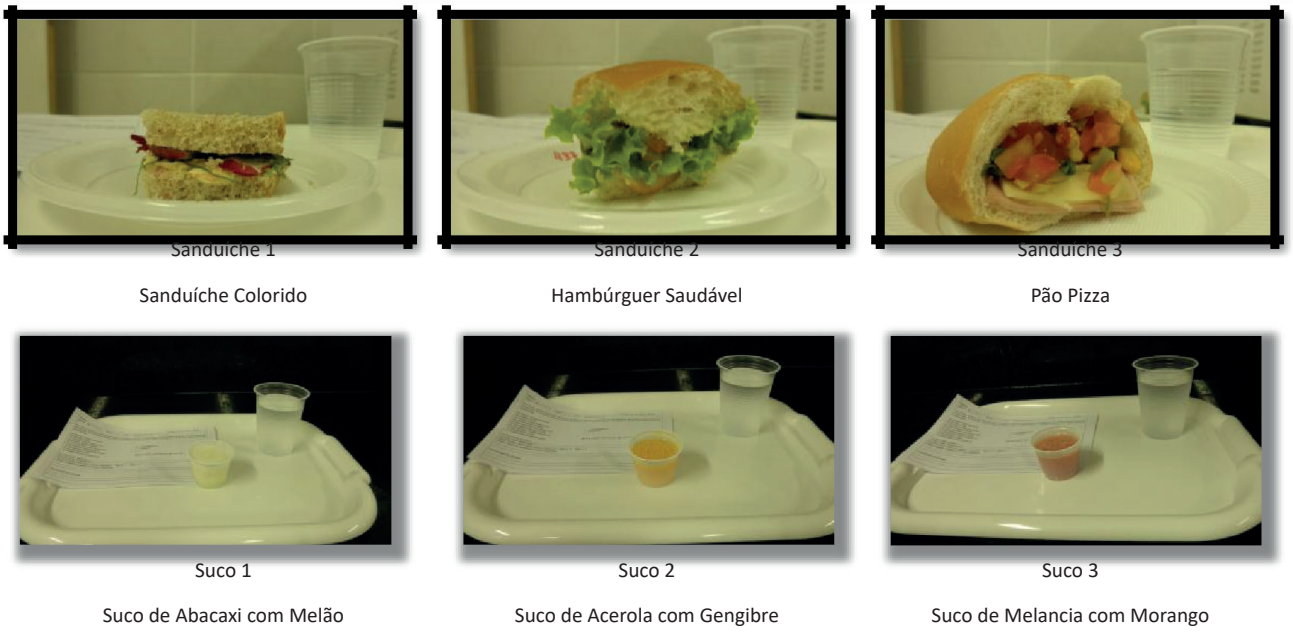
RESULTADOS

Pelo questionário aplicado aos professores do curso de Geologia percebeu-se que, nos dias de aula de campo, a carga horária diária era extensa, em média 7 horas, o que sugere uma demanda de energia aumentada, devido ao esforço físico mais acentuado. Quando as atividades de campo ocorriam em regiões distantes da universidade e a hospedagem era necessária, os alunos recebiam ajuda de custo por parte do governo, o que auxiliava na alimentação dos estudantes, visto que os estabelecimentos que os hospedam, em geral, ofereciam uma ou mais refeições aos alunos (geralmente desjejum e jantar), sem custo adicional. Ocasionalmente, alguns hotéis disponibilizavam lanches para serem levados ao campo.

Na Figura 1 observam-se os sanduíches e sucos elaborados. Durante a formulação das preparações, percebeu-se dificuldade para associar todos os quesitos que deveriam ser atendidos, como o valor nutricional, custo, perecibilidade e praticidade dos alimentos.

Os sanduíches e sucos sugeridos neste trabalho possuem alguns ingredientes que, nas condições de aula de campo, poderiam sofrer alguma alteração física. Porém esta limitação pode ser evitada ao acondicionar os sucos em recipientes térmicos e os sanduíches em plástico do tipo filme de PVC ou ainda no papel toalha e depois no papel alumínio em um recipiente hermeticamente fechado, de preferência isotérmico. Juntamente com as fichas técnicas, foram dadas orientações quanto ao preparo e transporte dos lanches (Apêndice D), de forma a garantir a estabilidade da temperatura por longos períodos de tempo. Este trabalho ainda sugere que os lanches e os sucos sejam consumidos, no máximo, 24 horas após o preparo.

Figura 1. Fotografias das preparações elaboradas.



A partir da visualização da Tabela 1, pode-se perceber que os lanches elaborados apresentaram valor calórico total (VCT) médio de 673,41 kcal (± 28,54 kcal). Em relação aos macronutrientes, os lanches apresentaram a distribuição calórica dentro da faixa de adequação, com percentuais nutricionais para carboidrato, lipídeo e proteína de 54,55 % (± 4,08 %), 28,72 % (± 5,46 %) e 16,73 % (± 2,21 %), respectivamente.

O Lanche 1 apresentou maior valor energético, glicídico e proteico, o que pode ser justificado por ter três fatias de pão integral no sanduíche. Já a maior quantidade de lipídeo foi encontrada no Lanche 2, não distanciando muito do Lanche 3. Estes lanches contêm alimentos que tem o teor lipídico mais elevado, como requeijão cremoso, ricota, queijo muçarela, presunto e azeitona.

Vale destacar que, durante a realização do cálculo nutricional percebeu-se a necessidade de se associar uma fruta ao Lanche 3, na tentativa de adequar a distribuição energética entre os macronutrientes. Sugere-se a goiaba por apresentar baixo custo, baixa perecibilidade e pela praticidade quanto ao transporte e manuseio ao ingerir.

Tabela 1. Valor nutricional das preparações elaboradas

Preparação	Energia	Carboidrato	Lipídeo	Proteína
	(kcal)	(%)	(%)	(%)
Lanche 1 (Sanduíche 1 + Suco 1)	692,84	58,46	22,58	18,97
Lanche 2 (Sanduíche 2 + Suco 2)	640,64	50,32	33,01	16,67
Lanche 3 (Sanduíche 3 + Suco 3 + Goiaba)	686,76	54,88	30,57	14,55
Média	673,41	54,55	28,72	16,73
Desvio Padrão	± 28,54	± 4,08	± 5,46	± 2,21

Com relação à avaliação sensorial, participaram do teste de aceitabilidade 53 julgadores para a avaliação dos sanduíches e 51 julgadores para a avaliação dos sucos, sendo a amostra coletada estatisticamente significante ($p \geq 0,05$) de acordo com Arango[10]. Por se tratar de um teste sensorial afetivo, Minim[7] afirma que, em avaliação com mais de dois produtos, o ideal é utilizar 50 participantes para maior credibilidade dos resultados.

Nas Figuras 2 e 3 podem ser verificadas as médias da aparência, sabor e nota final para sanduíches e sucos, respectivamente. Por meio da Análise de Variância não houve diferença significativa ($p \geq 0,01$) entre as amostras de sanduíches (Figura 2) e sucos (Figura 3) em relação ao atributo aparência.

Em já relação ao sabor e nota final dos sanduíches, observou-se diferença significativa ($p \geq 0,01$) entre as amostras servidas, sendo que o Sanduíche 2 teve maior aceitação. O Sanduíche 3 não diferiu estatisticamente ($p \geq 0,01$) dos Sanduíches 1 e 2.

Pode-se constatar, por meio da Figura 2, que todos os sanduíches foram bem aceitos pelos provadores, apresentando médias acima de 7,0 em todos os atributos. O Sanduíche 2 apresentou como média da nota final 8,96, seguido do Sanduíche 3 com nota final 8,74 e Sanduíche 1 com nota 8,06.

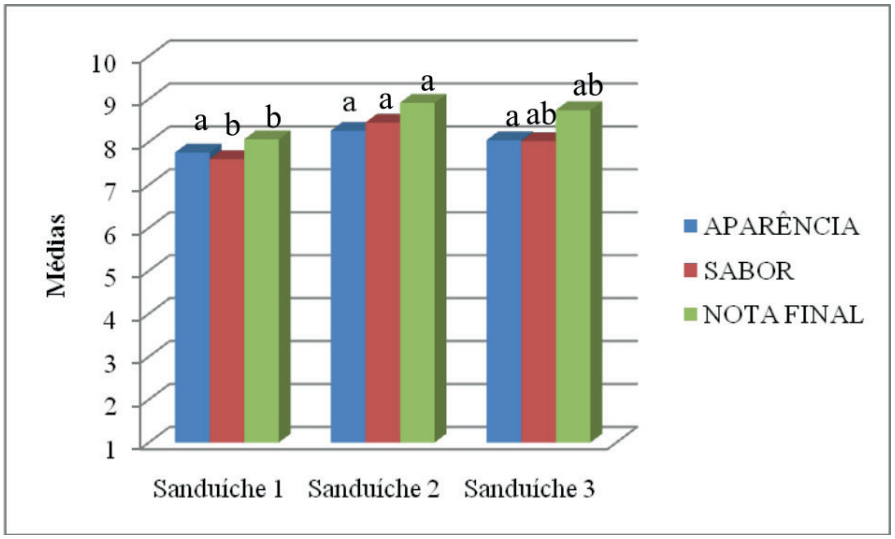
Foi notado uma ótima aceitação do Sanduíche 2, sendo classificado entre os pontos "gostei muito" e "gostei extremamente". Apesar de ter sido bem aceito, 11,32% dos julgadores afirmaram que não levariam o sanduíche para o campo, justificando que o tomate e a alface poderiam sofrer alteração física e que o ovo poderia deteriorar no calor. Entretanto, deve-se considerar que não havia o ingrediente "ovo" no sanduíche e que a conservação deste lanche em recipientes hermeticamente fechados evitaria a deterioração dos vegetais em questão.

Como já mencionado, o Sanduíche 3 teve boa aceitação, variando de "gostei muito" até "gostei extremamente" e ainda 90,57% dos julgadores aprovaram o sanduíche para

ser levado ao campo. Quando foram questionados ao que mais gostaram, responderam a combinação dos sabores e a cor atrativa. Outra vantagem apontada foi que os participantes consideraram este lanche mais prático para ser preparado antes das atividades de campo. Mesmo com este comentário, os julgadores não tiveram acesso às fichas de preparo.

O Sanduíche 1 apresentou notas que estão entre a faixa “gostei moderadamente” e “gostei muito”. Mesmo com este resultado, este sanduíche teve menor aceitação, provavelmente devido ao alho, já que alguns julgadores reclamaram do gosto forte deste condimento, mas vale ressaltar que outros elogiaram o sabor desta preparação. Em contra partida, 90,57% dos julgadores levariam este sanduíche para o campo e relataram que gostaram da coloração variada e da combinação dos ingredientes, tendo um sabor surpreendente. Alguns comentários apontaram que o sanduíche “é uma ótima opção para o campo por sustentar e por ter um sabor leve”.

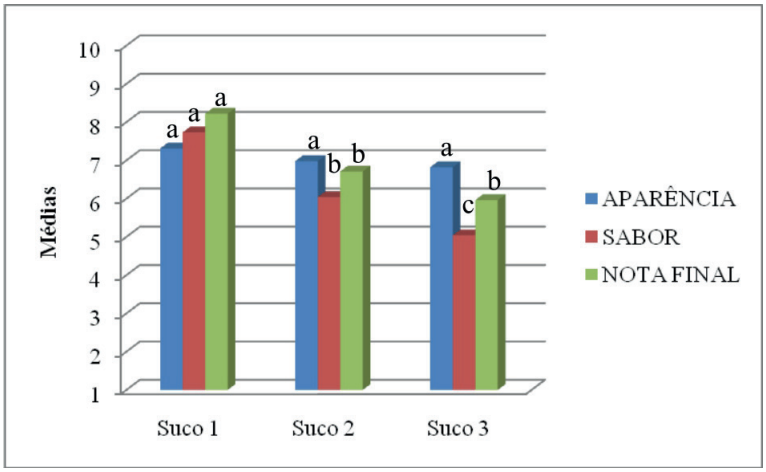
Figura 2. Médias de cada atributo avaliado e nota final para cada sanduíche.



Médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada atributo, não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey ($p \geq 0,01$).

Em relação aos sucos, foi observada diferença significativa ($p \geq 0,01$) quanto ao atributo sabor, sendo que o Suco1 teve maior aceitação e o Suco 3 a menor aceitação. Quanto a nota final, os Suco 2 (6,71) e 3 (5,96) não diferiram significativamente entre si ($p \geq 0,01$) e tiveram notas inferiores ao constatado para o Suco 1 (8,22), como pode ser visualizado na Figura 3.

Figura 3. Médias de cada atributo e nota final avaliado para cada suco.



Médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada atributo, não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey ($p \geq 0,01$).

O Suco 1 teve a maior aceitação entre os sucos servidos, variando entre "gostei moderadamente" e "gostei muito". A maioria dos participantes (86,27%) afirmou que levariam o suco para o campo e comentaram ainda que este possui "sabor refrescante" e por isso seria ótimo para os dias quentes.

A aceitação do Suco 2 variou entre "gostei ligeiramente" e "gostei moderadamente".

Atributos sensoriais como sabor e aparência tiveram influência negativa na avaliação, pois comentários como "pequenas partículas no meio do suco" e "suco com gosto estranho" foram observadas nas fichas de avaliação, o que pode ser decorrente do gengibre. Ainda assim, 60,78% levariam este suco para o campo, possivelmente pelo "sabor refrescante".

De acordo com 72,55% dos estudantes, o Suco 3 não é adequado para as atividades de campo, apresentando escalas hedônicas "nem gostei/nem desgostei" e "gostei ligeiramente".

Esta menor aceitação é comprovada ao observar que muitos julgadores afirmaram não gostar de melancia. É válido ressaltar aqui que alguns entenderam que o suco seria para substituir a água, o que não é a intenção deste trabalho. Outro fator relevante é a queixa em relação aos "pedaços de melancia" no suco, problema este que pode ser resolvido se o tempo de batida no liquidificador for aumentado ou ainda se o suco for peneirado.

DISCUSSÃO

Stafford[12] e Todhunter[13] mencionam que os estudantes de Geologia estão expostos a diferentes condições climáticas, como sol quente, frio intenso e chuva. Afirmam ainda que o acesso aos alimentos é restrito e o tempo disponível para a realização das refeições é curto.

Muitos estudos[2,15,16] já constaram a preferência que os estudantes universitários têm por lanches rápidos e práticos, por conta da falta de tempo da rotina universitária. Souza e Souza[14] verificaram que a maioria dos estudantes de uma universidade brasileira realizavam

lanches rápidos, porém com alto valor calórico e baixo valor nutricional, mostrando a necessidade de trabalhar a importância de lanches nutritivos com os universitários.

Pesquisas revelam a importância da adequação energética durante as atividades físicas por considerar que a baixa ingestão energética pode implicar em perda de massa muscular, desenvolvimento de fadiga e lesões, perda de massa óssea, baixa imunidade e queda no desempenho físico[4, 15].

De acordo com Matsuura e Rolim[17], o suco de abacaxi apresenta grande aceitação sensorial por parte dos consumidores, além de ser um alimento energético[18], o que é coincidente com o presente estudo em que o Suco 1, que foi preparado com abacaxi.

É relevante o incentivo ao consumo de sucos para estes estudantes, não só pelo sabor, mas também por serem fontes naturais de vitaminas e minerais[19]. Estes micronutrientes participam de processos celulares relacionados ao metabolismo energético, contração, reparação e crescimento muscular[20]. Sabe-se também que a hidratação é essencial para garantir um bom desempenho físico, pois a desidratação acelera o consumo de glicogênio e, assim, a fadiga dos músculos[21].

CONCLUSÃO

A alimentação nos dias de campo é de grande importância, visto que o gasto energético nesses dias é aumentado e o acesso aos alimentos é dificultado. Deste modo, os lanches tornam-se uma alternativa para atender essa situação.

Durante o estudo encontrou-se dificuldades para formular os sanduíches e sucos que fossem adequados nutricionalmente e sensorialmente, e ainda, que atendessem aos aspectos higienicossanitários, o que pode ser um fator limitante para os estudantes de Geologia nos dias de aulas de campo. Entretanto, os lanches sugeridos neste trabalho atenderam aos objetivos esperados.

Em relação às médias da distribuição dos macronutrientes, todos os lanches ficaram dentro da faixa de recomendação, sendo que o Lanche 1 apresentou maior valor energético, glicídico e proteico e os Lanches 2 e 3 os maiores valores lipídicos.

Os resultados do teste sensorial evidenciaram uma ótima aceitação dos lanches, sendo que o Sanduíche 2 e o Suco 1 tiveram a maior aceitação por parte dos estudantes.

Contudo, estudos adicionais tornam-se necessários visando outras escolhas alimentares para estes alunos nos dias de atividade de campo. Tanto para a melhoria da qualidade alimentar como para o desempenho físico desses dias, uma vez que não existem estudos semelhantes ao tema abordado neste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. PRATI, S. R. A.; PORTO, V. J.; FERREIRA, L. Estilo de vida de universitários: uma investigação sobre hábitos alimentares, atividade física e estresse. **Revista Biomotriz**, v. 14, n. 2, p. 69-78, jun. 2020.

2. BORGES, C. M.; LIMA FILHO, D. O.; **Hábitos alimentares dos estudantes universitários: um estudo qualitativo.** [s.d.]. Disponível em: < http://sistema.semead.com.br/7semead/paginas/artigos%20recebidos/marketing/MKT37_-_H%E1bitos_Alimentares_dos_Estudantes_Uni.PDF>. Acesso em: 22 out. 2020.

3. MARSHALL, D.; BELL, R. Meal construction: exploring the relationship between eating occasion and location. **Food Quality and Preference**, v.14, p. 53-64, 2003.

4. LANCHA JUNIOR, A. H. Nutrição aplicada à atividade motora. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 25, p. 45-51, dez. 2011.

5. SEMINÁRIO DE ALIMENTAÇÃO INFANTIL, 7., 2007, São Paulo. **Como conciliar cantina escolar, produtos industrializados e alimentação saudável**, 2007.

6. BUSATO, M. A.; PEDROLO, C.; GALLINA, L. S.; ROSA, L. Ambiente e alimentação saudável: percepções e práticas de estudantes universitários. Revista Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 36, n.2, p. 75-84, jul./dez. 2015.

7. MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial**: estudos com consumidores. 4. ed. Viçosa: UFV, 2018, 332 p.

8. ALVES, M. **Como escrever teses e monografias**: um roteiro passo a passo. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006, 120 p.

9. LIMA-COSTA, M. F.; BARRETO, S. M. Tipos de estudos epidemiológicos: conceitos básicos e aplicações na área do envelhecimento. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 12, n. 4, p. 189-201, out./dez. 2003.

10. ARANGO, H. G. **Bioestatística**: teórica e computacional. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009, 458 p.

11. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes – energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids**. National Academies. Washington D.C. 2002.

12. STAFFORD, K. W. **Llano Cave Field Trip**. Texas, 2010. Disponível em: <http://www.sfasu.edu/courseinformation/syl/201001/GOL47112.pdf>. Acesso em 28 out. 2020.

13. TODHUNTER, R. **Geology field days volcanoes**: mines and glaciers of North Wales, The University of Liverpool. 2007.

14. SOUZA, M. T. A.; SOUZA, F. M. Avaliação dos hábitos alimentares dos universitários de uma instituição privada de ensino superior no interior da Bahia. **Revista Multidisciplinar e de Psicologia** v. 10, n. 33, jan. 2017.

15. FEITOSA, E. P. S.; DANTAS, C. A. O.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; MARCELLINI, P. S.; MENDES-NETTO, R. S. Hábitos alimentares de estudantes de uma universidade pública no nordeste, Brasil. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 225-230, abr./jun. 2010.

16. PETRIBÚ, M. M. V.; CABRAL, P. C.; ARRUDA, I. K. G. Estado nutricional, consumo alimentar e risco cardiovascular: um estudo em universitários. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 22, n. 6, p. 837-846, nov./dez. 2009.

17. MATSUURA, F. C. A. U; ROLIM, R. B. Avaliação da adição de suco de acerola em suco de abacaxi visando à produção de um "blend" com alto teor de vitamina C. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 138-141, abr. 2002.

18. SILVA, S. Z.; ALMEIDA, F. D.; BARATÉIA-SIMM, K. C. Análise microbiológica da casca de abacaxi (Ananás comosus) sob diferentes condições de higienização para obtenção de suco e chá. **Revista Higiene Alimentar**, v. 31, n. 268, p. 73-77, mai./jun. 2017.

19. PINHEIRO, A. M.; FERNANDES, A. G.; FAI, A. E. C.; PRADO, G. M.; SOUSA, P. H. M.; MAIA, G. A. Avaliação química, físico-química e microbiológica de sucos de frutas integrais: abacaxi, caju e maracujá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 98-103, jan./mar. 2006.

20. PANZA, V. P.; COELHO, M. S. P. H.; PIETRO, P. F.; ASSIS, M. A. A.; VASCONCELOS, F. A. G. Consumo alimentar de atletas: reflexões sobre recomendações nutricionais, hábitos alimentares e métodos para avaliação do gasto e consumo energéticos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 20, n. 6, p. 681-692, nov./dez. 2007.

21. GUERRA, I.; SOARES, E. de A.; BURINI, R. C. Aspectos nutricionais do futebol de competição. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 7, n. 6, p. 200-206, nov./dez. 2001.

07

Avanços tecnológicos no processamento do cacau e derivados e efeitos no organismo

Yasmim da Fonseca **Wagner**

10.37885/201001666

RESUMO

O chocolate é o subproduto do cacau mais consumido no mundo. Porém sofreu alterações e refinamentos desde seu descobrimento como um fruto afrodisíaco que se tornou uma bebida, e mais tarde veio a ser moeda de troca, até os dias atuais com a produção em massa de barras e diferentes tipos de chocolates e sabores desenvolvidos pelas grandes indústrias. O artigo aborda um recorte histórico da evolução do chocolate desde o descobrimento, até o primeiro processamento e as novas técnicas e tecnologias que envolvem a produção de chocolate, bem como o cultivo e tipos de cacau produzidos mundialmente.

Palavras-chave: Cacau, Chocolate, Tecnologia, Indústria.

INTRODUÇÃO

O chocolate é um dos produtos mais conhecidos no mundo, também se encontra na quinta posição do comércio mundial, o mesmo além de prover propriedades afrodisíacas e medicinais sofreu fortes alterações desde o início de seu plantio, cultivo e processamento até os dias atuais, transformando o cacau, fruto que origina o chocolate em barras com diversos sabores que se encontra em fácil acesso atualmente.

Com os avanços tecnológicos, possibilitou que o chocolate que no início de sua descoberta era apenas uma bebida escura e amarga, obtivesse refinamento e com adição de outros ingredientes pudesse ter o formato de barras de diferentes sabores e formatos. Ao longo do tempo os chocolates eram apenas escuros devido a coloração da semente do cacau, porém nos dias atuais encontramos demais colorações no mercado natuarais como branco e ruby.

Além dessas modificações, descobriu-se que o cacau isolado, ou seja, minimamente processado pode ser benéfico na melhora de aspectos cognitivos, tornando assim, um dos produtos mais procurados pelos consumidores. Atualmente a proposta de fabricação são os orgânicos e com menos aditivos químicos por questões de saúde, retomando a origem do início da produção de chocolate.

Diante do exposto, este trabalho possui como objetivo descrever a evolução do processamento do chocolate, desde seu descobrimento até os primeiros processamentos e as novas técnicas e tecnologias que envolvem sua produção.

METODOLOGIA

No artigo em questão foi utilizada a abordagem qualitativa na forma de pesquisa bibliográfica em livros do campo de atuação, bem como artigos do site Pubmed e Scielo.

A metodologia foi a revisão literária baseada em análise descritivo-reflexiva dos referenciais bibliográficos publicados no formato de artigos em revistas indexadas, disponíveis nas bases de dados Pubmed e Scielo e foram consideradas palavras-chave: cacau, chocolate, tecnologia, indústria, bem como em livros do campo de atuação, sendo respeitado o período de 1994 a 2018.

Como critérios de inclusão foram observados a disponibilidade na íntegra dos artigos nacionais e internacionais e a publicação no período entre 1994 a 2018. Os critérios de exclusão foram baseados no artigo não encontrar-se disponível na íntegra e, apesar de apresentarem os descritores selecionados, o escopo não expor relação direta à temática proposta.

REFERENCIAL TEÓRICO

HISTÓRIA DO CACAU

O chocolate é um dos subprodutos do cacau, mais apreciado pela maioria das pessoas, independente da idade. A palavra chocolate deriva-se do barulho feiro pelo fruto cacau ao se mexer (chocalho) e alt de água em latim. Originando a palavra chocolate que se conhece atualmente (JACARELLI, 2016).

O cacau é originário do Golfo do México cultivado pelos Astecas e América central, cultivado pelos Maias desde 1000 a.C. Quando os colonizadores Espanhóis chegaram as américas, o fruto já era cultivado porém o mesmo não era explorado, não havia conhecimento sobre o fruto. O cacaueiro era considerado sagrado, “a bebida dos Deuses” (CEPLAC, s/d). Por volta de 600 a.C. os maias estabeleceram as primeiras plantações de cacau na Guatemala e Yucatan com o propósito de expandir os poderes que a bebida dos Deuses fornecia, a sensação de prazer. A bebida dos Deuses surgiu pela prensa da semente de cacau e mistura com água, que ao chacoalhar, espumava. Porém, apesar do início do cultivo do fruto, o mesmo se restringia ao consumo da nobreza pois seu cultivo não era de fácil acesso. A importância do cacau não se restringia apenas a bebida elaborada naquela época, mas também às sementes que era utilizada como moeda de troca. Em 1502, Cristóvão Colombo chega à América Central, descobrindo o cacau através da bebida até então conhecida, porém sem muita importância. Apenas em 1519, dezessete anos depois, Colombo volta ao México com o objetivo de conquistar o território e as primeiras misturas da bebida que eram feitas com especiarias como pimenta e canela, mais adiante passou a ser adoçada com mel e açúcar, quando levado por Cristóvão para Europa, tornando possível a expansão do conhecimento e estudos sobre o fruto e a bebida produzida por ele até a transformação em chocolate (COSTA, 2008).

As primeiras plantações de cacau europeias surgiram pela Espanha e até o século XVI os espanhóis mantinham a iguaria como segredo, e faziam o processamento de secagem, torrefação e prensagem manualmente sem recursos tecnológicos ao ar livre. Somente no século XVII, que os primeiros frutos saíram do México para Sevilha na Espanha. Ainda no século XVII, Antonio Carlleti levou a bebida até então espanhola para os cafés italianos fazendo sucesso na época e variando o sabor em função da especiaria e condimento utilizado para doçúr. Mais adiante, quando as produções espanholas das cidades mexicanas não atendiam a demanda do consumo de chocolate na época, os mesmos começaram a plantar na Venezuela, começando assim, a expansão do plantio do fruto nas Américas e em demais países do continente africano (FRANCO, 2010).

Segundo Hermé (2006), a revolução industrial contribuiu fortemente para que os avanços tecnológicos no processamento do chocolate ocorressem de forma significativa em relação o

que até então se conhecia e se produzia em relação ao fruto. No século XIX a bebida já era mais acessível, porém não houve avanços significativos até que em 1828, o químico Holandês Coenraad Van Houten criou um prensa com um parafuso que permitia que o cacau virasse pó, também permitindo a retirada da manteiga do cacau (gordura do cacau) que até então não era feita. Permitindo assim, que a bebida até então produzida, ficasse mais leve e agradável. Para não haver o descarte da manteiga de cacau, foi adicionada à bebida junto ao açúcar, tornando uma pasta cremosa que ao esfriar se tornava sólida, trazendo então os primeiros indícios das barras de chocolate. Com a facilidade de produção do pó de cacau o produto se difundiu ainda mais e o preço do mesmo ficou acessível, pois a durabilidade era maior e foi porta para redução de consumo de álcool dos trabalhadores que na época sofriam de alcoolismo. Com a acessibilidade do chocolate, os trabalhadores que consumiam a bebida produziam com maior desempenho e prazer relação àqueles que consumiam bebidas alcoólicas em grande proporção. Em 1819, François Louis Cailler, abre a primeira fábrica de chocolate suíça, porém a mesma ainda não era em barras, apenas em 1847 a firma inglesa Bistol Fly & Bons começou a produzir as primeiras barras de chocolate que eram rígidas levemente amargas. Somente em 1875, o alemão Henri Nestlé criou uma nova máquina que misturava a pasta de cacau ao leite condensado em pó, surgindo o primeiro chocolate ao leite. Porém só em 1880, devido a um esquecimento, Lindt deixou a máquina ligada e três dias depois ao voltar, o chocolate estava com uma textura aveludada, desde então começou o processo que hoje se conhece como “conchagem”, marco principal da tecnologia no processamento industrial do chocolate, fundamental para a qualidade no processo de produção de chocolate. Ao longo dos anos, outras fábricas foram surgindo até chegar aos processos refinados que hoje são feitos (COSTA, 2008).

O FRUTO

O cacaueiro ou Theobroma Cacau é a árvore que dá origem ao fruto chamado cacau. Prospera em regiões úmidas e quentes, acima de 20°C durante todo o ano. A árvore é frágil, seu cultivo é delicado, sensível a mudanças extremas de clima e vulnerável a pragas e fungos (BECKETT, 1994).

Seus primeiros frutos podem ser colhidos em média cinco anos depois de seu plantio, o fruto aparece na árvore, cerca de cinco meses depois da floração. É composto por casca, polpa e semente (ou amêndoas). Cada fruto possui de 20 a 50 sementes e pesam em média de 300g a 600g (BASTOS, 2003).

Sua colheita é feita durante todo o ano, e em regiões muito úmidas a cada 15 dias. A maturação de um fruto passa de verde, para amarelo, estando maduro quando na coloração laranja avermelhado. Pode-se perceber a maturação do mesmo através do som, uma espécie de barulho de “chocalho” ao balançar o fruto. No processo, a colheita é feita manualmente, geralmente por

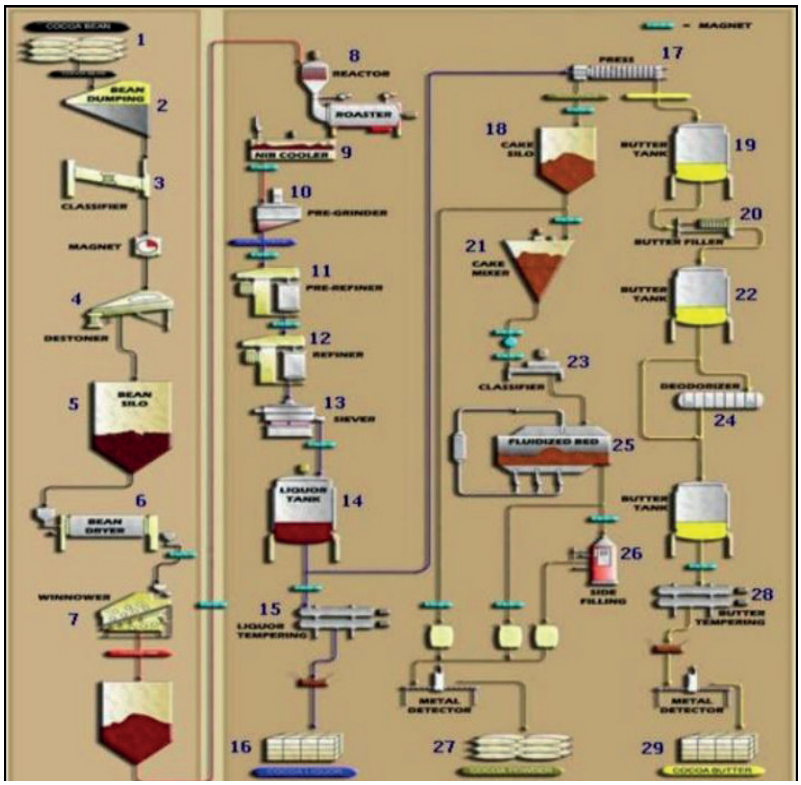
mulheres, deve ser delicada. Após a colheita, o fruto é aberto (debulhado) para retirar as sementes e a polpa. A fermentação é o primeiro processo pós-colheita o qual o fruto é submetido, sua função é reduzir o gosto amargo, desenvolvendo os percussores de aroma (JACARELLI, 2016).

A secagem é a última fase, onde as enzimas que estão presentes pós-fermentação atuam no interior da semente a fim de promover reações de cura, onde se estabiliza o sabor e também a cor característica do chocolate (marrom), devido ao processo, a acidez também é reduzida. A temperatura de secagem deve ser entre 35°C e 45°C, influencia diretamente na qualidade das sementes. Em caso de variação inferior ou superior a temperatura ideal, as enzimas podem ser destruídas, causando a perda de qualidade. Este processo, dura cerca de cinco dias, reduzindo a uma umidade final média de 7% (OETTERER; REGITANO-D'ARCE; SPOTO, 2006).

As sementes quando secas, são encaminhadas para torrefação, onde são descascadas e quebradas e após este processo, submetidas ao forno. O tempo e temperatura da torra das sementes é outro fator que influencia diretamente na qualidade da produção do chocolate. Após a torrefação e moagem, as sementes produzem o "liquor", também conhecido como massa de cacau, possui consistência cremosa e cor escura, é a matéria prima para a fabricação de chocolate (COSTA, 2008).

Segundo registros, o cultivo no Brasil começou no ano de 1679, atualmente é o 5º maior produtor de chocolate do mundo (COSTA, 2008).

Figura 1. Fluxograma do processamento da produção do cacau



Fonte: <http://abgtecalim.yolasite.com/resources/Processamento%20de%20Cac au%20e%20Chocolate.pdf>. Acesso em 12 de dezembro de 2019.

1- Amêndoa de cacau	8- Torrador	15- Temperagem do liquor	22- Tanque depósito
2- Descarregamento	9- Resfriamento	16- Torta de cacau final	23- Classificador
3- Classificador	10- Pré Moagem (grossa)	17- Prensa	24- Desodorização da manteiga de cacau
4- Moagem	11- Moagem fina	18- Torta de cacau	25- Secador de leito fluidizado
5- Tanque depósito	12- Refinação	19- Manteiga de cacau	26- Temperagem
6- Secador	13- Peneiramento	20- Filtro	27- Cacau em pó final
7- Peneiramento	14- Liquor de cacau (massa líquida)	21- Misturador	28- Tratamento da manteiga
29- Manteiga de cacau final.	_____	_____	_____

Fonte: <http://abgtecalim. yolasite.com/resources/Processamento%20de%20Cacau%20e%20Chocolat e.pdf>. Acesso em 12 de dezembro de 2019.

TIPOS DE CACAU

Existem basicamente três variedades de cacau aptas para consumo e produção de seus subprodutos tais como: Crioullo, Forasteiro e Trintário. O Crioulo possui tons vermelhos violáceos na maturação, seu cultivo é feito no México (país de origem), Venezuela, Madagascar, entre outros países. A produção mundial do fruto é em média de 5% a 10% devido à facilidade de enfermidades. É a espécie mais rara e mais apreciada, a produção com seu fruto fornecem ao chocolate sabores aromas delicados, tais como florais, frutais e notas de nozes além de baixo amargor e acidez. Já o Forasteiro, é mais fácil de ser produzido, considera-se a variedade mais comum, porém, menos apreciada, esse tipo de cacau, confere ao chocolate sabores mais amargos e terrosos divido ao tanino, pouco perfumado, porém possui grande rendimento, a colheita é precoce e sua árvore resistente a enfermidades. Possui coloração amarela em sua maturação. Seu cultivo é feito na Alta Amazônia, local de origem, além da América Central e alguns países da América do Sul. Conhecido também como cacau de massa, pois geralmente é o que dá corpo ao produto final devido ao melhor custo benefício de produção do mercado. O Trintário é uma mescla entre o crioullo e forasteiro, é originário da Ilha de Trindad, na Espanha, porém seu cultivo é feito nas Zonas Tropicais da Ásia, África e América do Sul, o custo de produção é acessível, porém o mesmo não se adapta facilmente a mudança climática, logo sendo menor produzido em relação ao crioullo (JACARELLI, 2016).

O CHOCOLATE

Na fabricação, são utilizados ingredientes obrigatórios como: massa de cacau, manteiga de cacau e açúcar, podendo ou não conter leite. Para que o produto final seja formado, há cinco etapas deste processo, tais como: malaxação, refino, conchamento, temperagem e modelagem.

No processo de malaxação é onde ocorrem as misturas dos ingredientes a fim de homogeneizar formando a massa de cacau. Após este processo, o chocolate passa pelos cilindros de refinação com o objetivo de triturar as partículas de açúcar para deixar a massa mais lisa e uniforme. No conchamento, a massa anterior recebe outra parte de manteiga de cacau, são agitadas constantemente para reduzir a acidez e resultar em maior brilho, sabor e aroma. Após esta etapa, o chocolate passa por mais dois processos os quais darão a forma sólida (BRAGANTE, 2010).

A temperagem é o processo mais importante para a estabilização, brilho e textura do chocolate. É quando o mesmo é aquecido a uma determinada temperatura de acordo com a porcentagem de cacau, resfriado sem choques bruscos de temperatura e elevada a uma temperatura padrão ideal para manter a estabilidade. Para finalizar a operação, é necessária a modelagem, onde o chocolate ganhará a forma desejada, são agitados na forma para perderem as possíveis bolhas de ar, e resfriados em temperaturas não muito baixas, assim que são solidificados desprendem da forma. Em seguida, são embalados e se tornam aptos ao consumo (COSTA, 2008).

FENÔMENOS

Ocorrem alguns fenômenos que desestabilizam a estrutura do chocolate, desestruturando-a negativamente, tais como: *Fat bloom* e *Sugar bloom*. O *Fat Bloom* é o florescimento de gordura, significa a formação de uma superfície esbranquiçada no chocolate. Isto ocorre quando o mesmo é submetido a temperaturas inadequadas, este problema pode ser resolvido a partir de uma temperagem correta. Já o *Sugar bloom* é o florescimento de açúcar, há a formação de cristais de açúcar no chocolate, deixando arenoso, este processo ocorre pela exposição do chocolate à agua ou umidade, deixa os cristais de açúcar maiores e causam este efeito. Não pode ser corrigido através de algum processo (HERMÉ, 2006).

TIPOS DE CHOCOLATE

Os chocolates são classificados de acordo com a porcentagem de cacau presente nele. Os que possuem entre 33 e 35% são classificados como ao leite, onde o leite e demais ingredientes predominam a composição do chocolate em relação a massa de cacau. Os que

possuem entre 50 e 58% são classificados como meio amargo, onde o teor de leite e demais aditivos é a metade ou um pouco menos que a metade em relação à massa de cacau. Os amargos possuem entre 70 e 100% de massa de cacau, com baixa ou nenhuma porcentagem de leite e açúcar. Já o chocolate branco não é considerado tipicamente um chocolate por não possuir a massa de cacau, resultando em uma coloração esbranquiçada. É um chocolate mais comum de consumo no Brasil devido à cultura brasileira e um paladar mais doce (HERMÉ, 2006). Além dos tipos conhecidos de chocolate, em 2017 foi descoberto um novo sabor, o chocolate Ruby, a empresa Berry Callebaut começou a produzir esse chocolate em função de frutos provenientes do Brasil, Equador e Costa do Marfim, através de uma torra específica feito diretamente na indústria e sem fermentação, alcança a coloração rosada natural, sem a necessidade de aditivos químicos e corantes artificiais, o mesmo possui 47,3% de cacau em sua composição, além da coloração rosa, o chocolate também se assemelha com a textura do chocolate branco e o sabor tem notas levemente ácidas e frutadas (NOCE, 2019).

Os chocolates encontrados no mercado denominados como cobertura ou hidrogenados, não são considerados chocolate nobre, aquele que foi produzido de maneira original, respeitando os ingredientes: massa de cacau, manteiga de cacau podendo conter açúcar, leite ou não, devido à adição de outras gorduras além da manteiga de cacau. Ao chegar ao Brasil, o chocolate precisou se adequar ao clima, pois os que vinham importados da Europa eram sensíveis ao calor e não havia domínio de técnicas dos Confeiteiros brasileiros para o uso do chocolate de forma artesanal. Com os avanços tecnológicos e conhecimento químico começou a se produzir os primeiros chocolates para os confeiteiros que substituíam a manteiga de cacau por com gordura hidrogenada (vegetal), trazendo assim, facilidade no processo de manipulação e melhor custo benefício. Mais adiante o sabor do chocolate hidrogenado que era acrescido de parafina, passou a ocupar média de 50% da barra de chocolate, fazendo com que o mesmo possuísse parte de gordura vegetal e parte de manteiga de cacau, denominado de chocolate fracionado. Além do chocolate em barra atualmente conhecido, o primeiro processamento com o chocolate que era transformar o cacau em pó, hoje, quando acrescido de açúcar é denominado chocolate em pó e o achocolatado é o chocolate em pó acrescido de leite (HERMÉ, 2006).

De acordo com os padrões de identidade e qualidade de chocolate no Brasil definidos pela Resolução RDC 264, de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Essa norma estabelece que:

> 2.1- Chocolate: é o produto obtido a partir da mistura de derivados de cacau (Theobroma cacao L.), massa (ou pasta ou liquor) de cacau, cacau em pó e ou manteiga de cacau, com outros ingredientes, contendo, no mínimo, 25% (g/100g) de sólidos totais de cacau. O produto pode apresentar recheio, cobertura, formato e consistência variados (ANVISA, 2005).

Ou seja, é permitida a presença de demais gorduras para a estabilização do mesmo. Porém, pela composição do chocolate para ser denominado nobre, não há a adição de demais componentes além do açúcar, manteiga de cacau, massa de cacau e leite. Com a grande produção industrial do produto, mais adiante fez-se necessário a adição de lecitina de soja, principalmente devido à exportação do produto, onde há a necessidade de maior durabilidade, a lecitina é um emulsificante que ajuda na estabilidade do produto prevenindo fenômenos que resultariam na má qualidade do chocolate (JACARELLI, 2016).

Segundo Costa (2008), os chocolates acrescidos de sabores, surgiram através da mistura de avelã com Cacau pós Segunda Guerra mundial em um processo chamado gianduia na Itália em função da falta de alimentos, Pietro Ferrero, moeu avelã com a massa de chocolate até então líquida dando origem ao que se conhece hoje como Nutella. Desde então, os diferentes tipos e formatos não pararam de evoluir ainda que para isso o processo tenha sido longo, atualmente as possibilidades com o chocolate atrelado as novas tecnologias não param de crescer.

EFEITOS DO CHOCOLATE NO ORGANISMO

A ideia de que os alimentos possuíam efeitos medicinais, provém da cultura chinesa (XU, 2001). Devido a sua popularidade, estudos têm procurado informações sobre seus efeitos no organismo a fim de identificar os benefícios do cacau e do consumo dos diferentes tipos de chocolate. Substâncias como flavonoides que estão presentes nas sementes, devido a grande quantidade, são vasodilatadores naturais e polifenóis já foram atribuídas às funções no organismo as quais ajuda a combater deficiências cardiovasculares. Além disso, sua composição possui um aminoácido que ativa a serotonina ao ingeri-lo, hormônio responsável pela sensação de prazer (REIS, 2011).

O chocolate é uma fonte de carboidratos e lipídeos devido aos ingredientes adicionados ao cacau. A gordura do chocolate é resultante da manteiga de cacau. É importante ressaltar que os benefícios relacionados ao chocolate, estão diretamente ligados ao cacau como ingrediente fundamental para a obtenção do subproduto chocolate e não diretamente aos nutrientes e demais substâncias que o compõem. O chocolate é conhecido por ser altamente energético, porém seu consumo se torna limitado para pessoas que possuem algumas restrições. Este conceito tem sido modificado devido aos compostos do chocolate e possíveis benefícios à saúde (REIS, 2011).

A Teobromina é um alcaloide do grupo das metilxantinas que são pseudoalcaloides que possuem alto poder estimulante ao sistema nervoso central (DICIONÁRIO ONLINE, 2017).

Além da teobromina, o cacau possui substâncias como: polifenóis e flavonoides que são ricos em antioxidantes. De maneira geral, os antioxidantes são benéficos para o sistema

cardiovascular, dentre eles, a redução da oxidação do colesterol LDL e diminuição do risco de formação de placas de gordura nos vasos sanguíneos. Os flavonoides aumentam a capacidade antioxidante do plasma e reduz a reatividade plaquetária reduzindo o risco de trombose, vasoconstrição e acúmulo do colesterol LDL. O Tripofano é um aminoácido contido no cacau responsável pela ativação do hormônio serotonina que ativa a sensação de prazer, além dele, componentes como anandamida e feniletilamina também causam a sensação de bem estar. Segundo um estudo intitulado *Thehart,* foi observado que as pessoas que não se restringiam do consumo do chocolate, viviam pelo menos um ano a mais que as não consumiam o produto (BATISTA, 2008).

CONCLUSÃO

O chocolate é um dos principais produtos comercializados mundialmente. Até o século XVII ele era uma iguaria por ser um produto raro, caro, desconhecido e produzido exclusivamente de forma artesanal. A partir de então ocorreram mudanças no processamento do chocolate em função dos avanços tecnológicos, para que este pudesse ser mais acessível. Apesar das técnicas em seu processamento terem sido refinadas e melhoradas, a colheita ainda é feita manualmente para preservação dos frutos, principalmente porque o mesmo, não amadurece por igual, além disso, após a descoberta da Conchagem, o maquinário desenvolvido, aumentou as possibilidades de expansão na produção do chocolate, sendo um produto conhecido mundialmente. Atualmente a valorização do produto não se dá por bebidas a base do mesmo como em quando foi descoberto o fruto e desenvolvendo suas primeiras utilizações e sim pelo chocolate em barra em diversas preparações. Com os avanços no processamento, também foi possível inserir diversos sabores que antes eram desconhecidos. Apesar das previsões que devido às mudanças climáticas a produção de cacau diminua nos próximos vinte anos, em contra partida, novas tecnologias vêm sendo desenvolvidas para que a produção não se perca principalmente no Brasil, que apesar de não ser grande consumidor de chocolate, têm melhorado a produção do fruto e conquistado prêmios internacionais com qualidade de chocolates orgânicos e artesanais.

REFERÊNCIAS

1. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. *Resolução RDC 264, de 22 de setembro de 2005*. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/informacoes-tecnicas13. Acesso em: 11 nov. 2019.

2. BASTOS, C. P. *Processamento de Chocolate.* 2003. 17 f. Trabalho monográfico (Bacharelado em Química de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2003.

3. BATISTA, Ana Paula Sabbag Amaral. *Chocolate: sua história e principais características*. 2008. 48 f. Trabalho monográfico (Especialista em Gastronomia e Saúde) – Universidade de Brasília-UnB. Brasília, 2008. Disponível em: <http://bdm.unb.br/bitstream/10483/338/1/2008_AnaPaulaSabbagAmaralBatista.pdf>. Acesso em: 14 nov. 2019.

4. BECKETT, S. T. *Fabricación y Utilización Industrial Del Chocolate.* Zaragoza: Editorial Acribia S.A., 1994. 432 p.

5. BRAGANTE, Aderbal G. *Processamento de cacau e fabricação de chocolate.* 2010. Disponível em: <http://abgtecalim.yolasite.com/resources/Processamento%20de%20Cacau%20e%20Chocolate.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2019.

6. COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA (CEPLAC). *Cacau: história e evolução*. Disponível em: <http://www.ceplac.gov.br/radar/radar_cacau.htm>. Acesso em: 12 dez. 2019.

7. COSTA, Alexandre Tadeu. *O cacau é show.* São Paulo: Ed. do autor, 2008.

8. DICIONÁRIO Online de Português – DICIO. 2017. *Teobromina*. Disponível em: <https://www.dicio.com.br/teobromina/>. Acesso em: 08 nov. 2019.

9. FRANCO, Ariovaldo. *De Caçador a Gourmet: Uma história da Gastronomia*. 5 ed. São Paulo: Editora SENAC, 2010.

10. HERMÉ, Pierre. *Larrouse do Chocolate.* 1. ed. São Paulo: Ed. Larousse do Brasil, 2006. 255 p.

11. JACARELLI, Brenda. *Gastronomia e alta cozinha.* v. I. Rosário, Argentina: Editora GABA, 2016.

12. MÜLLER, M. W.; VALLE, R. R. Ecofisiologia do cultivo do cacaueiro. In: VALLE, R. R. *Ciência, tecnologia e manejo do cacaueiro***.** 2. ed. Brasília: CEPLAC/CEPEC/SEFIS, 2012. cap. 2. p. 31-66.

13. NOCE, Danielle. *Chocolate ruby o que é?* 2019. Disponível em <https://www.daninoce.com.br/gastronomia/segredos-sobre-chocolate/chocolate-ruby/>. Acesso em: 19 dez. 2019.

14. OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M.H.F. *Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos.* Barueri, SP: Manole, 2006. 632 p.

15. REIS, Thaiene Avila. *Chocolate: um tema para trabalhar Química no Ensino Médio*. Trabalho de Conclusão de Curso. 2011. 35 f. trabalho monográfico (Licenciatura em Química) – Instituto de Química da Universidade de Brasília, Brasília-DF. Disponível em: <http://bdm.unb.br/bitstream/10483/2209/3/2011_ThaieneAvilaReis.pdf>. Acesso em: 17 dez. 2019.

16. XU, Yue. Perspectives on the 21st century development of functional foods: bridging Chinese medicated diet and functional foods. *International Journal of Food Science and Technology*, 2001, 36, 229-242. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/alimentus/disciplinas/tecnologia-de-alimentos-especiais/alimentos-funcionais/Xu_funcionais_chineses.pdf>. Acesso em: 18 dez. 2019.

08

Características sensoriais de iogurte de leite de ovelha concentrado por ultrafiltração

- Carla Prado **Rosolém**
  Unopar
- Lorena Pereira da **Silva**
  Unopar
- Vanessa Oliveira da **Silva**
  Unopar
- Patrícia Saviani **Trentin**
  Unopar
- Joice Sifuentes dos **Santos**
  Unopar

doi 10.37885/201001900

RESUMO

Iogurte concentrado é um produto lácteo fermentado contendo maiores teores de sólidos totais e proteína. Com o crescimento do setor da ovinocultura leiteira no Brasil, o desenvolvimento de novos produtos lácteos de ovinos se apresenta como um nicho de mercado. O objetivo deste trabalho foi avaliar as características sensoriais como perfil, aceitação e intenção de compra de duas formulações de iogurtes concentrados de leite de ovelha (integral e desnatada). Os iogurtes foram elaborados utilizando leite concentrado por meio da ultrafiltração, 0,1% (p/v) de cultura para iogurte e 4% (p/v) de açúcar refinado. A formulação integral foi padronizada a 6% (p/v) de gordura. A fermentação foi feita à 42°C/4 h e mantidos à 7°C. O perfil sensorial dos iogurtes foi determinado pela metodologia CATA (*Check-all-that-apply*) contendo atributos descritivos para aparência, aroma, sabor e textura. Os provadores também responderam sobre a aceitação dos produtos e teste de intenção de compra. Um painel de 80 provadores não treinados, idade entre 18 e 60 anos foi utilizado para determinação das características sensoriais. Os dados obtidos foram comparados pelo teste t de *Student* e os dados do CATA foram avaliados de acordo com a reprodutibilidade dos atributos discriminativos. Houve diferença significativa nos parâmetros de aparência e textura, e intenção de compra entre os iogurtes integral e desnatado. As duas formulações apresentaram boa aceitação nos parâmetros avaliados, com índice de aceitação acima de 70%. O perfil sensorial da formulação integral mostrou que o ingrediente gordura foi notado pelos provadores, mas sem interferir a aceitação do produto.

Palavras-chave: Processos de Membrana, Sensorial, CATA, Sólidos Totais.

INTRODUÇÃO

Produtos lácteos com maior densidade nutricional destacam-se como tendência de mercado para a indústria de lacticínios, que tem desenvolvido cada vez mais produtos ricos em proteínas, cálcio e vitaminas (ITAL, 2017). Iogurte concentrado é um derivado lácteo fermentado que difere do iogurte tradicional por conter maiores teores de sólidos totais e proteínas (TAMINE; ROBISON, 1985). Dependendo da sua origem, o iogurte concentrado pode ser denominado como *Labneh*, *Skyr*, *Shrikhand* ou *Chakka*, *Besa*, *Than* ou *Tan*, *Ymer* e *Greek-style,* podendo ser elaborado com leite de vaca, ovelha ou cabra (ARYANA; OLSON, 2017; CHANDAN, 2017; UDUWERELLA; CHANDRAPALA; VASILJEVIC, 2017; TAMIME; ROBINSON, 1999; TAMIME; HICKEY; MUIR, 2014).

Os métodos de concentração foram desenvolvidos com a intenção de prolongar o tempo que o iogurte permanece exposto à temperatura ambiente. Um dos primeiros métodos de concentração relatados foi a evaporação e a absorção do soro em pele animal, resultando em um produto concentrado, firme e acidificado (TAMIME, 2006). Atualmente, o leite pode ser concentrado através dos métodos de dessoragem, centrifugação, reconstituição ou recombinação por adição de sólidos em pó, e por meio da utilização dos processos de membrana, que concentram o leite através da remoção de parte da água (FARKYE, 2017; TAMIME, 2006; WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 2006). Os dois processos de membranas mais utilizados na concentração do leite fluído visando aumento do teor de sólidos são a microfiltração (MF) e a ultrafiltração (UF). A diferença entre as duas classificações se dá no tamanho dos poros e no tipo de partículas retidas. Na UF, a membrana possui poros de 0,003 a 0,3 μm de diâmetro, sendo possível a retenção de macromoléculas como proteínas (WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 2006).

Apesar de pouco consumido no Brasil, o leite de ovelha tem atraído consumidores devido ao seu alto valor nutricional, características sensoriais, menor alergenicidade e melhor digestibilidade relacionadas com sua composição proteica e lipídica (KALYANKAR et al., 2016; AH-LEUNG et al., 2006; MASOODI; SHAFI, 2010). O leite de ovelha, em comparação com leite bovino e caprino, apresenta elevado teor proteico (6,2%) e lipídico (7,9%), além de ser rico em cálcio, ferro, fósforo, magnésio e zinco. Também atua como fonte de vitamina B6, vitamina B12, vitamina C, vitamina D, vitamina E, e de aminoácidos essenciais (PARK et al., 2007; TAMIME et al., 2011). Além dos fatores nutricionais, a quantidade dos componentes sólidos no leite de ovelha propicia à formação do gel no iogurte, sobretudo favorecendo um ótimo rendimento para obtenção de produtos lácteos (MILANI; WENDORFF, 2011).

OBJETIVO

Avaliar as características sensoriais como perfil, aceitação e intenção de compra de duas novas formulações (integral e desnatada) de iogurtes de leite de ovelha concentrados por

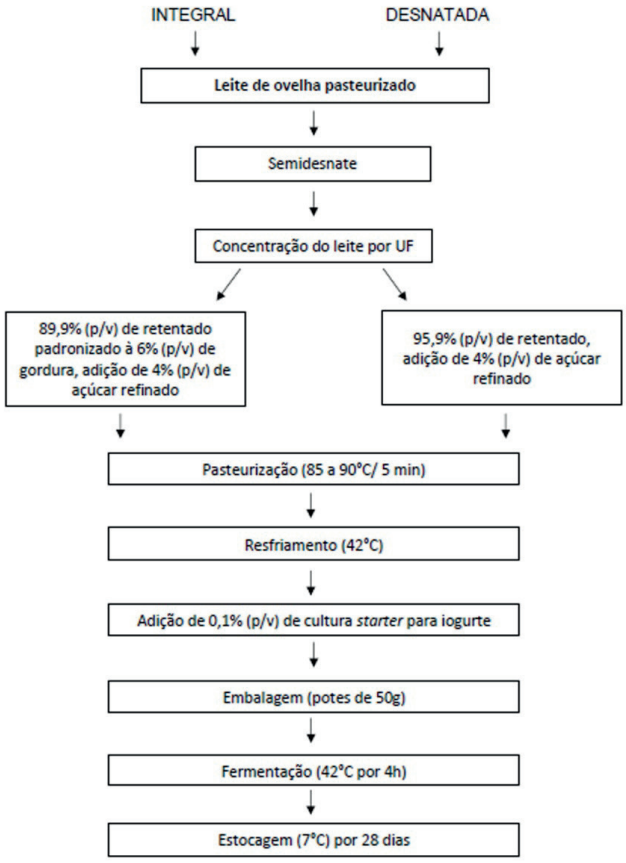
ultrafiltração. Avaliar a percepção dos provadores em relação à presença de gordura na formulação integral, havendo ou não diferença nos parâmetros de textura, sabor, aroma e aparência.

METÓDOS

Elaboração dos Iogurtes

Os iogurtes foram elaborados através de leite concentrado por meio da ultrafiltração tangencial utilizando membrana com diâmetro do poro igual a 0,02 µm e área filtrante de 0,24 m^2. Para o processo de ultrafiltração foi utilizado leite de ovelha pasteurizado desnatado (0,3% de gordura), aquecido à 45ºC, a uma pressão de entrada de 3,5 bar e submetido ao processo de concentração utilizando unidade de filtração piloto (Modulo Pall/ MS1E001PIL 20 UZ/20NMZ). Os iogurtes foram preparados a partir do leite concentrado, 0,1% (p/v) de cultura *starter* para iogurte (*Thermophilic yogurt culture* – YoFlex ® Mild 1.0, Chr. Hansen) e 4% (p/v) de açúcar refinado. A formulação integral foi padronizada a 6% (p/v) de gordura, através da adição de creme de leite de ovelha com teor de gordura equivalente à 43,50% (p/v). A fermentação dos iogurtes foi feita à 42°C ± 3°C durante o período de 4 horas e mantidos sob refrigeração (7°C ± 2) (TAMINE, 2006). A elaboração das duas formulações de iogurte concentrado está resumida no fluxograma apresentado na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma geral de produção dos iogurtes concentrados.



Perfil Sensorial

A análise do perfil sensorial foi conduzida em laboratório específico contando com um painel de 80 julgadores não treinados, de ambos os sexos, adultos com idade entre 18 e 60 anos, convidados de forma voluntária. Os iogurtes integral e desnatado foram avaliados após 5 dias de armazenamento refrigerado (7ºC), quando os resultados de inocuidade microbiológica foram concluídos e estiveram de acordo com a legislação vigente. Os julgadores receberam amostras dos dois tipos de iogurte concentrado (integral e desnatado) numa porção de 30g, servidas em recipientes plásticos descartáveis de 50 mL, a 7ºC – 10ºC, codificados com números de três dígitos aleatórios. As amostras foram apresentadas simultaneamente com ordenação balanceada acompanhados de colher descartável, bolacha água e sal e água mineral à temperatura ambiente para limpeza do palato entre uma amostra e outra. Foi realizado um teste afetivo para avaliação da aceitabilidade do produto, onde os provadores utilizaram escala hedônica em que 1: desgostei muitíssimo e 9: gostei muitíssimo (STONE; SIDEL, 1993). Os atributos avaliados foram: aparência, textura, sabor, aroma e impressão global. Os iogurtes também foram avaliados quanto à intenção de compra de acordo com metodologia descrita por Lawless e Heymann (2010), onde os provadores utilizaram uma escala de atitude estruturada em que 1: certamente não compraria o produto e 5: certamente compraria o produto. Os julgadores também responderam a um questionário em relação ao consumo de iogurte, leite de ovelha e derivados. O índice de aceitabilidade dos produtos foi calculado conforme a equação:

$$IA\ (\%) = \frac{A\ x\ 100}{B}$$

Onde:

A= nota média obtida para o produto;

B= nota máxima dada ao produto.

O índice de aceitabilidade com boa repercussão deve ser ≥ 70% (MONTEIRO, 1984).

Além dos testes afetivos, foi aplicado um questionário de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), o CATA (*Check-all-that-apply*). Uma lista contendo termos descritos dos dois iogurtes foi entregue aos 80 julgadores participantes da análise sensorial (TARREGA et al., 2017).

Análise Estatística

Os escores obtidos dos testes afetivos foram comparados pelo teste t de *Student* no software estatístico *Statistica* versão 13.1 ao nível de 5% de significância ($p<0,05$). Os dados do CATA foram avaliados de acordo com a reprodutibilidade dos atributos discriminativos.

RESULTADOS

Os resultados da aceitação sensorial e intenção de compra dos produtos estão apresentados na Tabela 1. As médias para os quesitos de aparência e textura apresentaram diferença significativa ($p<0,05$) entre as formulações integral e desnatada. As maiores notas foram atribuídas à formulação desnatada, com médias de 7,85 e 7,56 para aparência e textura, respectivamente, enquanto a formulação integral apresentou médias equivalentes à 7,09 para aparência e 7,03 para textura.

Tabela 1. Aceitação sensorial dos iogurtes concentrados integral e desnatado de leite de ovelha em uma população de 80 provadores.

	Iogurte Integral	Iogurte Desnatado
Aparência	7,09[b]	7,85[a]
Textura	7,03[b]	7,56[a]
Sabor	6,21[a]	6,59[a]
Aroma	6,38[a]	6,60[a]
Impressão Global	6,51[a]	7,00[a]
Intenção de Compra	3,22[b]	3,53[a]

[a,b]: Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste t de *Student* entre as formulações de iogurte ($p<0,05$).

Escala hedônica para aceitação sensorial onde: 1 – Desgostei muitíssimo; 9 – Gostei muitíssimo. Intenção de compra onde: 1 – Certamente não compraria; 5 – Certamente compraria.

As médias das notas apresentadas para intenção de compra dos produtos também apresentaram diferença significativa ($p<0,05$). A formulação desnatada obteve maior média em relação à integral, apesar das duas notas indicarem que os provadores talvez comprassem/talvez não comprassem os iogurtes, permanecendo no intervalo de nota 3 em escala de 1 a 5.

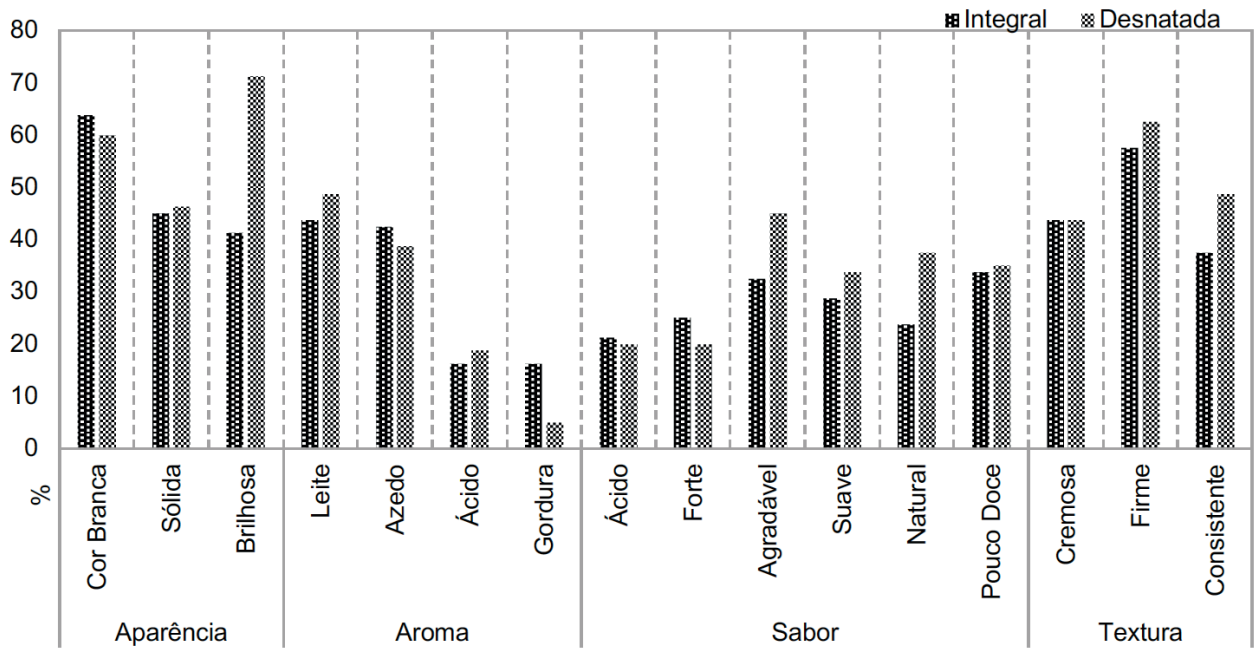
O Índice de aceitabilidade para os quesitos de aparência, textura, aroma e impressão global foram superiores a 70% em ambas formulações. O quesito sabor no iogurte integral foi igual a 69% e não atingiu a porcentagem mínima de aceitabilidade. De maneira geral, os produtos obtiveram boa repercussão.

A frequência de respostas do questionário de consumo indicou que 85% dos provadores nunca consumiram leite de ovelha. O consumo de iogurte ou outros derivados de leite de

ovelha representou somente 16,25%, enquanto 82,5% responderam que nunca provaram produtos contendo esse tipo de leite e 1,25% não responderam. Em relação ao consumo de iogurte, 56,25% responderam que sabem o que é iogurte concentrado e 37,5% já consumiu. Desse percentual, 53,3% citaram como exemplo o iogurte Grego, 6,6% o iogurte tipo *Skyr*, 3,3% iogurte de marca denominada *Natural Whey®*. O restante dos provadores não respondeu com exemplos.

Os termos descritivos mais assinalados no CATA estão apresentados na Figura 2. De modo geral, os atributos mais mencionados foram cor branca, sólida e brilhosa para aparência; leite, azedo, ácido e gordura para o aroma; ácido, forte, agradável, suave, natural e pouco doce para sabor; e cremosa, firme e consistente para textura. Os principais termos descritivos que poderiam diferenciar as duas formulações estão relacionados à presença de gordura no iogurte integral.

Figura 2. Atributos sensoriais descritivos de maior ocorrência (%) no questionário CATA (*Check-all-that-apply*) para iogurtes concentrados integral e desnatado de leite de ovelha.



DISCUSSÃO

As maiores notas atribuídas ao iogurte desnatado para os parâmetros de aparência e textura no teste afetivo sugere que os provadores tenham preferência por essa formulação. Todavia, o quesito sabor é o atributo sensorial de maior importância na escolha de um iogurte pelo consumidor e este não apresentou diferença. No leite de ovelha, a gordura é considerada um dos componentes mais importantes, por estar relacionada a fatores nutricionais e características sensoriais, influenciando no resultado final do produto. Em média, o leite de ovelha contém 7,9% de gordura, mas essa quantidade pode variar de acordo com

a raça, alimentação e período de lactação dos animais (PARK et al., 2007). Essa percepção sensorial pode estar relacionada ao perfil dos provadores, já que 56,25% responderam que sabem o que é iogurte concentrado, mas só 37,5% já consumiu. Este baixo consumo pode justificar a preferência pela formulação desnatada que, no aspecto sensorial, se assemelhou ao iogurte tradicional. A padronização em 6% de gordura no iogurte integral também pode ter interferido na escolha, uma vez que um percentual mais baixo poderia ter disfarçado a presença da gordura e essa diferença entre as formulações.

No CATA, os principais termos descritivos que poderiam diferenciar as duas formulações estão relacionados à presença de gordura no iogurte integral. Termos como presença de gordura nos lábios, sabor gorduroso e presença visual de gordura foram reportados por 13,75%, 16,25% e 22,50% dos provadores, respectivamente. Isso denota que a presença de gordura, principalmente no aspecto visual, foi percebida por parte dos provadores, podendo atuar como fator limitante para a aceitabilidade do produto no mercado.

CONCLUSÃO

Este trabalho avaliou as características sensoriais como perfil, aceitação e intenção de compra de duas novas formulações de iogurte produzidos com leite de ovelha concentrado. Na avaliação do perfil sensorial, as formulações diferiram nos quesitos de aparência e textura, tendo maiores notas atribuídas à formulação desnatada. Além disso, a avaliação da formulação integral mostrou que o ingrediente gordura foi notado pelos provadores, mas sem interferir a aceitação do produto e sua repercussão para venda. Os iogurtes concentrados podem ser uma alternativa interessante ao mercado, agregando valor e contribuindo para desenvolvimento do setor de ovinocultura.

REFERÊNCIAS

1. AH-LEUNG, S.; BERNARD, H.; BIDAT, E.; PATY, E.; RANCE, F.; SCHEINMANN, P.; WAL, J.M. Allergy to goat and sheep milk without allergy to cow's milk. Allergy, v. 61, n. 11, p.1358–1365. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2006.01193.x.

2. ARYANA, K. J.; OLSON, D. W. A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. Journal of Dairy Science, v. 100, p. 9987-10013, 2017. DOI: https://doi.org/10.3168/jds.2017-12981.

3. CHANDAN, R. C. An Overview of Yogurt Production and Composition. In: Yogurt in Health and Disease Prevention, p. 31-47. London: Academic Press, 2017.

4. FARKYE, N. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, v. 4, p. 1103-1110. London: Academic Press, 2017.

5. ITAL. Brasil Dairy Trends 2020 – Tendências do Mercado de Produtos Lácteos. Instituto de Tecnologia de Alimentos, ed. 1, cap. 3, p. 59-69. Campinas, 2017.

6. KALYANKAR, S.D.; SARODE, A.R.; KHEDKAR, C.D.; DEOSARKAR, S.S.; PAWSHE, R.D. Encyclopedia of Food and Health – Chapter Sheep: Milk, p.758-763. London: Elsevier, 2016.

7. LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. Sensory Evaluation of food – Principles and Practices, 2 ed., p. 162-164. New York: Springer, 2010.

8. MASOODI, T. A.; SHAFI, G. Analysis of casein alpha S1 & S2 proteins from different mammalian species. Bioinformation, v. 4, n. 9, p. 430–435, 2010. DOI: 10.6026/97320630004430.

9. MILANI, F. X.; WENDORFF, W.C. Goat and Sheep milk products in the United States (USA). Small Ruminant Research, v. 101, p.134-139, 2011. DOI: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.033.

10. MONTEIRO, C. L. B. Técnicas de avaliação sensorial. Curitiba: CEPPA-UFPR, ed. 2, p.101, 1984.

11. PARK, Y. W.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN, G. F. W. Physical-chemical characteristics of goat and sheep milk. Small Ruminant Research, v. 68, p. 88-113, 2007. DOI: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.013.

12. STONE, H.; SIDEL, J. L. Sensory Evaluation Practices, p. 310. London: Academic Press, 1993.

13. TAMIME, A. Y. Fermented Milk. Society of Dairy Technology, v. 1, p. 2-4; 128-150. Oxford, England: Blackwell Publishing, 2006.

14. TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. Yoghurt: Science and Technology, v. 1, p. 243-245. Oxford, England: Pergamon Press, 1985.

15. TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. Yoghurt: Science and Technology, v. 2. Cambridge, England: CRC Press, 1999.

16. TAMIME, A. Y.; WSZOLEK, M.; BOZANIC, R.; OZER, B. Popular ovine and caprine fermented milks. Small Ruminant Research, v. 101, p. 2-16, 2011. DOI: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.021.

17. TAMIME, A. Y.; HICKEY, M.; MUIR, D. D. Strained fermented milks – A review of existing legislative provisions, survey of nutritional labelling of commercial products in selected markets and terminology of products in some selected countries. International Journal of Dairy Technology, v. 67, n. 3, p. 305-333, 2014. DOI: https://doi.org/10.1111/1471-0307.12147.

18. TARREGA, A.; QUILES, A.; MOREL, P.; FISZMAN, S.; HERNANDO, I. Importance of consumer perceptions in fiber-enriched food products. A case study with sponge cakes. Food & Function, v. 8, n. 2, p. 574-583, 2017. DOI: https://doi.org/10.1039/C6FO01022A.

19. UDUWERELLA, G.; CHANDRAPALA, J.; VASILJEVIC, T. Minimising generation of acid whey during Greek yoghurt manufacturing. Journal of Dairy Research, v. 84, p. 346-354, 2017. DOI: https://doi.org/10.1017/S0022029917000279.

20. WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. Dairy Science and Technology, v.2, p. 341-345. Florida, United States of America: CRC Press, 2006.

09

Contaminantes formados durante o processamento de alimentos

- Andressa Cunha **Lemos**
  FURG
- Verônica Simões de **Borba**
  FURG
- Priscila Tessmer **Scaglioni**
  UFPel
- Eliana Badiale **Furlong**
  FURG

doi 10.37885/201102166

RESUMO

O processamento de alimentos propicia a formação de substâncias que conferem características sensoriais e nutricionais desejáveis, porém, também são formadas substâncias indesejáveis e tóxicas. Estas substâncias são denominadas contaminantes formados durante o processamento de alimentos e sua formação pode ser minimizada, mas dificilmente evitada, visto que são diretamente dependentes das condições de processamento utilizadas e da composição da matéria-prima. Portanto, o conteúdo abordado neste capítulo visa descrever como são formados os principais compostos durante o processamento de matérias-primas diversas enfatizando sua formação a partir da composição delas e parâmetros de tratamento, bem como, seus efeitos nocivos/toxicidade e estratégias para mitigar a exposição aos contaminantes. As operações unitárias aplicadas aos alimentos, principalmente aquelas que envolvem o tratamento térmico, favorecem três principais tipos de reações, sendo elas: Caramelização, Reação de Maillard e Oxidação Lipídica. Estas reações são responsáveis pela formação de contaminantes como Acrilamida, Acroleína, Aminas Heterocíclicas, Furano, Hidroximetilfurfural, Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos, N-Nitrosaminas, Peróxidos e Cloropropanos. Tendo em vista que muitas vezes o tratamento térmico é essencial para tornar o alimento palatável, consumível e seguro microbiologicamente, é um desafio controlar os parâmetros de processo para que o alimento não perca suas características sensoriais e nutricionais em paralelo à mitigação da formação desses contaminantes. Logo, o conteúdo abordado neste capítulo pode servir como subsídio para pesquisas que visam mitigar a formação destes contaminantes aplicadas nas áreas de engenharia, ciência e tecnologia de alimentos.

Palavras-chave: Contaminantes de Processamento,Tratamento Térmico, Toxicidade, Mitigação, Segurança Alimentar.

INTRODUÇÃO

O processamento de alimentos envolve inúmeras reações químicas, sendo que em alguns casos substâncias tóxicas podem ser formadas ou ter sua toxicidade intensificada. Estas substâncias potencialmente tóxicas podem ter sua formação minimizada, mas dificilmente podem ser evitadas, pois são dependentes das condições utilizadas no processamento (temperatura e pH do meio, por exemplo) somada a composição química inerente a matéria-prima processada (teor de carboidratos, proteínas e lipídeos, por exemplo) (BJELDANES; SHIBAMOTO, 2014). Dentre as principais reações promotoras da formação de compostos tóxicos estão a degradação de lipídeos, hidrogenação, pirólise, acetilação, defumação e as diversas etapas que compõe a reação de Maillard (ARISSETO, 2016; CAPUANO; FOGLIANO, 2011; CREWS; CASTLE, 2007; DAMODARAN; PARKIN, 2019; HABERMEYER; EISENBRAND, 2019; LEE et al., 2019; PATEIRO et al., 2019; STEVENS; MAIER, 2008).

A química de alimentos auxilia no entendimento da formação destes compostos, porém, é difícil prever sua presença, pois os parâmetros envolvidos nas rotinas de preparação de alimentos em nível doméstico são de difícil controle e diferentes substâncias tóxicas podem ser formadas, em níveis variados, provocando ou agravando doenças, conforme as características individuais dos consumidores o impacto delas sobre seus organismos (MARQUES; VALENTE; ROSA, 2009). No entanto, a principal preocupação em relação a formação destes compostos, como acrilamida, acroleína, aminas heterocíclicas, cloropropano e seus ésteres, furano, hidroximetilfurfural, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, n-nitrosaminas, e peróxidos, se deve ao potencial mutagênico, carcinogênico e genotóxico que podem apresentar (FAO/WHO, 2002; IARC, 1978, 1993, 1994, 1995, 2012).

Na literatura, muitos estudos avaliam a presença destes compostos tóxicos, conforme os exemplos mostrados no Quadro 1. Além disso, o processamento dos alimentos podem resultar na formação de mais de um composto tóxico, fato que aumenta a preocupação de intoxicação, tendo em vista o efeito acumulativo da ingestão continuada.

A concentração destas substâncias formadas durante o processamento de alimentos define se o produto final apresenta um risco potencial, fato que norteia as legislações específicas para regulamentar e mitigar a exposição a estes contaminantes. No Brasil há legislação contínua para definir limites e boas práticas para os contaminantes formados durante o processamento de alimentos (BRASIL, 2004, 2005). No entanto, muitas vezes é necessário recorrer a referências oficiais internacionais a fim de minimizar os riscos aos consumidores, pela falta de dados de ocorrência deles no alimento e de parâmetros relacionados com sua formação (COE, 1992; EC, 2005, 2011; EFSA, 2004, 2009, 2010; SCF, 2001).

O conteúdo deste capítulo visa descrever como são formados os principais compostos durante o processamento de matérias-primas diversas enfatizando sua formação a partir da composição delas e parâmetros de tratamento, bem como, seus efeitos nocivos/toxicidade e estratégias para mitigar a exposição aos contaminantes.

Quadro 1. Contaminantes formados durante o processamento de alimentos.

ALIMENTO	CONTAMINANTE	CONCENTRAÇÃO (μg kg^{-1})	REFERÊNCIA
Batata frita ou batata chips	Acrilamida	332 – 580	EFSA (2015)
	Acroleína	16,4 – 19,8	Ewert et al. (2014)
	Cloropropano e seus ésteres	37 – 6100	CFS (2012)
Biscoitos / Donuts / Cookies	Acrilamida	264	EFSA (2015)
	Acroleína	15,3 – 18,0	Ewert et al. (2014)
	Hidroximetilfurfural	500 – 74600	Ameur et al. (2006)
	Produtos da peroxidação lipídica	1436	Papastergiadis et al. (2014)
Cacau	Acrilamida	166,0	Barisic et al. (2020)
	Acroleína	0,25 – 0,45	Żyżelewicz et al. (2017)
Café	Acrilamida	317	EFSA (2015)
	Cloropropano e seus ésteres	Até 390	CFS (2012)
	Furano	5 – 5749	EFSA (2004)
	Hidroximetilfurfural	300000 – 1900000	Murkovic e Pichler (2006)
Carne bovina assada e produtos derivados (defumados, embutidos)	Aminas heterocíclicas aromáticas	Até 5,96	Unal et al. (2018)
	Cloropropano e seus ésteres	Até 6,2	Vicente et al. (2015)
	Furano	1,1 – 1,3	Shen et al. (2016)
	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	15,2	Kafouris et al. (2020)
	n-nitrosaminas	3,68 – 5,10	Yurchenko e Molde (2006)
Carne suína (frita, defumada)	Aminas heterocíclicas aromáticas	0,3 – 200	Pais e Knize (2000)
	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	8,7	Kafouris et al. (2020)
	n-nitrosaminas	11,89	Yurchenko e Molde (2006)
Cereais processados (arroz, milho, trigo)	Acrilamida	113	EFSA (2015)
	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	13,1	Lima et al. (2017)
	Hidroximetilfurfural	35100 – 132200	Delgado-Andrade et al. (2008)
Cerveja	Aminas heterocíclicas aromáticas	Até 600	Cortacero-Ramirez et al. (2007)
	n-nitrosaminas	1,42 – 168	Fan e Lin (2018)
	Furano	1,1 – 12,3	Nie et al. (2013)
Fórmula infantil	Furano	0,03 – 215	EFSA (2004)
	Produtos da peroxidação lipídica	684,3	Cesa (2004)
Frango (defumado, assado, grelhado, frito) e produtos derivados (hamburguer)	Aminas heterocíclicas aromáticas	5,39 – 110,30	Hsu e Chen (2020)
	n-nitrosaminas	16,65	Yurchenko e Molde (2006)
Leite (pasteurizado, UHT, em pó, semidesnatado, integral)	Furano	1,9 – 7,1	Shen et al. (2016)
	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	5,94 – 7,75	Naccari et al. (2011)
	Produtos da peroxidação lipídica	77,0	Papastergiadis et al. (2014)

ALIMENTO	CONTAMINANTE	CONCENTRAÇÃO (μg kg^{-1})	REFERÊNCIA
Óleos vegetais	Acroleína	590 – 1720	Liu et al. (2020)
	Cloropropano e seus ésteres	177,1 – 8711,5	Li et al. (2016)
	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	12,0	Ingenbleek et al. (2019)
	Produtos da peroxidação lipídica	1300 – 6900	Custodio-Mendoza et al. (2019)
Pães e produtos de panificação	Cloropropano e seus ésteres	Até 450	Vicente et al. (2015)
	Hidroximetilfurfural	74000 – 395000	Ortu e Caboni (2017)
Pescado (frito, defumado, em conserva, salgado)	Acroleína	1890 – 3260	Liu et al. (2020)
	Aminas heterocíclicas aromáticas	0,9 – 184	Pais e Knize (2000)
	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	176,0	Ingenbleek et al. (2019)
	n-nitrosaminas	2,53 – 4,52	Yurchenko e Molder (2006)
	Produtos da peroxidação lipídica	712,0	Papastergiadis et al. (2014)
Suco de frutas	Hidroximetilfurfural	900 – 15900	Aktağ e Gökmen (2020)
	Furano	0,5 – 420	EFSA (2004)

CONTAMINANTES FORMADOS A PARTIR DE CARBOIDRATOS E PROTEÍNAS

Os carboidratos (açúcares, amido e polissacarídeos não amiláceos) são fonte de energia e contribuem para diversas funções metabólicas, estando presentes em quantidades consideráveis em muitos alimentos de origem vegetal como frutas, legumes, hortaliças, sementes comestíveis, leguminosas, grãos e cereais (LEONG et al., 2019). A qualidade nutricional dos carboidratos é influenciada pelo tipo, natureza, estrutura, interação com outros constituintes da matriz alimentar, tipo de processamento, entre outros (ENGLYST; ENGLYST, 2005; LEONG et al., 2019;).

As proteínas estão presentes em toda célula viva, e cada uma delas, de acordo com sua estrutura molecular, tem uma função biológica associada às atividades vitais. Nos alimentos, além da função nutricional, as proteínas têm propriedades sensoriais (ARAÚJO, 2019). Diferentemente dos carboidratos e lipídeos, as proteínas não sofrem oxidação completa no organismo, uma vez que compostos nitrogenados são excretados na urina como produto final do metabolismo das proteínas (ureia e ácido úrico, por exemplo) (SGARBIERI, 1971).

O processamento dos alimentos possibilita melhor absorção, digestão e metabolização de carboidratos, proteínas e outros constituintes tornando-os comestíveis, sensorialmente agradáveis e mais seguros do ponto de vista microbiológico. Algumas operações unitárias aplicadas, tais como lavagem, higienização e armazenamento, estas também podem ser mecânicas (corte, moagem, peneiramento e extrusão), químicas e bioquímicas (salmoura, fermentação e maturação), térmicas (fervura, vaporização, cozimento, fritura, torrefação, assamento e parboilização) e físicas (irradiação, ionização, campo elétrico pulsado, alta

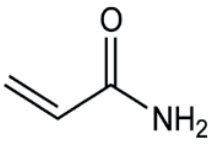
pressão e ultrassom) (LEONG et al., 2019; RANNOU et al., 2016), alteram as características físico-químicas das matrizes alimentares e favorecem diversas reações a partir da interação dos seus constituintes, principalmente a reação de Maillard (RM) e a caramelização (CAPUANO; FOGLIANO, 2011).

A RM é considerada uma das reações químicas mais importantes no processamento de alimentos (JAEGER; JANOSITZ; KNORR, 2010), ocorre entre açúcares e aminoácidos de alimentos submetidos a tratamentos térmicos que utilizam temperaturas acima de 120 ºC (KWAK; LIM, 2004; RANNOU et al., 2016). A reação confere aos alimentos cor atraente e melhora suas características sensoriais (RANNOU et al., 2016) pela formação de inúmeros compostos desejáveis como as melanoidinas, com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antienvelhecimento (DELGADO-ANDRADE, 2014), e indesejáveis, como os compostos tóxicos (RANNOU et al., 2016) acrilamida (CAPUANO; FOGLIANO, 2011), furano (CREWS; CASTLE, 2007), 5-hidroximetilfurfural (ANESE; SUMAN, 2013), acroleína (YAYLAYAN; KEYHANI, 2000), aminas heterocíclicas (SEIDEL, 2012) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA). Estes compostos são encontrados em diversos alimentos comumente consumidos por indivíduos de todas as faixas etárias (BJELDANES; SHIBAMOTO, 2014; CAPUANO; FOGLIANO, 2011; RANNOU et al., 2016).

Acrilamida

A acrilamida (AA, 2-propenamida, C_3H_5NO, CAS 79-06-1) é uma molécula reativa α,β–-carbonil insaturada com um grupo amida polar e uma função vinil que confere sua capacidade de polimerização (Figura 1). A temperatura ambiente é um monômero sólido, branco, inodoro, com massa molar de 71,08 g mol^{-1}, solúvel em água (log Kow= 0,67) e não volátil (FRIEDMAN, 2003; EFSA, 2015).

Figura 1. Estrutura química da acrilamida.



O monômero é comumente utilizado na síntese de poliacrilamidas que apresentam diversas aplicações como gel de poliacrilamida para eletroforese em análises laboratoriais, agente floculante para clarificação e purificação de água potável, no tratamento de esgoto, vedante, entre outros (FRIEDMAN, 2003). Além dos alimentos este componente pode ser formado no tabaco encontrado em cigarros (1,1-2,3 μg cigarro^{-1}) (HOGERVORST et al., 2008).

A capacidade neurotóxica da acrilamida foi comprovada em 1997, após uma tragédia ambiental durante a construção dos túneis de ferrovias na Suécia. Os trabalhadores expostos

a selantes contendo acrilamida, foram afetados pela ação neurotóxica da substância, verificada a formação de adutos de acrilamida-hemoglobina no sangue humano que estavam relacionados aos sintomas deterioradores do sistema nervoso periférico (HAGMAR et al., 2001).

Com este acontecimento, pesquisas sobre a molécula começaram a surgir na literatura e em 2002, a acrilamida foi incluída na lista de compostos tóxicos de origem alimentar. Foi demonstrado pela Administração Nacional de Alimentos da Suécia que a principal via de exposição à acrilamida em humanos e em animais é proveniente da ingestão de alimentos ricos em carboidratos, principalmente amido, tratados termicamente, como batata frita, batata chips, biscoitos, cereais matinais, café, entre outros (SWEDISH NATIONAL FOOD ADMINISTRATION, 2002). Fato que despertou preocupação, uma vez que as crianças e adolescentes são os principais grupos de risco, pois ingerem alimentos ricos em carboidratos frequentemente, ficando expostos a acrilamida, um composto neurotóxico, genotóxico e provável carcinógeno humano (FAO/WHO, 2002).

A acrilamida é formada principalmente em processos de fritura, torrefação e assamento, sendo os níveis mais altos encontrados em batatas fritas e chips, produtos de panificação e café (CAPUANO; FOGLIANO, 2011; WHO, 2005). Entretanto há uma grande variabilidade quanto a concentração de acrilamida nos alimentos e isto decorre da diferença nas concentrações de precursores como a asparagina livre e os açúcares redutores nas matérias-primas, bem como composição dos alimentos e condições de processo aplicadas tanto em escala industrial como no preparo doméstico (BOON et al., 2005; CAPUANO; FOGLIANO, 2011).

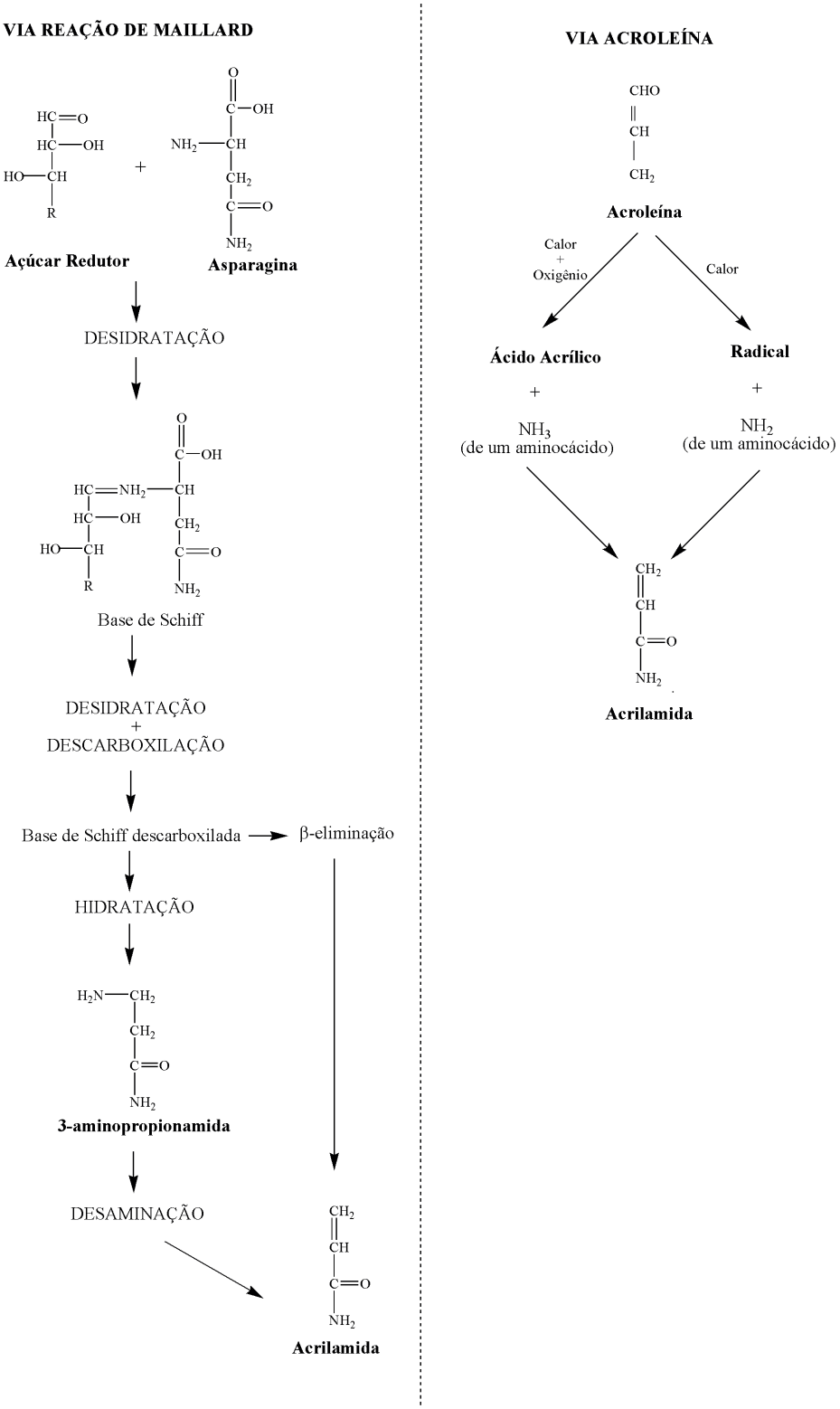
O principal mecanismo de formação de acrilamida em alimentos ricos em carboidratos processados termicamente é a RM, também conhecida como escurecimento não enzimático (CAPUANO; FOGLIANO, 2011). Outras vias alternativas também podem levar a formação de acrilamida, como a oxidação da acroleína em ácido acrílico (YASUHARA et al., 2003), reação entre ácido aspártico e açúcares redutores, degradação térmica de aminoácidos e proteínas e também descarboxilação e desaminação da asparagina (CLAUS; CARLE; SCHIEBER, 2008).

Na reação de Maillard, a acrilamida pode derivar da reação de segunda ordem entre açúcares redutores (principalmente glicose, frutose, maltose e lactose) e um grupo α amino da L-asparagina livre, principalmente pela via da base intermediária de Schiff onde ocorrem reações de descarboxilação e desaminação (CURTIS; POSTLES; HALFORD, 2014; DAMODARAN; PARKIN, 2019; YAYLAYAN; WINOROWSKI; PEREZ LOCAS, 2003).

Os compostos intermediários são capazes de formar acrilamida diretamente ou pela geração de 3-aminopropionamida livre. A formação da acrilamida requer uma temperatura mínima de 120 ºC para alimentos com baixa atividade de água e ricos em carboidratos. A faixa de pH favorável para a reação é de 4 a 8. A concentração de acrilamida aumenta rapidamente

nos estágios tardios de um processo prolongado de aquecimento devido à perda de água da superfície do alimento, permitindo o aumento da temperatura acima de 200 °C.

Figura 2. Diagrama do mecanismo de formação da acrilamida pela via reação de Maillard e pela via da acroleína.



Fonte: Adaptado de Bjeldanes e Shibamoto (2014).

Produtos com elevada área superficial, como os chips de batata, estão entre os alimentos que apresentam maiores concentrações de acrilamida (DAMODARAN; PARKIN,

2019). A acrilamida também pode ser formada pela via da acroleína, em que sob altas temperaturas, a oxidação da acroleína dá origem ao seu radical ou ao ácido acrílico, que ao reagir com um grupo amino e amônia, respectivamente, produzem acrilamida (DUDA-CHODAK et al., 2016; BJELDANES, SHIBAMOTO, 2014). A Figura 2, apresenta um esquema de formação da acrilamida por meio da RM e pela via da Acroleína.

Intoxicação por acrilamida

A molécula de acrilamida é pequena e hidrofílica, logo, difunde-se passivamente por todo o organismo exposto, e sua absorção ocorre pelos sistemas dérmico, respiratório e digestivo (ABRAMSON-ZETTERBERG et al., 2005; DUDA-CHODAK, et al., 2016). Posteriormente a absorção oral, a acrilamida é rapidamente distribuída para diversos tecidos humano e animal (DUDA-CHODAK et al., 2016). Em humanos, a acrilamida possui a capacidade de permear a barreira placentária, sendo também relatada sua presença em leite materno (CAPUANO; FOGLIANO, 2011).

A IARC classifica a acrilamida como um provável carcinógeno, pertencente ao grupo 2A (IARC, 1994). No organismo humano, a genotoxicidade e carcinogenicidade da acrilamida é atribuída pela conversão da molécula em glicidamida, pela ação da enzima citocromo CYP2E1 (FRIEDMAN, 2003). Este epóxido é altamente mutagênico, podendo reagir com moléculas de DNA e tendo como alvo enzimas envolvidas em várias reações fisiológicas (PUNDIR; YADAV; CHHILLAR, 2019).

A neurotoxicidade da acrilamida é atribuída a supressão da incorporação de aminoácidos e proteínas no sistema nervoso (FRIEDMAN, 2003). O limite aceitável de ingestão diária da acrilamida de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) é de 1,0 $\mu g\ kg^{-1}$ por peso corporal (FAO/WHO, 2002). No entanto, estima-se que a ingestão diária de acrilamida na dieta para a população em geral e para consumidores assíduos de alimentos contendo o contaminante (incluindo crianças) seja em média de 1 e 4 $\mu g\ kg^{-1}$ por peso corporal, respectivamente (WHO, 2005).

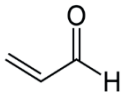
O desenvolvimento de estratégias para mitigação da acrilamida em alimentos é importante para reduzir o risco de exposição a este contaminante. Dentre elas, é possível realizar mudanças nas matérias-primas constituintes de formulações, pela seleção de variedades de batata e espécies de cereais com baixo teor de precursores de acrilamida (asparagina e açúcares redutores), adição de ácidos e acidulantes, substituição de bicarbonato de amônio por bicarbonato de sódio e alteração das condições e/ou tecnologias de processo (CAPUANO; FOGLIANO, 2011). A conscientização sobre boas práticas de manejo e/ou fabricação bem como a adoção de uma dieta equilibrada pelos consumidores também são importantes para reduzir a exposição a acrilamida.

Acroleína

A acroleína (propenal, C_3H_4O) caracteriza-se por ser um aldeído α,β-insaturado altamente eletrofílico e volátil (ponto de ebulição em 52,5 °C e ponto de fusão em -88 °C), solúvel em água (log Kow = -1,1 a 1-1,02), líquido e incolor a temperatura ambiente (Figura 3). A molécula pode se polimerizar em presença de oxigênio e de água quando se encontra em concentrações superiores a 22% (ABRAHAM et al., 2011).

A exposição humana à acroleína pode ocorrer por fontes endógenas, dietéticas ou ambientais, como alimentos fritos com óleo, fumaça de tabaco, combustão incompleta de plástico, madeira e gasolina (ESTERBAUER; SCHAUR; ZOLLNER, 1991). Na indústria, a acroleína é usada como biocida para impedir o crescimento descontrolado de algas, ervas daninhas e moluscos em sistemas de água e canais de irrigação (PAMIES; VILANOVA, 2014). Este composto pode também ser gerado endogenamente pela reação de peroxidação lipídica por meio do metabolismo de aminoácidos e poliaminas (ALDINI; ORIOLI; CARINI, 2011).

Figura 3. Estrutura química da acroleína



Embora a exposição à acroleína seja relatada principalmente por via inalatória, a (OMS) sugere uma ingestão oral diária tolerável de acroleína de 7,5 µg kg^{-1} de peso corpóreo (NTP, 2006). A exposição à acroleína via consumo de alimentos e água é difícil de ser avaliada, no entanto, em relatórios da OMS, o consumo de aldeídos, como a acroleína, pela ingestão de alimentos, foi estimado em quase 5 mg kg^{-1} dia^{-1}. No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) classifica a acroleína como um contaminante orgânico que pode estar presente em concentração não superior a 5 mg 100 mL^{-1} de álcool anidro destinado à fabricação de aguardente de cana e cachaça (BRASIL, 2005).

As concentrações de acroleína em alimentos variam de acordo com o alimento e as condições de processamento, sendo que este contaminante é amplamente produzido por processos térmicos em matrizes alimentares contendo carboidratos, aminoácidos e gorduras. Também ocorre em frutas, grãos de cacau, pão branco, peixe, queijo e bebidas destiladas (EWERT et al., 2014; LIU et al., 2020; ŻYŻELEWICZ et al., 2017).

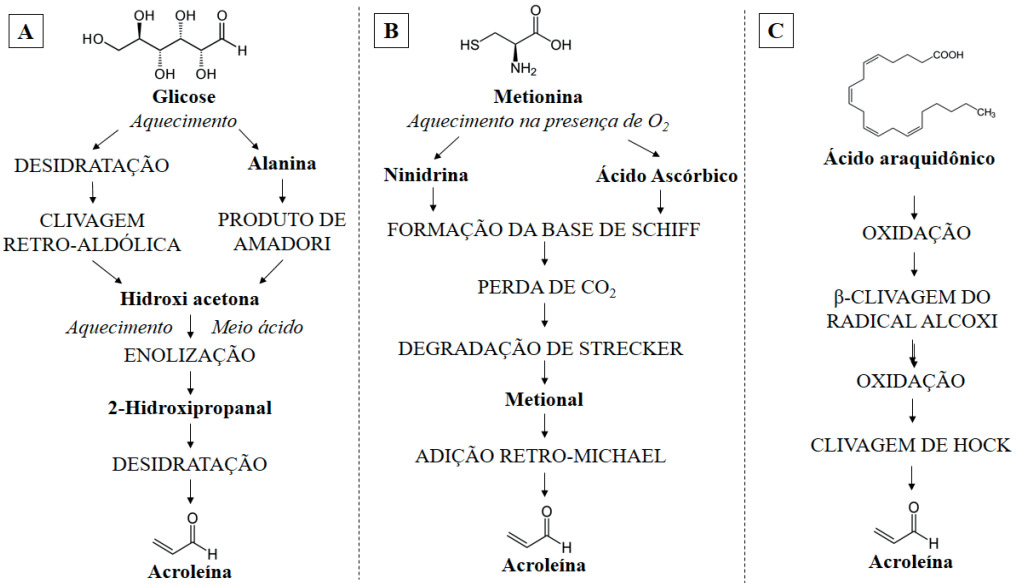
O aquecimento ou cozimento de alimentos contendo carboidratos resulta na formação de intermediários reativos que podem sofrer clivagem carbono-carbono ou reagir com resíduos de aminoácidos. Por exemplo, o aquecimento de materiais contendo glicose pode resultar em uma sequência de reações que promovem a formação do precursor da acroleína, a hidroxi acetona (Figura 4 A). As etapas como a desidratação, a sequência que compõe

a reação de Maillard e o processo de enolização são induzidas pelo fornecimento de calor (YAYLAYAN; KEYHANI, 2000).

A formação da acroleína pode ocorrer pela combinação do aminoácido metionina com ninidrina ou ácido ascórbico (Figura 4.B) em condições de aquecimento ou fervura em soluções aquosas na presença de oxigênio, esse mecanismo forma metional, dióxido de carbono e amônia por hidrólise. Por fim, o metional pode formar metanotiol e acroleína por clivagem (STEVENS; MAIER, 2008). O metional é o principal composto de sabor de batatas assadas e cozidas, sendo que uma estratégia utilizada para aumentar a produção de metional durante o preparo de batatas, é o desenvolvimento de batatas transgênicas com elevadas concentrações de metionina (DI et al., 2003). Em contrapartida, a ocorrência de metional pode aumentar a formação de acroleína, tornando o processo inconveniente.

Há estudos que relatam a formação da acroleína a partir de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) por degradação oxidativa, porém, é improvável que a acroleína (um aldeído e uma fração de olefina) seja formada a partir do terminal alquil de ácidos graxos (nenhum PUFA possui um terminal de olefina) ou do terminal carboxi (redução do grupo R-COOH para R-CHO não ocorre em um ambiente oxidativo), desta forma, o mecanismo proposto na Figura 4.C demonstra que a acroleína se origina do centro da cadeia alifática, por duas reações principais que resultam na clivagem da ligação carbono-carbono dos hidroperóxidos lipídicos (a clivagem β do radical alcoxi), e a clivagem que produz dois fragmentos aldeídos (YIN; POTER, 2005).

Figura 4. Diagrama de formação de acroleína a partir da glicose (A); de metionina (B); e do ácido araquidônico (C).



Fonte: Adaptado de Stevens e Maier, 2008.

Intoxicação por acroleína

A toxicidade da acroleína é atribuída à sua alta eletrofilicidade, que facilita a reação com constituintes celulares diversos. Na literatura, estão disponíveis informações sobre a

toxicidade da acroleína, principalmente por ser ubíqua no ambiente. Estudos in vitro sugerem que a acroleína induz neurotoxicidade em células do hipocampo, neurônios corticais primários e neurônios ganglionares da raiz dorsal, revelando um papel crítico da toxicidade da acroleína na neurodegeneração e demonstrando associação da exposição à acroleína com doenças de Alzheimer e Parkinson (ABRAHAM et al., 2011; WEINHOLD, 2011).

A principal ação metabólica da acroleína é a formação de adutos de glutationa (GSH) por reação direta com acroleína ou catalisados pelas glutationa-S-transferases, ocasionando a depleção de GSH e consequentemente estresse oxidativo e danos ao DNA. Em estudos em linhagens celulares humanas, uma depleção completa de GSH foi observada a partir de doses de 10 mmol L^{-1} de acroleína. (ABRAHAM et al., 2011; EISENBRAND; SCHUHMACHER; GOLZER, 1995).

Além da formação de adutos de GSH, a acroleína pode causar reticulação entre proteínas, peptídeos e DNA. Em nível celular, a acroleína (≥ 10 µmol L^{-1}) reduz a viabilidade de linhagens celulares, como as endoteliais e epiteliais brônquicas, fibroblastos brônquicos e cardíacos, células epiteliais de pigmentos da retina e células neuronais (STEVENS; MAIER, 2008). A acroleína também pode causar morte celular por processos apoptóticos, bem como modular vias de sinalização, incluindo aquelas que envolvem os fatores de transcrição e fator nuclear-κβ (KEHRER; BISWAL, 2000).

Os órgãos-alvo da toxicidade da acroleína são os tecidos de exposição, como irritações de todo o trato respiratório por inalação, hiperplasias e metaplasias no epitélio respiratório; e a exposição oral leva a sintomas gastrointestinais, úlceras gástricas e/ou sangramento gástrico, sendo que a gravidade aumenta com o aumento da dose.

Aminas heterocíclicas – aminoimidazoazarenos

As aminas heterocíclicas (AHs) foram identificadas em alimentos ricos em proteínas no final da década de 1970 sendo associadas aos efeitos mutagênicos e cancerígenos (NAGAO et al., 1977). As AHs podem ser classificadas pela sua estrutura em aminoimidazoazarenos - AIAs (tipo IQ) e amino carbolinas (tipo não-IQ), detalhes das estruturas podem ser observados nas imagens do Quadro 2. A formação de AHs ocorre principalmente em produtos à base de carne cozida, sendo afetada por muitos fatores, como tipo de carne, método de processamento, condições de cozimento e atividade da água, além do tipo e quantidade de especiarias utilizadas (BALOGH et al., 2000; PAIS; KNIZE, 2000; SEIDEL, 2012; UNAL et al., 2018).

A Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC, 1993) recomenda reduzir a exposição as AHs e classifica estes compostos conforme informações contidas no Quadro 2. Nos Estados Unidos, o Programa Nacional de Toxicologia listou os AIAs como razoavelmente cancerígenos humanos (NTP, 2011). Na União Europeia, a recomendação é analisar os processos térmicos para os AIAs, considerados constituintes para atenção (EFSA, 2010).

Embora a ingestão diária de AHs seja diferente em várias pesquisas epidemiológicas, o Conselho Europeu recomenda que a ingestão máxima de AHs seja menor que 1 μg dia^{-1} (COE, 1992). Segundo dados da literatura, a concentração de AHs na carne bem passada é de 1 a 500 ng g^{-1} e as AHs mais prevalentes medidas em alimentos à base de carne são: PhIP (1-450 ng g^{-1}), QI (1,7-240 ng g^{-1}) e MeIQx (1-89 ng g^{-1}) (BARZEGAR; KAMANKESH; MOHAMMADI, 2019; LAYTON et al., 1995).

As AHs são formadas pela reação de Maillard, com creatina/creatinina, aminoácidos e açúcares como precursores, gerando compostos heterocíclicos, que contribuem para o aroma, sabor e aparência de alimentos fritos, assados ou grelhados (SEIDEL, 2012). As AHs do tipo IQ são aminoimidazoquinolinas formadas como produtos da reação de pirazinas, enquanto as AHs do tipo IQx são aminoimidazoquinoxalinas formadas como produtos da reação de piridinas. O AIA PhIP é similarmente formado a partir de fenilacetaldeído, o aldeído de fenilalanina com creatinina (NI et al., 2008; SEIDEL, 2012).

A quantidade e variedade de AHs formadas na carne cozida dependem do tipo de carne e das condições de processamento. O calor prolongado a alta temperatura gera uma quantidade maior de AHs, embora o tempo prolongado de cozimento a temperaturas mais baixas também possa gerar AHs. Diferentes métodos de cozimento e a presença ou ausência de molho também podem afetar a formação de AHs (HSU; CHE, 2020; ZHANG et al., 2020).

A variação de concentração decorrente da forma de preparo, com adição de ingredientes como o molho de soja, rico em aminoácidos, no processamento de carne bovina para obtenção de produtos derivados, pode facilitar a formação de AHs, aumentando a variedade de AHs (7,8-DiMeIQx, Trp-P-1 e Trp-P-2) (LAN; KAO; CHEN, 2004). Em estudos que reproduziram o cozimento da carne na presença de álcool, foi evidente a aceleração da formação de IQ e IQx de forma dose-dependente. O conteúdo de IQ formado em solução de etanol a 50% aquecida por 4 h foi aumentado para 46,0 $\pm$ 5,5 mg kg^{-1}, em comparação com 16,5 $\pm$ 2,2 mg kg^{-1} em uma solução modelo aquosa após 8 h de aquecimento (WU et al., 2011).

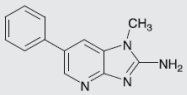
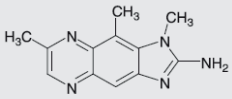
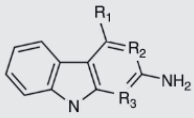
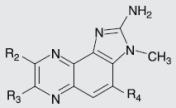
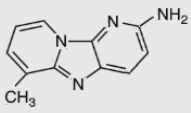
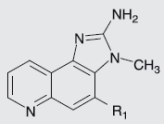
Intoxicação por aminas heterocíclicas

As AHs são substâncias mutagênicas, e a carcinogenicidade destes compostos é dez vezes maior que outros compostos tóxicos, como nitrosaminas, aflatoxina B_1 e benzo[α]pireno (PÜSSA, 2013). Pesquisas epidemiológicas demonstraram que as AHs são o principal fator em diversos tipos de câncer, principalmente de mama, estômago, cólon, pâncreas e próstata (BARZEGAR; KAMANKESH; MOHAMMADI, 2019).

Após a ingestão oral, as AHs são rapidamente absorvidas no intestino delgado e depois transportadas para o fígado, aonde são ativadas. A ativação metabólica das AHs começa com a N-oxidação pelas enzimas do citocromo P450, sendo a reação de acetilação a principal para a ativação. As espécies reativas finais são os íons de nitrênio que levam a adutos covalentes de DNA, responsáveis por mutações (LYNCH et al., 1995; SEIDEL, 2012). Um exemplo desta via

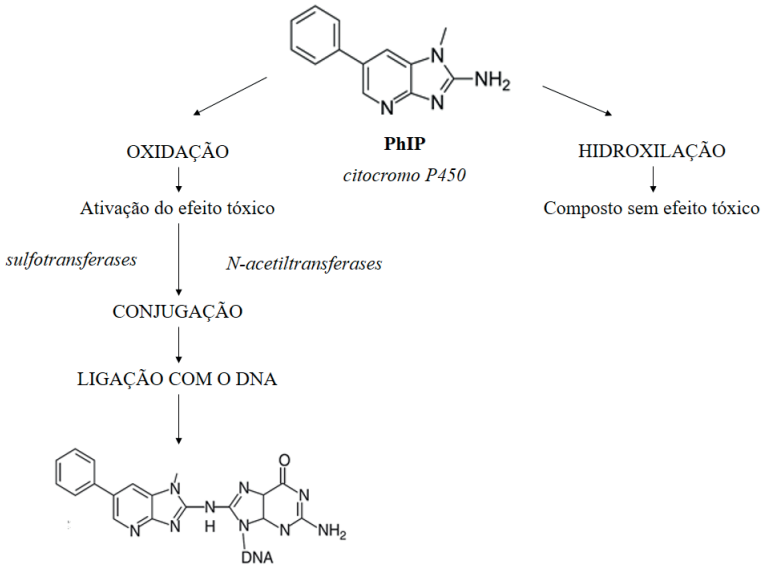
está descrito na Figura 5, está demonstrada a desintoxicação metabólica e ativação metabólica pela oxidação e conjugação mediadas pelo Citocromo P450 por N-acetiltransferases ou sulfotransferases, resultando na ligação covalente do DNA ao íon de nitrênio, formando um aduto de guanina-C8. Aparentemente, a ação por isoformas de N-acetiltransferases é mais relevante para IQ e MeIQx, enquanto no caso de PhIP, isoformas de sulfotransferase são mais importantes. Essas diferenças podem levar a diferenças na organotropia carcinogênica entre os hepatocarcinógenos (IQ, MeIQx) e o PhIP direcionado ao cólon, mama, próstata e pâncreas (SEIDEL, 2012).

Quadro 2. Estruturas químicas das aminas heterocíclicas (AH) dos tipos não-IQ, IQx e IQ formadas durante o processamento de alimentos e a classificação delas segundo a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC).

<table>
<tr><th colspan="3">AH TIPO NÃO-IQ</th><th colspan="3">AH TIPO IQx</th></tr>
<tr><td colspan="3">  </td><td colspan="3">  </td></tr>
<tr><th colspan="2">Composto</th><th>Classe IARC</th><th colspan="2">Composto</th><th>Classe IARC</th></tr>
<tr><td colspan="2">PhIP</td><td>2B</td><td colspan="2">7-MeIgQx</td><td>-</td></tr>
<tr><td colspan="3">  </td><td colspan="3">  </td></tr>
<tr><th>Radical</th><th>Composto</th><th>Classe IARC</th><th>Radical</th><th>Composto</th><th>Classe IARC</th></tr>
<tr><td>R_1 = H
R_2 = CH
R_3 = N</td><td>AαC</td><td>2B</td><td>R_2 = H
R_3 = H
R_4 = H</td><td>IQx</td><td>-</td></tr>
<tr><td>R_1 = H
R_2 = C–CH_3
R_3 = N</td><td>MeAαC</td><td>2B</td><td>R_2 = CH_3
R_3 = H
R_4 = H</td><td>MeIQx</td><td>2B</td></tr>
<tr><td>R_1 = CH_3
R_2 = N
R_3 = C–CH_3</td><td>Trp-P-1</td><td>2B</td><td rowspan="2">R_2 = CH_3
R_3 = H
R_4 = CH_3</td><td rowspan="2">4,8-DiMeIQx</td><td rowspan="2">-</td></tr>
<tr><td>R_1 = CH_3
R_2 = N
R_3 = CH</td><td>Trp-P-2</td><td>2B</td></tr>
<tr><td colspan="3">  </td><td colspan="3">  </td></tr>
<tr><th colspan="2">Composto</th><th>Classe IARC</th><th>Radical</th><th>Composto</th><th>Classe IARC</th></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="2">Glu-P-1</td><td rowspan="2">2B</td><td>R_1 = H</td><td>IQ</td><td>2A</td></tr>
<tr><td>R_1 = CH_3</td><td>MeIQ</td><td>2B</td></tr>
</table>

Onde: PhIP (2-amino-1-metil-6-fenilimidazo [4,5-*b*] piridina); IQ (2-amino-3-metilimidazo [4,5-*f*] quinolona); MeIQ (2-amino-3,4-dimetilimidazo [4,5-*f*] quinolona); IQx (2-amino-3-metilimidazo [4,5-*f*] quinoxalina); MeIQx (2-amino-3,8-dimetilimidazo [4,5-*f*] quinoxalina); 4,8-DiMeIQx (2-amino-3,4,8-trimetilimidazo [4,5-*f*] quinoxalina); 7-MeIgQx (2-amino-1,7-dimetilimidazo [4,5-*g*] quinoxalina); amino-α-carbolina AαC (2-amino-9H-pirido [2,3-*b*] indol); metilamino-α-carbolina MeAαC (2-amino-3-metil-9H-pirido [2,3-*b*] indol); Trp-P-1 (3-amino-1,4-dimetil-5H-pirido [4,3-*b*] indol); Trp-P-2 (3-amino-1-metil-5H-pirido [4,3-*b*] indol); Glu-P-1 (2-amino-6-metildipirido [1,2-*a*:3',2'-*d*] imidazol).

Figura 5. Principais vias do metabolismo das AHs exemplificadas com PhIP.



Fonte: Adaptado de SEIDEL (2012).

Há indicativos que o consumo de 50 g de carne processada por dia aumentou a probabilidade de câncer em humanos na seguinte magnitude: 4% para próstata, 9% para mama, 18% para cólon, e 19% para pâncreas (WOLK, 2017). A carcinogenicidade das AHs também foi comprovada em experimentos com animais, pois esses compostos induziram a formação de tumores no intestino e fígado de camundongos e ratos. O PhIP é mais ativo em comparação com o IQ ou o MeIQx na indução de mutações genéticas em células do ovário de hamster chinês, e da mesma forma o PhIP foi mutagênico *in vivo* no intestino delgado de ratos, enquanto o MeIQx e o AαC estavam inativos (NAGAO, 2000).

Apesar dos estudos epidemiológicos sobre a associação entre câncer humano e ingestão alimentar de carne cozida bem passada demonstrarem um efeito positivo sobre risco de câncer de cólon, mama, próstata ou pâncreas. No entanto, os dados são considerados insuficientes para apoiar a conclusão de que o aumento do risco de câncer é especificamente devido às AHs presentes nesses alimentos, tendo em vista que muitos agentes cancerígenos diferentes estão presentes na carne bem passada (LAN; KAO; CHEN, 2004; LIU et al., 2020; VICENTE et al., 2015).

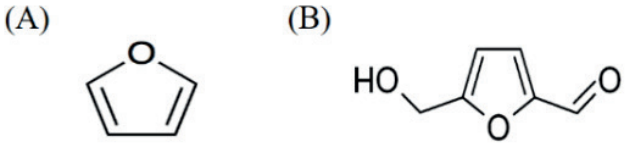
Assim como a maioria dos agentes cancerígenos, as AHs não têm atividade mutagênica direta, pois necessitam de enzimas metabólicas para sua ativação. Estudos *in vitro* com linhagens celulares transfectadas com isoenzimas humanas ou de ratos indicam que as enzimas de ratos tendem a levar à desintoxicação das AHs, enquanto as enzimas humanas resultam em ativação metabólica destes compostos (TURESKY, 2006).

Furano e hidroximetilfurfural

O furano e o hidroximetilfurfural são compostos furânicos que pertencem a uma classe de moléculas heterocíclicas com baixo peso molecular, formadas principalmente como produtos intermediários em reações induzidas pelo calor (MAGA; KATZ, 1979) em diversos precursores como carboidratos, aminoácidos, misturas de carboidratos-aminoácidos, vitaminas, ácidos graxos poli-insaturados e carotenoides (ANESE; BOT; SUMAN, 2014).

Estes compostos podem contribuir para as propriedades sensoriais de muitos alimentos tratados termicamente (MAGA, KATZ, 1979) dependendo da quantidade e das características dos grupos funcionais substituintes do anel furano (Figura 6) que afetam as propriedades físico-químicas das moléculas furânicas, como solubilidade e volatilidade. Por essa razão, o furano e seus derivados apresentavam grande importância na indústria de aromas, sendo utilizados na produção de aromas alimentares e melhoradores de sabor (ANESE; BOT; SUMAN, 2014). Entretanto, estudos têm demonstrado que estes compostos apresentam efeitos tóxicos em humanos e animais (ANESE; SUMAN, 2013; ARISSETO, 2016; BURKA; WASHBURN; IRWIN, 1991; CAPUANO; FOGLIANO, 2011; MORO et al., 2012; SURH et al., 1994) causando preocupação quanto a ingestão de alimentos que apresentam estes contaminantes, uma vez que a frequência de consumo, faixa etária e grau de contaminação são fatores determinantes para a avaliação dos riscos de exposição e danos à saúde.

Figura 6. Estruturas químicas do (A) furano e (B) 5-hidroximetilfurfural



Furano

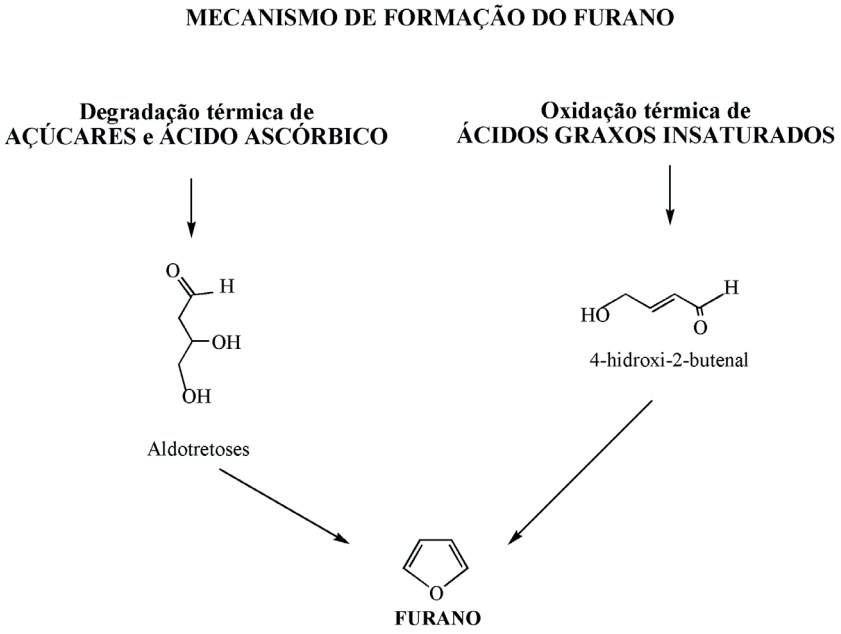
O furano (éter diênico cíclico, C_4H_4O, CAS 110-00-9) é um pequeno éter cíclico aromático, de baixo peso molecular (68,07 g mol^{-1}), volátil (ponto de ebulição de 31,4 °C), líquido e incolor à temperatura ambiente, levemente solúvel em água (log Kow = 1,34) e de baixa polaridade (ARISSETO, 2016; EFSA, 2011; NTP, 2014). Na indústria, o composto é produzido por descarbonilação do furfural, sendo utilizado como intermediário na síntese e produção de compostos orgânicos como tetra-hidrofurano, pirrol e tiofeno. O furano também é utilizado na produção de vernizes, como solventes para resinas e em produtos agrícolas, estabilizadores e fármacos (ARISSETO, 2016; NTP, 2014). A RM, responsável pela degradação térmica e o rearranjo de carboidratos durante o processamento e tratamento térmico de alimentos, promove a formação de um grande número de furanos, mesmo em misturas simples de componentes voláteis (CREWS; CASTLE, 2007) e em níveis baixos devido a sua

baixa polaridade e alta volatilidade (ARISSETO, 2016; CREWS; CASTLE, 2007). Os aminoácidos serina, cisteína e alanina associados a açúcares simples durante a reação de Maillard apresentam maior contribuição para a formação de furano (YAYLAYAN; KEYHANI; WNOROWSKI, 2000; YAYLAYAN; MACHIELS; WNOROWSKI, 2003).

O ácido ascórbico apresenta comportamento semelhante à degradação de carboidratos em reações de escurecimento. O ácido ascórbico sofre reações de clivagem, hidrólise e desidratação para a formação de furfural em meio ácido e água. (CREWS; CASTLE, 2007; PEREZ LOCAS, YAYLAYAN, 2004). Em meio com baixa atividade de água, sob aquecimento a 300 ºC, há a possibilidade de formação de furanos, sendo os principais, furfural e ácido furoico (VERNIN et al., 1997). A formação de furano por aquecimento ou irradiação é afetada pelo pH e concentração de açúcares e ácido ascórbico em solução (CREWS; CASTLE, 2007).

A formação de furano proveniente de ácidos graxos insaturados está associada a autoxidação por radicais livres (PEREZ LOCAS, YAYLAYAN, 2004). Os íons metálicos, como Fe(II), podem promover a oxidação de ácidos graxos e, consequentemente, aumentar a formação de furano. Em contrapartida, devido a vias de reação para autoxidação serem complicadas e concorrentes, a formação de furano nem sempre ocorre (CREWS; CASTLE, 2007; MARK et al., 2006). A taxa de formação de furanos a partir de ácidos graxos insaturados é aumentada à medida que o grau de insaturação aumenta (CREWS; CASTLE, 2007).

Figura 7. Esquema do mecanismo de formação do furano via degradação térmica de açúcares e ácido ascórbico e via oxidação térmica de ácidos graxos insaturados.



Fonte: Adaptado de Arisseto (2016) e Crews e Castle (2007).

Intoxicação por furano

O furano é rapidamente absorvido no organismo humano e facilmente excretado pela urina e fezes e eliminado pelo ar (CREWS; CASTLE, 2007; MORO et al., 2012), porém, repetitivas doses podem levar sua acumulação no fígado, seu principal órgão alvo, seguido de rins e pulmões (CREWS; CASTLE, 2007). Quando o furano é absorvido, este é metabolizado por enzimas do citocromo P450, ocorrendo a abertura do anel, para formar CO_2 e cis 2 buteno-1,4-dialdeído, principal metabólito do furano (CHEN et al., 1995; MORO et al., 2012). O composto é citotóxico e pode se ligar irreversivelmente a proteínas e nucleosídeos (ARISSETO, 2016; BURKA; WASHBURN; IRWIN, 1991).

O furano é classificado pela IARC como possível carcinógeno para humanos pertencente ao Grupo 2B (IARC, 1995) sendo demonstrado pela Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar a carcinogenicidade e genotoxidade deles (EFSA, 2004; MORO et al., 2012).

O risco de exposição ao furano é estimado com base nos dados de consumo de diferentes alimentos, sendo que a exposição média estimada para adultos na Europa variou, no período da estimativa, entre 0,34 a 1,23 $\mu g\ kg^{-1}$ por peso corporal e para crianças de 3 a 12 meses de idade, o valor estimado foi de 0,27 a 1,01 $\mu g\ kg^{-1}$ por peso corporal (EFSA, 2009). Este mesmo estudo identificou que o café é a principal fonte de exposição de furano para adultos, enquanto para bebês, as fórmulas e as comidas prontas para consumo são as fontes de contaminação.

Em 2004, a “FDA”, informou que o furano está presente em vários alimentos, como alimentos para bebês, molhos, sopas, vegetais enlatados, café, pão, entre outros (FDA, 2004) devido aos múltiplos precursores e rotas alternativas que levam a sua formação (Figura 7), tais como a degradação térmica de carboidratos e ácido ascórbico e seus derivados e a oxidação térmica de ácidos graxos insaturados (CREWS; CASTLE, 2007).

No café são encontrados altos níveis de furano devido às temperaturas utilizadas no processo de torrefação (200 ºC). A quantidade de furano formada nos grãos de café aumenta com o grau de torrefação (ARISSETO, 2016). O contaminante também pode ser encontrado em alimentos enlatados e/ou esterilizados (MARIOTTI et al., 2013), produtos cárneos (EFSA, 2011), cereais matinais, biscoitos doces e salgados, pão e bolos (ARISSETO et al., 2012). A ionização por radiação, um tratamento não térmico, em frutas e sucos também demonstrou promover a formação de furano (FAN; SOKORAI, 2008).

Hidroximetilfurfural

O 5-hidroximetilfurfural (5-HMF, 5-hidroximetil-2-furfuraldeído, $C_6H_6O_3$, CAS 67 47-0) consiste em um anel furano com grupamentos hidroxil alílico e carbonil α,β insaturado (Figura

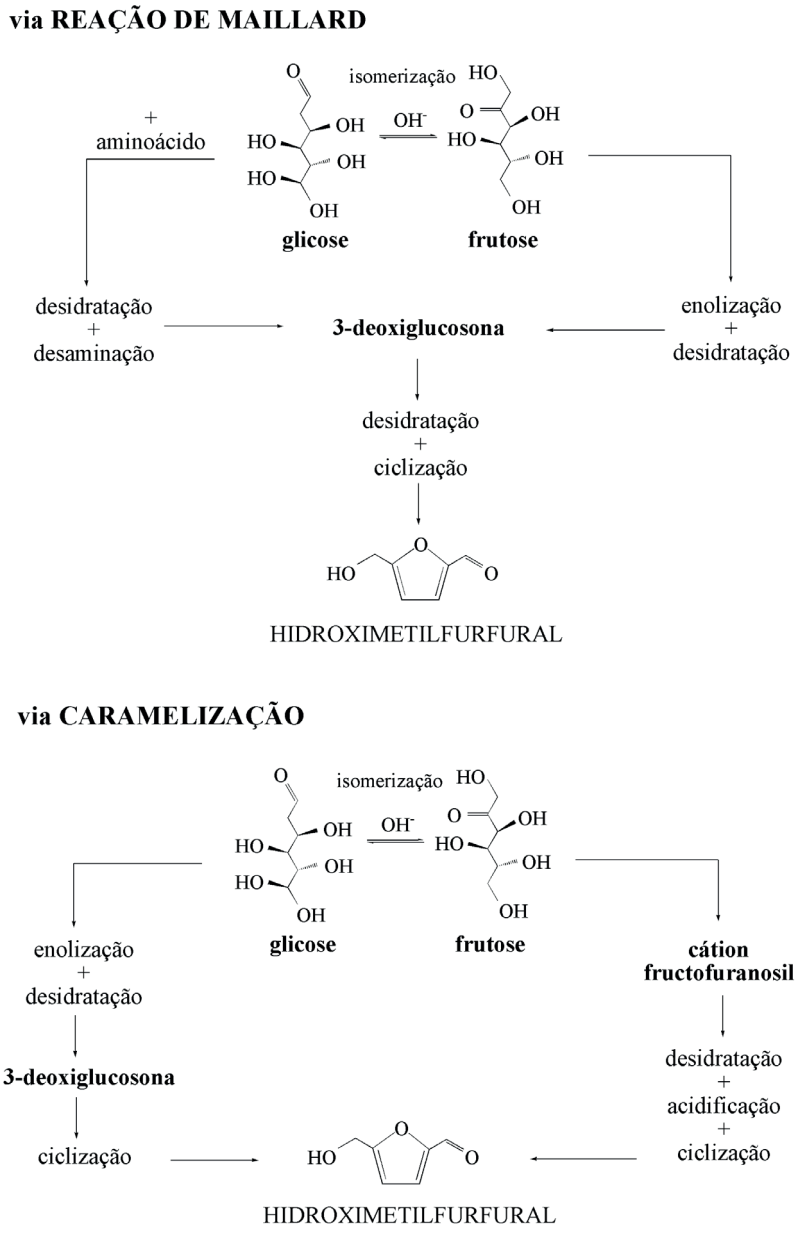
6) (ANESE; SUMAN, 2013). A temperatura ambiente é um sólido cristalino, com massa molar de 126,11 g mol^{-1}, solúvel em água (log kow=-0,09) e não volátil (KOWALSKI et al., 2013).

Estudos sobre a toxicidade do 5-HMF despertaram alerta no início da década de 1990, pois a molécula apresenta grupamentos estruturais que podem representar riscos genotóxicos e carcinogênicos (ANESE; SUMAN, 2013). O nível dela é utilizado como indicador de qualidade de alimentos durante os tratamentos térmicos, fornecendo evidências de superaquecimento no processamento e/ou condições inadequadas de armazenamento aplicados a produtos de cereais, como secagem de massas, panificação, torrefação, extrusão, entre outros (ANESE; SUMAN, 2013; CAPUANO; FOGLIANO, 2011).

A quantidade de calor aplicada durante o processamento de alimentos ricos em carboidratos e os ingredientes utilizados em suas formulações estão diretamente relacionados as concentrações de HMF encontradas nestas matrizes alimentares (CAPUANO; FOGLIANO, 2011). O HMF é geralmente encontrado em soluções de caramelo e mel, frutos secos, produtos de panificação, malte, sucos de frutas, café, vinagre, leite, etc (ANESE; SUMAN, 2013; CAPUANO; FOGLIANO, 2011). O composto também é utilizado como marcador de qualidade em frutas processadas, café, mel e leite, indicador nos processos de aquecimento aplicados a produtos de cereais como massas, pão, torradas, cereais para bebês e matinais, entre outros (RAMÍREZ-JIMÉNEZ; GUERRA-HERNÁNDEZ; GARCÍA-VILLANOVA, 2003; RESMINI et al., 1993).

O pouco conhecimento sobre os reais efeitos do HMF em humanos decorre das escassas informações sobre a exposição alimentar. Porém, alguns estudos na literatura relataram exposição média diária ao HMF entre 5,1 a 5,6 mg/pessoa, logo, assim como para a acrilamida, as condições domésticas e industriais de preparo e armazenamento também afetam a formação e exposição ao HMF (DELGADO-ANDRADE et al., 2006; HUSOY et al., 2008). Limites máximos para o HMF foram estabelecidos para mel por alguns países e órgãos, cujo o limite deve ser ≤ 40 mg kg^{-1} (ou ≤ 80 mg kg^{-1} em regiões tropicais) (CODEX ALIMENTARIUS, 2001; SHAPLA et al., 2018).

Figura 8. Esquema do mecanismo de formação do HMF via reação de Maillard e via caramelização



Fonte: Adaptado de Capuano e Fogliano (2011) e Lee et al. (2019).

Nos alimentos, o 5-HMF pode ser formando como composto intermediário da RM (AMES, 1992) ou pela desidratação de um açúcar em condições ácidas, isto é, pela caramelização (KROH, 1994) durante os tratamentos térmicos tanto em escala industrial quanto doméstica (CAPUANO; FOGLIANO, 2011) como mostra a representação dos mecanismos de formação do HMF na Figura 8. Na reação de Maillard, em pH<7,0, a glicose ou a frutose podem sofrer 1,2-enolização e desidratação para formar 3-desoxiglucosona, composto intermediário que é desidratado e ciclizado para a formação de HMF (ANESE; SUMAN, 2013; CAPUANO; FOGLIANO, 2011; LEE et al., 2019). A frutose é mais reativa que a glicose na formação de HMF e em condições ácidas o composto pode ser formado até mesmo em baixas temperaturas (LEE; NAGY, 1990). Na caramelização, açúcares expostos a condições ácidas e

secas ao decorrer de tratamentos térmicos são degradados, principalmente frutose no seu cátion frutofuranosil, o qual é convertido em HMF (LOCAS; YAYLAYAN, 2008; LEE et al., 2019). A glicose e frutose também podem formar 3-deoxiglucosona na caramelização, levando a formação de HMF (CAPUANO; FOGLIANO, 2011). O grau de formação de HMF depende do tipo de açúcar, pH, atividade de água e presença de cátions divalentes nas matrizes alimentares (ANESE; SUMAN, 2013; KROH, 1994).

Intoxicação por 5-hidroximetilfurfural

O HMF é rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal de ratos e camundongos (GODFREY et al., 1999; DELGADO-ANDRADE et al., 2008). No organismo de humanos e de animais foi verificado que a maior parte do HMF absorvido é metabolizado e excretado pela urina (GODFREY et al., 1999), porém, uma fração do contaminante por ser bioativada e convertida em 5-sulfooximetilfurfural (5-SMF), composto instável no qual produz um intermediário reativo com DNA (GLATT; SOMMER, 2006) e outras macromoléculas, resultando em mutagenicidade e genotoxicidade (SURH et al., 1994). A principal preocupação do HMF está associada à sua conversão em 5-SMF, um composto genotóxico que apresenta maior atividade em células humanas do que de roedores, indicando que o risco associado à exposição ao HMF por alimentos pode ser maior em humanos, uma vez que a ingestão de alimentos que possuem grandes concentrações de HMF é frequente (CAPUANO; FOGLIANO, 2011). A presença de HMF em altas concentrações nos alimentos também pode ser indicativo da formação de acrilamida (CURTIS; POSTLES; HALFORD, 2014).

Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são um grupo complexo de compostos químicos presentes no ambiente e em alimentos, compostos por átomos de carbono e hidrogênio organizados em dois ou mais anéis de benzeno (DUEDAHL-OLESEN, 2013). À temperatura ambiente todos HPAs são sólidos e apresentam altas temperaturas de fusão e ebulição, baixas pressão de vapor e baixa solubilidade em água. Eles podem ser classificados de moderadamente a altamente lipossolúvel (CARUSO; ALABURDA, 2008; MEIRE; AZEREDO; TORRES, 2007; WU et al., 2020). São formados pela pirólise ou combustão incompleta da matéria orgânica e durante processos alimentícios industriais como fritura, defumação, assamento e grelhagem (KACMAZ, 2019). A principal fonte de exposição aos HPAs para não fumantes é pela ingestão de alimentos (DUEDAHL-OLESEN, 2013).

Existem mais de 100 compostos diferentes de HPAs, quase sempre presentes em mistura, que são encontrados em elevadas concentrações em carnes defumadas, frutas secas e óleos vegetais (DUEDAHL-OLESEN, 2013). De acordo com a EFSA, os cereais e

produtos à base deles, como o pão, são as principais fonte de exposição a HPAS devido ao seu elevado consumo (EFSA, 2008).

Todas moléculas contendo carbono e hidrogênio podem atuar como precursores de HPAs quando submetidos à elevadas temperaturas (500-700 °C). Durante a pirólise, eles são fragmentados, formando compostos instáveis, que se recombinam formando HPAs, que são relativamente mais estáveis (LEE; NOVOTNY; BARTLE, 1976). As propriedades físicas e químicas dos HPAs são determinadas pelas duplas conjugadas na estrutura desses compostos (CARUSO; ALABURDA, 2008). Os HPAs podem ser classificados, em função do número de anéis aromáticos condensado, em leves, que são aqueles com até quatro anéis, que são voláteis e considerados de baixa toxicidade; e pesados, com cinco ou mais anéis, mais estáveis e tóxicos.

As propriedades mutagênicas, carcinogênicas e teratogênicas são determinadas pelo número de anéis da molécula (WU et al., 2020). Em 2002, a EFSA concluiu que de 33 compostos HPA avaliados, 15 mostraram ação mutagênica ou genotóxica em animais. O JECFA avaliou esses 15 compostos e o benzo[c]fluoreno, e hoje é utilizado o termo EU 15+1 HPAs prioritários para o risco de saúde humana (DUEDAHL-OLESEN, 2013). Na Tabela 1 são mostrados os compostos prioritários e sua classificação no IARC.

A contaminação dos alimentos por HPAs ocorre durante o processamento por elevada temperatura e pelo ambiente (água, solo e ar) (CARUSO, ALABURDA, 2008; MEIRE; AZEREDO; TORRES, 2017). Quando a fumaça é gerada pela queima da madeira, os HPAs são transmitidos ao alimento, sendo a concentração deles linearmente proporcional à temperatura, na faixa de 400 a 1000 °C (DUEDAHL-OLESEN, 2013).

A grelhagem utilizando o carvão vegetal, torna possível reduzir os níveis de HPAs em até 74% quando a fumaça é removida, e em até 89% quando não ocorre o gotejamento da gordura no carvão (LEE et al., 2016). A utilização de grelha elétrica aumentou de 5 a 13 vezes a concentração de HPAs em pescado, coração de galinha e carne suína, em comparação aos níveis iniciais do contaminante (CHENG et al., 2019). Isso indica que diferentes tipos de gorduras animais terão diferentes efeitos nos níveis de HPA durante o processo de grelhagem (WU et al., 2020).

Os HPAs também são formados a partir de carboidratos cozidos em altas temperaturas na ausência de oxigênio (BJELDANES; SHIBAMOTO, 2014). O processo de torrefação do café pode acelerar a formação dos HPAs, e a quantidade formada irá depender do tempo e temperatura utilizada nessa operação, o que influencia diretamente na qualidade do produto (DUEDAHL-OLESEN, 2013).

O pão é o produto à base de amido mais comum na dieta humana, e como seu processo requer assamento em temperaturas entre 100 e 250 °C, ocorre, inevitavelmente,

sua contaminação. Assim como na grelhagem de carnes, o tipo de energia utilizada no assamento dos pães irá contribuir para os níveis de HPA no pão assado (BANSAL; KIM, 2015). A contaminação também pode ser oriunda das matérias-primas utilizadas, como a farinha e óleo (KACMAZ, 2019).

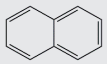
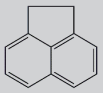
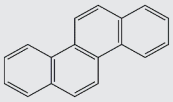
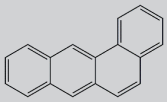
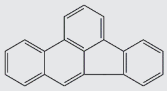
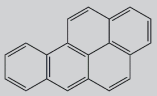
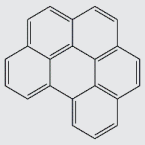
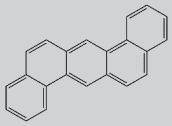
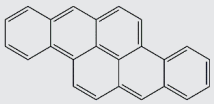
O BaP é considerado o HPA mais potente, e por isso, é utilizado como indicador da presença de outros HPAs (CARUSO, ALABURDA, 2008). Em 2005, a Comissão Europeia estabeleceu níveis máximos de BaP em alimentos como pescado, óleos e gorduras (2,0 g kg^{-1}), crustáceos, carnes e pescados defumados (5,0 g kg^{-1}) e alimentos infantis (1,0 g kg^{-1}) (EUROPEAN COMMISSION, 2005).

Em 2011, a CONTAM verificou que a utilização de BaP como indicador da presença de HPAs em alimentos não era adequada, e que um sistema com quatro substâncias específicas (PH4) ou "SUM of PAH4", que representa a soma de benzo[α]antraceno, benzo[α]pireno, benzo[b]fluoranteno e criseno, representaria valores mais adequados, ficando assim estabelecidos novos limites com a soma desses quatros contaminantes. Para óleos e gorduras, o limite máximo é de 10,0 μg kg^{-1}, para carne defumada 12,0 μg kg^{-1} e 1,0 μg kg^{-1} para alimentos à base de cereais (EUROPEAN COMMISION, 2011). No Brasil, o limite máximo estabelecido é de 0,03 g kg^{-1} de BaP em alimentos e 0,7 g L^{-1} em águas potáveis (BRASIL, 2004). Apesar de haver dados sobre ocorrência e toxicidade dos 16 compostos avaliados pela EFSA, até hoje, não há legislação para eles no Estados Unidos e nem limites máximos em alimentos.

Intoxicação por HPAs

Os HPAs são facilmente absorvidos no trato gastrointestinal quando presentes em lipídeos da dieta e sua absorção é facilitada na presença de sais biliares. Quando a exposição é pelo ambiente, a pele e os pulmões também os absorvem (CARUSO; ALABURDA, 2008; IDOWU et al., 2019). A biotransformação abrange uma série de reações de oxidação, redução, hidrólise e conjugação que são realizadas principalmente no fígado por enzimas da família dos Citocromos P450 (CARUSO, ALABURDA, 2008). A Figura 9 mostra o esquema de ligação HPAs-DNA.

Tabela 1. Principais HPAs.

Composto (abreviação)	Fórmula molecular	Massa molar (g mol^{-1})	Estrutura	Grupo IARC
Naftaleno (N)	$C_{10}H_8$	128		2B
Acenafteno (Ace)	$C_{12}H_{10}$	154,2		3
Criseno (CHR)	$C_{18}H_{12}$	228,3		2B
Benzo[α]antraceno (BaA)	$C_{18}H_{12}$	228,3		2B
Benzo[b]fluoretano (BbF)	$C_{20}H_{12}$	252,3		2B
Benzo[α]pireno (BaP)	$C_{20}H_{12}$	252,3		1
Benzo[g,h,i]pirileno (DBaIP)	$C_{22}H_{12}$	276,3		3
Dibenzo[a,h]antraceno (DBahA)	$C_{22}H_{14}$	278,4		2A
Dibenzo[a,h]pireno(DBahP)	$C_{24}H_{14}$	302,4		2B

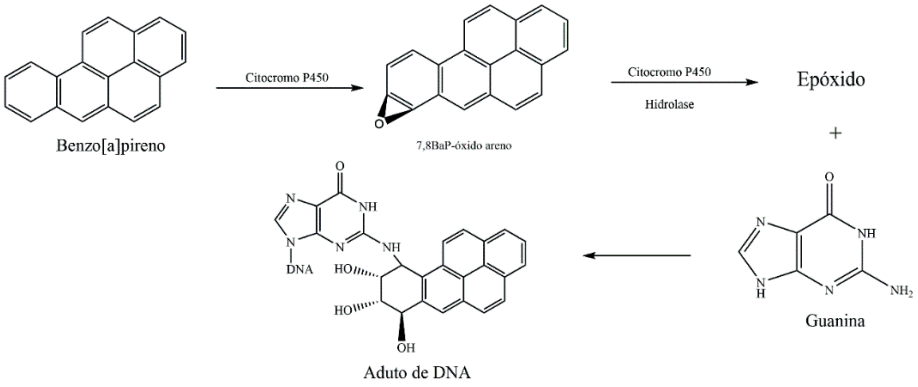
Fonte: Adaptado de Duedahl-Olesen (2013) e Kacmaz (2019).

A distribuição ocorre pelas células e tecidos, tais como pulmões, rins e tecidos adiposos (IDOWU et al., 2019). Uma vez absorvidos pelas células, os HPAs são ativados metabolicamente e tornam-se reativos a grupos nucleofílicos presentes nas células. A formação de adutos de DNA é responsável pela carcinogenicidade deles.

Os HPAs levam a efeitos mutagênicos e genotóxicos, tanto em ratos machos quanto em fêmeas, efeitos de desenvolvimento do feto, imunotóxicos, cardiovasculares e neurológicos. Os efeitos tóxicos reprodutivos dos HPAs se devem ao carácter lipofílico, que possibilita que os compostos cruzem a placenta. O dano mais frequente é a imunossupressão, que é a tendência ao aumento da susceptibilidade dos indivíduos expostos desenvolverem câncer ou doenças infecciosas (HUANG; PENNING, 2014).

As estratégias para redução da contaminação de alimentos por HPAs incluem o consumo de carnes magras, evitar contato direto do alimento com a fumaça, utilização de temperaturas mais baixas e utilização de fornos elétricos ao invés de carvão vegetal (BANSAL; KIM, 2015).

Figura 9. Ativação metabólica do Benzo[a]pireno.



Fonte: Adaptado de Meire, Azeredo e Torres (2007).

N-Nitrosaminas

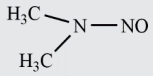
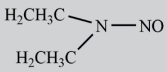
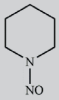
N-nitrosamina é um termo geral usado para designar um grupo de compostos N-nitrosos (NOCs), com o grupo funcional N-N=O. Esses compostos são conhecidos por induzirem a formação de tumores em diversas espécies, além de apresentarem ação teratogênica e mutagênica. A exposição humana a estes compostos acontece pela alimentação e água, dentre outros (FERNÁNDEZ-ALBA; AGÜERA, 2005). A contaminação dos alimentos com nitrosaminas está relacionada à processos de fabricação, armazenamento, cozimento e migração de materiais da embalagem, podendo ocorrer também em alimentos que não passaram por processamento, como vegetais (HABERMEYER; EISENBRAND, 2019).

Nos alimentos curados, o nível de nitratos varia entre 10 e 200 ppm, sendo que carnes curadas submetidas à elevadas temperaturas contêm níveis mais altos de nitrosaminas. Os sais de nitrito, utilizados como aditivos na indústria alimentícia, têm por função evitar a propagação de micro-organismos em alimentos, principalmente *Clostridium botulinum*. Os sais de nitrito também são responsáveis pela cor e sabor de carnes curadas. O nitrito de potássio (salitre) é utilizado como agente de cura em carnes há muitos séculos, sendo reduzido a nitrito durante a cura (BJELDANES; SHIBAMOTO, 2014). O uso desses sais é discutível dada a possibilidade de originarem compostos nitrosos de ação carcinogênica (CREWS, 2014). No Brasil, a soma de nitrito e nitratos em carnes industrializadas não deve ultrapassar 0,015 g 100 g^{-1} expressa como nitrito de sódio (BRASIL, 2019).

Quimicamente, existem duas categorias principais de NOC: N-nitrosaminas e N-nitrosamidas, sendo as primeiras quimicamente mais estáveis (HABERMEYER; EISENBRAND, 2019). A nitrosação de aminas secundárias e terciárias produz nitrosaminas estáveis e as aminas primárias resultam em compostos nitrosos instáveis (nitrosamidas) (BJELDANES; SHIBAMOTO, 2014). A estrutura das N-nitrosaminas de maior ocorrência nos alimentos é mostrada na Tabela 2.

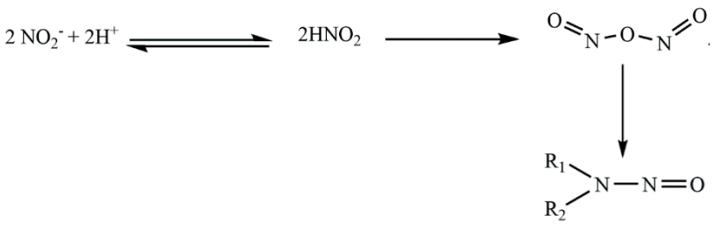
A formação de N-nitrosamina ocorre pela oxidação de NO a NO_2 em condições ácidas, como a do estômago, e então para N_2O_3 e N_2O_4, onde cada composto reage com aminas secundárias para formar N-nitrosaminas (CREWS, 2014). Compostos como o ácido ascórbico inibem ou previnem a formação de N-nitrosaminas, e felizmente, a maioria desses compostos apresentam baixa toxicidade. Os prováveis precursores de NPIP e NPIR incluem prolina e lisina, respectivamente. A DEN é derivada da creatina e a NPIR também pode ser formada pela descarboxilação da N-nitroso prolina (NPRO) (DUTRA, RATH, REYES, 2007). A Figura 10 exemplifica o mecanismo de nitrosação.

Tabela 2. Principais compostos N-nitrosos.

Nome	Estrutura	Classificação IARC
N-dimetilnitrosamina (DMN ou NDMA)		2A
N-dietilnitrosamina (DEN)		2A
N-nitroso pirrolidina (NPIR ou NOIR)		2B
N-nitrosopiperidina (NPIP)		2B

Fonte: Adaptado de Crews (2014) e Dutra, Rath e Reyes (2007).

Figura 10. Formação de N-nitrosaminas.



Fonte: Adaptado de Habermeyer e Eisenbrand (2019).

Os alimentos que frequentemente são contaminados por N-nitrosaminas são carnes curadas ou não, queijos, peixe defumado, alimentos secos via combustão de gases como malte, produtos lácteos e especiarias, e alguns vegetais (CREWS, 2014). A formação de N-nitrosaminas em carnes e produtos cárneos pode ocorrer como resultado da salga e/ou cura, que é responsável pela geração de NO a partir de nitrito e nitrato (HABERMEYER; EISENBRAND, 2019).

Normalmente, as carnes são curadas com nitrito na forma de sais de potássio ou sódio, e a carne de porco se destaca no conteúdo de N-nitrosaminas porque contém aminas

secundárias como dimetilamina, prolina, piperidina e pirrolidina, que são precursores para formação dos NOC (CREWS, 2014). Nas carnes curadas, os níveis de DMN encontrados variam entre 1 e 40 ppb em bacon frito enquanto em embutidos defumados o valor máximo foi de 6 ppb (BJELDANES; SHIBAMOTO, 2014). Alternativas para reduzir o potencial de toxicidade dos NOC incluem redução de nitritos nos sais de cura, redução de adição de nitrato na carne e adição de inibidores de nitrosação como ácido ascórbico e tocoferóis (HABERMEYER; EISENBRAND, 2019).

Em pescado, DMN é a N-nitrosamina reportada com maior frequência, detectada em pescados assados, defumados ou em conserva, em concentrações que variam de 0,5 a 8,0 mg kg^{-1}, demonstrando que o método de preparo tem influência nos níveis desses contaminantes. Pescados aquecidos sobre chama de gás (alto conteúdo de NOx) mostrou aumento de 30 vezes no conteúdo de DMN, enquanto pescado cozido em chapa elétrica não mostrou diferença no conteúdo de N-nitrosaminas (HABERMEYER; EISENBRAND, 2019). Os principais precursores de DMN em pescado são a dimetilalamina, trimetilamina e óxido de trimetilamina, que podem sofrer nitrosação resultando em DMN. A concentração final de N-nitrosaminas no pescado irá depender do modo de preparo, espécie, idade, ambiente e condições de estocagem (DUTRA, RATH, REYES, 2007).

Nas bebidas alcoólicas a principal N-nitrosamina encontrada é a DMN. Na cerveja esse composto é resultado do processo de malteação, sendo os precursores presentes no malte a hordenina, gramina e dimetilamina (HABERMEYER; EISENBRAND, 2019). O malte submetido à secagem com aquecimento direto introduz nitrito na mistura, por isso, a secagem por ar é mais adequada para reduzir a contaminação por N-nitrosaminas (BJELDANES; SHIBAMOTO, 2014).

Na revisão feita por Gushgari e Hald (2018) foi verificado que a média de nitrosaminas total em bebidas foi de 5 $\mu g\ kg^{-1}$, sendo os principais NOC, DMN e DEN nas 13 amostras de bebidas e em bebidas alcoólicas DMN foi N-nitrosamina de maior ocorrência nas 41 amostras. Fan e Lin (2018) analisaram 10 amostras de diferentes tipos de cerveja, encontrando 7 NOCs diferentes, sendo o NPIP o composto encontrado em maiores níveis (3,54 a 4,96 $\mu g\ L^{-1}$).

As N-nitrosaminas são encontradas em outros alimentos como queijo e leite em pó, temperos, sopa e café instantâneo. Nos temperos foram encontrados principalmente NPIP, NPIR e DMN (HABERMEYER; EISENBRAND, 2019). Nos leites em pó e queijo as concentrações de NOC são baixas (≈ 1,5 $\mu g\ kg^{-1}$ de DMN) (HABERMEYER; EISENBRAND, 2009).

Em relação ao tratamento térmico, a fritura da carne produz mais N-nitrosaminas do que a grelhagem ou assamento. O cozimento de bacon em micro-ondas resulta em menores níveis de N-nitrosaminas em comparação à fritura, e o cozimento de alimentos por aquecimento indireto como micro-ondas produz menos DMN do que os métodos diretos de aquecimento.

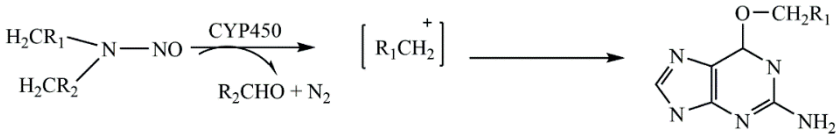
As carnes de porco, novilhos, javalis e touro se destacam por naturalmente apresentarem níveis na ordem 10 μg kg^{-1} de DMN, e após o assamento em forno a 250 °C, a contaminação aumentou cerca de 14 vezes. As carnes que naturalmente apresentavam baixos níveis de DMN (≈ 3,0 μg kg^{-1}) antes do assamento, como as de cabra, carneiro e ovelha tiveram aumento de cerca de 40 vezes na concentração de DMN após o assamento (CREWS, 2014; RYWOTYCKI, 2007).

Tendo em vista que eliminar as N-nitrosaminas da dieta humana é improvável, visto que elas estão presentes nos mais diversos alimentos e até mesmo na água potável, reduzir os níveis de sais nos alimentos curados é uma estratégia interessante para mitigar a contaminação, assim como o métodos de preparo do alimento onde não é utilizada fumaça direta. O estudo sobre a formação de NOC via embalagens também deve ser considerado, principalmente quando o alimento fica armazenado por longos períodos.

Intoxicação por n-nitrosaminas

Após administração oral, as N-nitrosaminas são absorvidas no trato gastrointestinal, distribuídas pela corrente sanguínea e rapidamente metabolizadas no fígado. Para que elas apresentem efeito tóxico, precisam ser ativadas metabolicamente, sendo o primeiro passo a hidroxilação do carbono α, mediado pelo citocromo P450 (CYP450). Essa ativação resulta na formação de α-hidroxil-N-nitrosamina, que é um composto instável, que por sua vez, libera um aldeído instável que reagem com DNA, RNA, proteínas e glutationa, o que pode dar início a formação de câncer (BJELDANES; SHIBAMOTO, 2014; DUTRA, RATH, REYES, 2007; HABERMEYER; EISENBRAND, 2009). A Figura 11 mostra o diagrama da formação dos adutos de DNA na base guanina.

Figura 11. Ativação metabólica de NOCs



Fonte: Adaptado de Bjeldanes e Shibamoto (2014), Dutra, Rath e Reyes (2007), Habermeyer e Eisenbrand (2019).

Aproximadamente 300 diferentes N-nitrosaminas foram testadas e a maioria delas podem induzir câncer em animais de experimentação. Alguns compostos dessa classe podem induzir câncer em pelo menos 40 espécies animais diferentes, incluindo primatas (FERNÁNDEZ-ALBA; AGÜERA, 2005), sugerindo que humanos também sejam sensíveis aos efeitos tóxicos desses compostos. Os órgãos mais afetados foram o fígado, pulmões, rins, pâncreas e esôfago (CREWS, 2014).

Os estudos concentram-se em DMN e DEN pois esses compostos são frequentes em alimentos e são classificados como carcinógenos para humanos (IARC, 1978). A exposição aguda à DMN pode causar danos ao fígado em humanos, e os sintomas incluem náusea, vômito, dor de cabeça e mal-estar. Exposição crônica causa dano no fígado e baixa contagem de plaquetas. Dados publicados estabeleceram que a DMN é segura em doses menores que 0,002 mg dia^{-1} (FERNÁNDEZ-ALBA; AGÜERA, 2005).

Algumas nitrosaminas podem causar câncer no feto quando ingeridas durante a gestação, principalmente quando ingeridas até o 10º dia da gestação de ratos fêmeas. A DMN tem como órgãos alvo o seio nasal, fígado e rins, enquanto a DEN tem como órgãos alvo o nariz, pulmão e brônquios (BJELDANES; SHIBAMOTO, 2014). Ensaios de mutagenicidade usando DMN tiveram resultados positivos para *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, e *Neurospora crassa* (ROBLES, 2014).

CONTAMINANTES FORMADOS A PARTIR DE LIPÍDEOS

Os lipídeos desempenham papel importante na qualidade dos alimentos, principalmente em relação à cor, textura e sabor. São fonte de energia metabólica, de ácidos graxos (AG) essenciais e vitaminas lipossolúveis. Apesar do valor nutritivo, durante o processamento eles podem sofrer degradação, gerando produtos tóxicos como cloropropano, acroleína e malonaldeído (MDA) (ZORRO et al., 2012). Muitas vezes um único contaminante pode ser originado por diversas vias e de diversos precursores, como no caso da acroleína, que pode ser formada tanto por carboidratos quanto por lipídeos.

As etapas de processamento dos alimentos que são capazes de gerar compostos tóxicos a partir dos lipídeos são principalmente aquelas que envolvem calor, fermentação e armazenamento (FRANKEL,2014), semelhante as outras macromoléculas. Durante a fritura os alimentos absorvem óleo o que causa mudanças químicas e físicas, e por consequência, deterioração dos compostos que anteriormente apresentavam valor nutricional. Os ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) são particularmente susceptíveis à oxidação durante o tratamento térmico, formando compostos tóxicos (KUBOW, 1990).

Dentre os compostos químicos tóxicos encontrados em alimentos, os produtos da oxidação lipídica se destacam porque são inevitavelmente produzidos durante a manufatura, armazenamento e preparo do alimento. Após a ingestão dos mesmos, uma série de reações oxidativas levam a formação de produtos com elevado potencial tóxico (ESTÉVEZ et al., 2017).

A oxidação de lipídeos é uma das grandes preocupações na indústria alimentícia, visto que causa deteriorações físicas e químicas além de perdas em nutrientes. Os resultados da oxidação são alteração no sabor e aparecimento de odores e sabores característicos

do ranço, o que causa no consumidor rejeição e depreciação do produto (SHAHIDI; JOHN, 2013; WARAHO et al., 2013).

Durante a oxidação dos lipídeos ocorre a formação de peróxidos, que não apresentam nenhuma característica indesejável do ponto de vista sensorial, porém, são instáveis e se decompõem rapidamente formando compostos voláteis aromáticos, conhecidos como *offflavours* (SHAHIDI; JOHN, 2013). A peroxidação de lipídeos envolve a formação irreversível de radicais oriundos da quebra da ligação dupla de ácidos graxos insaturados (AGI), consumo de oxigênio, rearranjo das duplas ligações e produção de diversos produtos como álcoois, aldeídos e cetonas. A quantidade de AG e a composição deles são os principais fatores que influenciam na oxidação de lipídeos, sendo o perfil deles mais importante que a quantidade, visto que a susceptibilidade de peroxidação depende do grau de insaturação do AG. Essas reações reduzem a quantidade de AG no alimento, resultando em redução do valor nutricional (PATEIRO et al., 2019).

As principais fontes de lipídeos sujeitas à oxidação são os óleos vegetais, como o de soja, milho, canola, trigo e arroz, que possuem níveis elevados de AGI como ácido oleico, linoleico e linolênico. As gorduras animais contêm altos níveis de glicerídeos e gorduras saturadas como ácido palmítico e esteárico. Os óleos de peixes e de animais marinhos são os que possuem maior teor de AGI (SILVA et al., 1999), por consequência, quando submetidos ao tratamento térmico, serão as principais fonte de peróxidos e seus produtos.

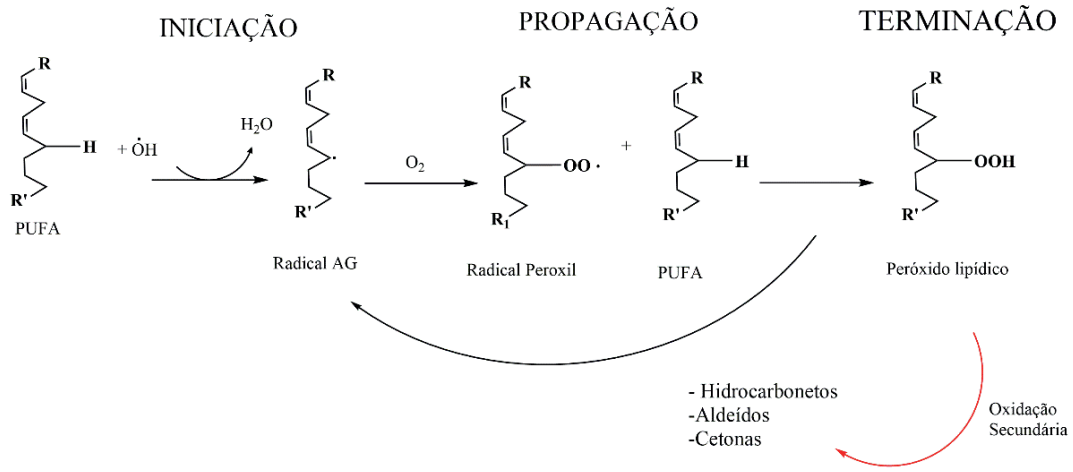
Nas temperaturas elevadas usadas em frituras, ao redor de 180°C, ocorre a formação de dímeros, o que provoca o aumento na viscosidade do óleo. A formação de ácidos graxos livres, escurecimento do óleo e aumento da formação de espuma e fumaça também ocorrem durante a fritura (MARQUES; VALENTE; ROSA, 2009).

O aumento da concentração de radicais livres é muito mais elevado nos alimentos submetidos a fritura do que em alimentos armazenados ou processados em temperaturas moderadas. A oxidação dos lipídeos pode ser dividia em três fases principais: iniciação, propagação e terminação. Para que essas reações iniciem, é necessário que haja absorção de energia ou reações redox. No primeiro caso, a energia é absorvida quando ocorre o tratamento térmico dos alimentos que contém lipídeos em sua composição. Os metais também podem ser considerados potentes catalisadores das reações de iniciação. Na fase inicial ocorre interação entre um iniciador com o oxigênio, que uma vez ativado pode reagir com o ácido graxo, ocorrendo a remoção do átomo de hidrogênio do carbono adjacente à ligação *cis*. Como resultado, ocorre a formação de radicais alílicos. A reação segue em cadeia e só termina quando as reservas de ^{AGI} e oxigênio estiverem esgotadas (FERRARI, 1998; FRANKEL, 2014). A Figura 12 mostra o esquema de oxidação de lipídeos insaturados.

Na fase de propagação ocorre a formação de diversos peróxidos, e é nessa fase onde ocorre a mensuração deles. Entretanto, devido à instabilidade desses compostos, a

determinação deles é limitada apenas as fases iniciais da oxidação. Com o consumo dos substratos inicia-se a fase de terminação, que tem por característica a formação de produtos estáveis, sendo eles: álcoois, ésteres, cetonas e hidrocarbonetos. Também ocorre a produção de compostos de rearranjo dos monohidroperóxidos e produtos com elevado peso molecular, que são resultantes das reações de dimerização e polimerização (FERRARI,1998; ROMAN et al, 2013).

Figura 12. Esquema de oxidação de ácidos graxos insaturados.



Fonte: Adaptado de Pateiro et al. (2019).

Intoxicação por produtos da oxidação de lipídeos

A produção de radicais livres durante a oxidação de lipídeos exerce pequena influência na toxicidade do alimento, visto que são compostos muito reativos e que se degradam rapidamente. Porém, os produtos da oxidação secundária, como cetonas e aldeídos são considerados tóxicos, pois afetam a sinalização celular. Dentre esses produtos secundários, se destacam o malondialdeído (MDA), também conhecido como propanodiol, 4-hidroxi-2(E)--nonenal (HNE), oriundo do ácido graxo ω-6 e o 4-hidroxi-2(E)-hexenal (HHE), oriundo do ω-3 (GUÉRAUD et al., 2010).

A maioria dos produtos da oxidação lipídica são capazes de atravessar a membrana celular via difusão passiva. A metabolização desses produtos é rápida e completa na maioria das células. O primeiro passo é a conjugação com glutationa (GSH), e outras modificações na função aldeído podem ocorrer, como a redução em álcool ou oxidação em ácido, catalisada pelas enzimas redutases, formando 1,4-dihidroxinoneno (DHN) e ácido 4-hidroxinonenoico (4-HNA) quando o produto secundário é o HNE. Quando há esgotamento de GSH por outros xenobióticos, ocorre redução do conjugado GSH-HNE e aumento de HNE não metabolizado, o que por consequência, aumenta a toxicidade do HNE. Os derivados de HNE podem ser

metabolizados pelo citocromo P450 em ácido mercaptúrico nos rins, que é excretado na urina (GUÉRAUD et al., 2010).

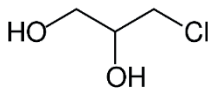
Dentre os efeitos tóxicos do HNE, doses maiores que 100 μmol L^{-1} causam lise celular após 60 min de administração, doses de 1 a 50 μmol L^{-1} causam inibição da síntese de DNA e de proteínas, aumento na mutação de células ovarianas de ratos e doses menores que 1 μmol L^{-1} causam efeitos genotóxicos em culturas de hepatócitos de ratos (ESTERBAUER, 1993). HNE pode formar ligações com cadeias laterais de cisteína, histidina e lisina. Ele também é capaz de mudar a estrutura de proteínas pela formação de base de Schiff (ESTEVÉZ, 2017).

Em relação ao MDA, sua toxicidade está relacionada ao caráter eletrofílico, que reage com aminoácidos e grupos tiol. Esse composto pode reagir com a lisina, GSH, proteínas e DNA. Quando o MDA se liga ao DNA, ocorre alteração na estrutura, formando um conjugado fluorescente, que emite luz a 460 nm e absorve a 390 nm. A mutagenicidade do MDA foi confirmada por estudos com cepas de *Salmonella thphimurium* e *Escherichia coli*, o que levou a classificação do MDA como um mutagênico fraco (VACA; WILHELM; HARMS-RINGDAHL, 1988). Em 1983, foi sugerido que o mecanismo de mutagenicidade do MDA envolve a adição de uma base do ácido nucleico à molécula de MDA, desidratação e adição de outro nucléofilo ao restante da molécula de MDA (BASU; MARNETT, 1984).

Cloropropano e seus ésteres

Os ésteres de ácidos graxos 3-cloropropano-1,2-diol, que podem gerar 3-cloropropano-1,2-diol livre (3-MCPD) por hidrólise sob certas condições, são considerados fatores potenciais de riscos à segurança de alimentos. O 3-MCPD possui fórmula química $C_3H_7ClO_2$ (Figura 13), e nos seus ésteres os grupos hidroxila são parcialmente ou completamente esterificados com ácidos graxos. Semelhante aos acilglicerois, os ésteres 3-MCPD podem ser classificados em diésteres 3-MCPD e monoésteres 3-MCPD, dependendo do número de grupos hidroxila esterificados com ácidos graxos (BUHRKE; WEISSHAAR; LAMPEN, 2011; ZHOU et al., 2014).

Figura 13. Estrutura química do 3-MCPD livre.

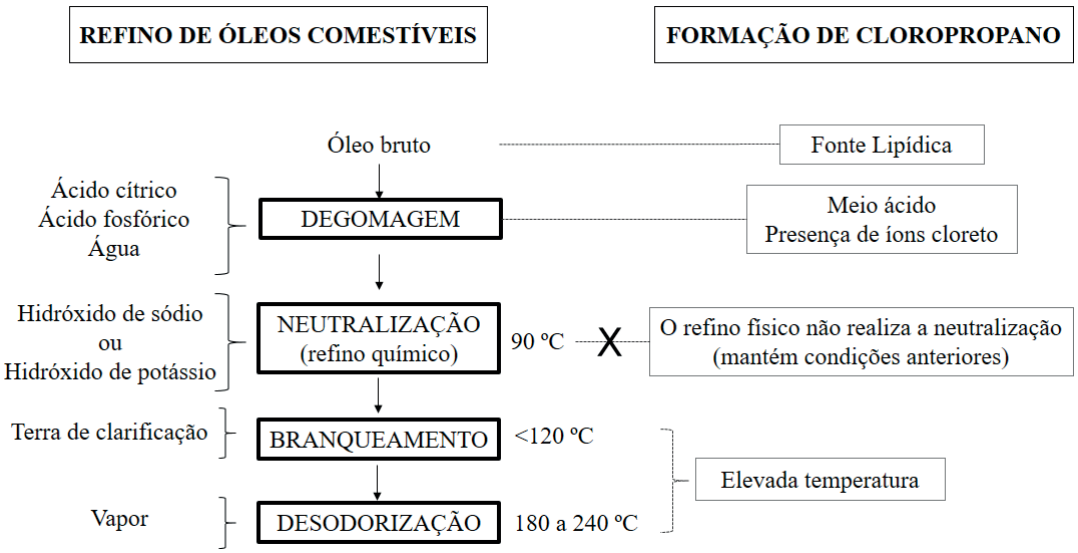


O 3-MCPD e seus ésteres como contaminantes alimentares produzidos pelo calor têm sido detectados em uma variedade de produtos alimentícios, como proteínas vegetais hidrolisadas com ácido, carne, alimentos defumados, alimentos derivados de cereais, pão e café (CFS, 2012; LI et al., 2016; VICENTE et al., 2015). Contudo, o fato que explica a presença

deste contaminante em muitos destes alimentos é a destacada ocorrência de ésteres de 3-MCPD em óleos comestíveis, especialmente no óleo de palma refinado (MERKLE et al., 2018; GOH et al., 2019; SIM et al., 2020).

Quimicamente, os ésteres de 3-MCPD são considerados intermediários na formação de 3-MCPD, surgindo em alimentos processados a partir da reação de lipídeos (gorduras e óleos) com íons cloreto (sal) (STADLER et al., 2007). A formação de cloropropanois a partir de acilgliceróis (mono-, di- e tri-) e íons cloreto é induzida pelo aquecimento e sob condições ácidas, e os cloroésteres resultantes liberam o MCPD por reação de hidrólise que podem ser catalisadas por lipases (ARISSETO; MARCOLINO; VICENTE, 2013).

Figura 14. Diagrama do processamento geral de refino de óleos comestíveis e a influência na formação de cloropropano.



Os ésteres de MCPD são formados quase que exclusivamente durante o estágio de desodorização no processo de refino de óleos comestíveis, embora possa ocorrer alguma formação durante o branqueamento também. O diagrama da Figura 14 ilustra o efeito das etapas de refino de óleos comestíveis na formação de cloropropano.

No caso do refino físico de óleos comestíveis, o tratamento com ácido durante a degomagem, bem como a redução na dosagem da terra de branqueamento, resultam em níveis ligeiramente mais altos de éster de 3-MCPD no produto desodorizado (STADLER, 2012). O efeito da temperatura utilizada durante as etapas finais do refino de óleos comestíveis também é acentuado, por exemplo, o óleo de palma desengordurado e branqueado sujeito a temperaturas variando de 180 a 250 °C apresentou maiores quantidades de ésteres de 3-MCPD e 2-MCPD (aproximadamente 4,0 e 2,5 mg kg^{-1}, respectivamente) a temperaturas de desodorização de 250 °C (por um período superior a 1 h) (HRNCIRIK; VAN DUIJN, 2011).

A proporção de ésteres 3-MCPD para 2-MCPD também demonstra ser dependente da temperatura, variando de cerca de 4:1 a 180 °C para 2:1 a 250 °C. Além disso, durante o refino do óleo de palma, o cloreto, usado como agente de cloração, afeta a formação dos

derivados de 3-MCPD, quando um agente de cloração solúvel em óleo é usado, este efeito é ainda maior (ILSI, 2009).

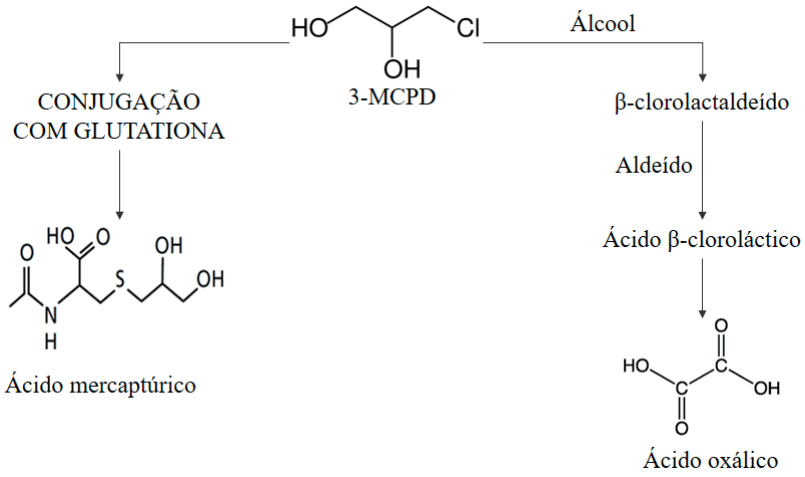
Intoxicação por cloropropano e seus ésteres

A administração de 3-MCPD em ratos, mostrou que seu metabolismo é intenso e ocorre rápida distribuição sistêmica nos lipídeos teciduais, incluindo fígado, rim, cérebro e testículos (LYNCH et al., 1998). Conforme esquema da Figura 15, são propostas duas rotas de biotransformação para o metabolismo de 3-MCPD: conjugação com glutationa com formação de ácidos mercaptúricos; e a outra termina em oxalato (LAMPEN, 2014). Além das vias propostas, em bactérias ocorre a decloração do 3-MCPD, produzindo glicidol, um mutagênico e carcinogênico conhecido, contudo não foi detectada a formação dele em mamíferos, sugerindo a não genotoxicidade *in vivo* (LYNCH et al., 1998).

A oxidação do 3-MCPD até ácido oxálico, passando pelo β-clorolactaldeído, com posterior conversão em ácido β-cloroláctico, é considerada a principal via metabólica do 3-MCPD em mamíferos (LYNCH et al., 1998; LAMPEN, 2014). No entanto, estudos toxicocinéticos em ratos indicam que a via de desintoxicação por conjugação com glutationa pode desempenhar papel importante, pois após uma única aplicação oral de 3-MCPD (1,8 mg kg^{-1} de peso corporal), cerca de 10,5% e 27,5% da dose foram encontradas como ácido mercaptúrico na urina de ratos fêmeas e machos, respectivamente. Além disso, apenas quantidades residuais de β-clorolactato foram recuperadas na urina destes animais (BAROCELLI et al., 2011).

A toxicidade aguda por via oral de ésteres de 3-MCPD para camundongos ocorre com LD_{50} de 2678 mg kg^{-1} de peso corporal para o monopalmitato de 3-MCPD, para o dipalmitato de 3-MCPD é superior a 5000 mg kg^{-1} de peso corporal. O monopalmitato de 3-MCPD diminui de forma dependente o peso corporal médio e causa aumento significativo do nitrogênio da ureia sérica e creatinina nos animais. As principais alterações histopatológicas em camundongos alimentados com dipalmitato de 3-MCPD são necrose tubular renal, conversão de proteínas, diminuição de espermatídeos nos túbulos seminíferos e indução à formação de tumores (LIU et al., 2012). Como o potencial de risco primário dos ésteres de 3-MCPD está associado a liberação do composto original (3-MCPD) durante a digestão, os dados sobre a toxicocinética e o metabolismo dos ésteres no trato gastrointestinal são usados para a avaliação de riscos (SUNAHARA; PERRIN; MARCHESINI, 1993).

Figura 15. Diagrama das rotas metabólicas do 3-MCPD.



Fonte: Adaptado de LAMPEN, 2014.

Uma questão importante sobre a presença de ésteres de 3-MCPD nos óleos refinados é que o MCPD pode ser liberado no trato digestivo pela ação das lipases intestinais e, assim, contribuir para a exposição ao MCPD (ILSI, 2009). Devido às quantidades relativamente mais altas de "3-MCPD esterificado liberado" *versus* "3-MCPD livre", justifica-se a preocupação, particularmente no caso de formulações para bebês, devido ao peso corporal dos bebês (STADLER, 2012). No entanto, a extensão da hidrólise é um fator determinante, pois as lipases têm preferência de ação em ligações específicas, indicando uma hidrólise incompleta (LAMPEN, 2014).

As formas esterificadas de 3-MCPD apresentam efeitos tóxicos em animais de experimento, o que levou a IARC a classificá-los como possivelmente cancerígeno para seres humanos, no Grupo 2B (IARC, 2012). O Comitê Científico de Alimentos da Comissão Europeia concluiu que o 3-MCPD é um carcinogêneo não genotóxico e estabeleceu como dose diária aceitável 2 $\mu g\ kg^{-1}$ de peso corporal (SCF, 2001). A recomendação desta comissão é de teores máximos de 20 $\mu g\ kg^{-1}$ (para o produto líquido contendo 40% de matéria seca, correspondente a um teor máximo de 50 $\mu g\ kg^{-1}$ na matéria seca) para a ocorrência de 3-MCPD em proteínas vegetais hidrolisadas e molho de soja (CE, 2006).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Etapas do processamento de alimentos podem ser responsáveis por formar diversos compostos tóxicos, principalmente em decorrência do fornecimento de calor à matriz alimentar. Tendo em vista que muitas vezes as operações unitárias essenciais para tornar o alimento palatável, ou até mesmo consumível, também são aquelas que geram os compostos

tóxicos, o controle deste tipo de contaminação se torna um desafio, especialmente porque os fatores são múltiplos, dificultando a predição da ocorrência.

A IARC classifica os contaminantes abordados desde a categoria 3, até a categoria 1 (HPA benzo[α]pireno, por exemplo), o que reforça o efeito tóxico que estes apresentam. Além disso, está comprovada a ocorrência destes diferentes contaminantes em diversas matrizes alimentares após o processamento de alimentos, tanto de origem vegetal, como de origem animal. Apesar da problemática que envolve a formação destes compostos durante o processamento de alimentos, a legislação brasileira ainda é escassa quanto aos limites toleráveis, enquanto a Comissão Europeia estabelece limites máximos aceitáveis para os HPAs em diversos alimentos, no Brasil o MS restringe a legislação à água potável; a presença de acroleína é regulamentada pelo MAPA apenas para o álcool destinado a fabricação de aguardente; e sais de nitrito e nitrato foram recentemente regulamentados pela ANVISA quanto seu limite máximo em produtos cárneos.

O conhecimento das condições que propiciam a formação destes compostos ficou demonstrado pelo conteúdo abordado neste capítulo, visando alertar e subsidiar pesquisas para mitigar a formação destes contaminantes num esforço conjunto dos diferentes profissionais atuantes em segurança alimentar.

REFERÊNCIAS

1. ABRAHAM, K., ANDRES, S., PALAVINSKAS, R., BERG, K., APPEL, K.E., LAMPEN, A. Toxicology and risk assessment of acrolein in food. **Molecular Nutrition & Food Research,** v. 55, p. 1277-1290, 2011.

2. ABRAMSON-ZETTERBERG, L.; WONG, J.; ILBÄCK, N. G. Acrylamide tissue distribution and genotoxic effects in a common viral infection in mice. **Toxicology**, v. 211, p. 70-76, 2005.

3. Aktağ, I.G., Gökmen, V. A survey of the occurrence of α-dicarbonyl compounds and 5-hydroxymethylfurfural in dried fruits, fruit juices, puree and concentrates. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 91, p. 103523, 2020.

4. ALDINI, G., ORIOLI, M., CARINI, M. Protein modification by acrolein: relevance to pathological conditions and inhibition by aldehyde sequestering agents. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 55, p. 1301-1319, 2011.

5. AMES, J. M. The Maillard reaction. In B. J. F. Hudson (Ed.), **Biochemistry of food proteins**. London: Elsevier, p. 99-153, 1992.

6. AMEUR, L. A.; TRYSTRAM, G.; BIRLOUEZ-ARAGON, I. Accumulation of 5-hydroxymethyl--2-furfural in cookies during the backing process: Validation of an extraction method. **Food Chemistry**, v. 98, n. 4, p. 790-796, 2006.

7. ANESE, M.; BOT, F.; SUMAN, M. Furan and 5-hydroxymethylfurfural removal from high-and low-moisture foods. **LWT-Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p.529-532, 2014.

8. ANESE, M.; SUMAN, M. Mitigation strategies of furan and 5-hydroxymethylfurfural in food. **Food research international**, v. 51, n. 1, p. 257-264, 2013.

9. ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. Viçosa, MG, 6 ed. UFV, 2019.

10. ARISSETO, A. P. **Furan in processed foods. In: Food Hygiene and Toxicology in Ready--to-Eat Foods**. Academic Press, 2016. p. 383-396.

11. ARISSETO, A.P., MARCOLINO, P.F.C., VICENTE, E. Ésteres de cloropropanois e de glicidol em alimentos. **Química Nova**, v. 36, n. 9, p. 1406-1415, 2013.

12. ARISSETO, A.P.; VICENTE, E.; FURLANI, R.P.Z.; UENO, M.S.; PEREIRA, A.L.D.; TOLEDO, M.C.F. Occurrence of furan in commercial processed foods in Brazil. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 29, p. 1832-1839, 2012.

13. BALOGH, Z., GRAY, J.I., GOMAA, E.A., BOOREN, A.M. Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, n. 5, p. 395-401, 2000.

14. BANSAL, Vasudha; KIM, Ki-Hyun. Review of PAH contamination in food products and their health hazards. **Environment international**, v. 84, p. 26-38, 2015.

15. BASU, A.; MARNETT,L.; Molecular requirements for the mutagenicity of malondialdehyde and related acroleins. **Cancer research**, v. 44, p. 2848-2854, 1984.

16. BASU, A.; MARNETT, L.; ROMANO, L. Dissociation of malondialdehyde mutagenicity in Salmonella typhimurium from its ability to induce interstrand DNA cross-links. **Mutation Research/ Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 129, n. 1, p. 39-46, 1984.

17. BARISIC, V.; FLANJAK, I.; TOT, A.; BUDEC, M.; BENSIC, M.; JOZINOVIC, A.; BABIC, J.; SUBARIC, D.; MILICEVIC, B.; ACKAR, D. 5-hydroxymethylfurfural and acrylamide content of cocoa shell treated with high voltage electrical discharge. **Food Control**, v. 110, 2020

18. BAROCELLI, E.; CORRADI, A.; MUTTI, A.; PETRONINI, P. G. **Comparison between 3-MCPD and Its Palmitic Esters in a 90-day Toxicological Study**; Scientific Report Submitted to EFSA, 2011.

19. BARZEGAR, F., KAMANKESH, M., MOHAMMADI, A. Heterocyclic aromatic amines in cooked food: A review on formation, health risk-toxicology and their analytical techniques. **Food Chemistry**, v. 280, p. 240-254, 2019.

20. BJELDANES, L. F.; SHIBAMOTO, T. **Introdução à Toxicologia de Alimentos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

21. BOON, P. E.; DE MUL, A.; VAN DER VOET, H.; VAN DONKERSGOED, G.; BRETTE, M.; VAN KLAVEREN, J. D. Calculation of dietary exposure to acrylamide. **Mutatation Research**, v. 580, p. 143-155, 2005.

22. BRASIL – MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), **Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça**. Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005.

23. BRASIL - Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. **Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências**. Diário Oficial da União; Brasília, 26 mar 2004.

24. BRASIL – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 272, de 14 de março de 2019. **Aditivos alimentares para uso em carnes e produtos cárneos, suas respectivas funções, limites máximos e condições de uso (notas),** 2019.

25. BUHRKE, T., WEISSHAAR, R., LAMPEN, A. Absorption and metabolism of the food contaminant 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) and its fatty acid esters by human intestinal Caco-2 cells. **Archives of Toxicology**, v. 85, n. 10, p. 1201-1208, 2011.

26. BURKA, L.T.; WASHBURN, K.D.; IRWIN, R.D.. Disposition of [14C]-furan in the male F344 rat. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues**, v. 34, p. 245-257, 1991.

27. CAPUANO, E.; FOGLIANO, V. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. **LWT- Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 793-810, 2011.

28. CARUSO, M. S. F.; ALABURDA, J. Polycyclcic aromatic hydrocarbons - benzo(a)pyrene: a review. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n.1, p. 1-27, 2008.

29. CE - Comissão das Comunidades Europeias. **Regulamento Nº 1881/2006 da Comissão de 19 de Dezembro de 2006 que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios.** JOUE L364; 5-24.

30. CESA, S. Malondialdehyde contents in infant milk formulas. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 7, p. 2119-2122, 2004.

31. CFS – Center for Food Safety. **Risk Assessment Studies. Report nº 50 – Fatty acids esters of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in food. Food and Environmental Hygiene Department.** The Government of the Hong Kong Special Administrative Region. 2012.

32. CHEN, L. J.; HECHT, S. S.; PETERSON, L. A., Identification of cis-2- butene-1,4-dial as a microsomal metabolite of furan. **Chemical Research in Toxicology**, v. 8, p. 903-906, 1995.

33. CHENG, J.; ZHANG, X.; MA, Y.; TANG, Z. Concentrations and distributions of polycyclic aromatic hydrocarbon in vegetables and animal-based foods before and after grilling: Implication for human exposure. **Science of The Total Environment**, v. 690, p. 965-972, 2019.

34. CLAUS, A.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Acrylamide in cereal products: A review. **Journal of Cereal Science**, v. 47, n. 2, p. 118-133, 2008.

35. CODEX ALIMENTARIUS. **Revised codex standard for honey**. Codex Stan, p. 12-1982, 2001.

36. COE – Council of Europe - **IOFI of 21.10.92 on the determination of heterocyclic aromatic amines in process flavours**.

37. CORTACERO-RAMÍREZ, S., ROMÁN, D. A., SEGURA-CARRETERA, A., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Determination of biogenic amines in beers and brewing-process samples by capillary electrophoresis coupled to laser-induced fluorescence detection. **Food Chemistry**, v. 100, n. 1, p. 383-389, 2007.

38. CREWS, C. **Processing contaminants: n-nitrosamines**, 2014.

39. CREWS, C.; CASTLE, L. A review of the occurrence, formation and analysis of furan in heat-processed foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, p. 365-372, 2007.

40. CURTIS, T. Y.; POSTLES, J.; HALFORD, N. G. Reducing the potential for processing contaminant formation in cereal products. **Journal of Cereal Science**, v. 59, n. 3, p. 382-392, 2014.

41. CUSTODIO-MENDOZA, J. A.; VALENTE, I. M.; RAMOS, R. M.; LORENZO, R. A.; CARRO, A. M.; RODRIGUES, J. A. Analysis of free malondialdehyde in edible oils using gas-diffusion microextraction. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 82, p. 103254, 2019.

42. DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2019.

43. DELGADO-ANDRADE, C. Maillard reaction products: Some considerations on their health effects. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 52, p. 53–60, 2014.

44. DELGADO-ANDRADE, C.; SEIQUER, I.; NAVARRO, M. P.; MORALES, F. J. Estimation of hydroxymethylfurfural availability in breakfast cereals. Studies in Caco-2 cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 1600-1607, 2008.

45. DI, R., KIM, J., MARTIN, M.N., LEUSTEK, T., JHOO, J., HO, C.T., TUMER, N. E. Enhancement of the primary flavor compound methional in potato by increasing the level of soluble methionine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5695-5702, 2003.

46. DUDA-CHODAK, A.; TARKO, T.; SROKA, P.; SATORA, P. A review of the interactions between acrylamide, microorganisms and food components. **Food & Function**, v. 7, n. 3, p. 1282-1295, 2016.

47. DUEDAHL-OLESEN, L**. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in foods**. *In*: Persistent Organic Pollutants and Toxic Metals in Foods, p. 308-333, 2013.

48. DUTRA, C.; RATH, S.; REYES, F. G. Nitrosaminas voláteis em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 18, n. 1, p. 111-120, 2007.

49. EFSA. Guidance on the data required for the risk assessment of flavourings to be used in or on foods, **EFSA Journal**, v. 8, p. 1623, 2010.

50. EFSA- Findings of the EFSA data collection on polycyclic aromatic hydrocarbons in food. **EFSA Journal**, p. 1-55 v. 724, 2008.

51. EFSA, Results on the monitoring of furan levels in food. **EFSA Scientific Report**, v. 304, p. 1–23, 2009.

52. EFSA. Report of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on provisional findings of furan in food. **EFSA Journal**, v, 137, p. 1-20, 2004.

53. EISENBRAND, G., SCHUHMACHER, J., GOLZER, P. The influence of glutathione and detoxifying enzymes on DNA-damage induced by 2-alkenals in primary rat hepatocytes and human lymphoblastoid-cells. **Chemical Research in Toxicology** v. 8, p. 40-46, 1995.

54. ENGLYST, K. N., ENGLYST, H. N. Carbohydrate bioavailability. **British Journal of Nutrition**, v. 94, n. 1, p. 1–11, 2005.

55. ESTERBAUER, H., SCHAUR, R.J., ZOLLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free Radical Biology and Medicine** v. 11, p. 81-128, 1991.

56. ESTERBAUER, H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. **The American journal of clinical nutrition**, v. 57, n. 5, p. 779S-786S, 1993.

57. ESTÉVEZ, M.; LI, Z.; SOLADOYE, O. P.; VAN-HECKE, T. **Heatl Risks of Food Oxidation**, 2017.

58. EUROPEAN COMMISSION, 2005. Commission Regulation No. 208/2005/EC of 4 February 2005 amending Regulation (EC) No. 4667/2001 as regards polycyclic aromatic hydrocarbons. *OJEU*. **L34**: 3 – 5.

59. EUROPEAN COMMISSION, 2011. Commission Regulation (EU) No.835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No. 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuff . *OJEU*. **L215**: 4 – 8.

60. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Scientific Opinion on acrylamide in food. **EFSA Journal**, v. 13, n.6, p. 4104, 2015.

61. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Update on furan levels in food from monitoring years 2004–2010 and exposure assessment. **EFSA Journal**, v. 9, n. 9, p. 2347, 2011.

62. EWERT, A., GRANVOGL, M., SCHIEBERLE, P. Isotope-labeling studies on the formation pathway of acrolein during heat processing of oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 62, 8524-8529, 2014.

63. FAN, X.; SOKORAI, K.J.B. Effect of ionizing radiation on furan formation in fresh-cut fruits and vegetables. **Journal of Food Science**, v. 73, p. C79-C83, 2008.

64. FAO/WHO. **Health implications of acrylamide in food**. Report of a Joint FAO/WHO Consultation. Geneva, Switzerland: WHO Headquarters, 2002.

65. FDA**. Exploratory data on furan in food**. Food and Drug Administration, 2004.

66. FERNÁNDEZ-ALBA. A. R.; AGÜERA, A. **Nitrosamines**. Elsevier, 2005.

67. FERRARI, C. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. **Revista de Nutrição**, v. 11, n. 1, p. 3-14, 1998.

68. FRANKEL, E.N. **Lipid oxidation**. Elsevier, 2014.

69. FRIEDMAN, M. Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 16, p. 4504-4526, 2003.

70. GLATT, H. R.; SOMMER, Y. Health risks by 5-hydroxymethylfurfural (HMF) and related compounds. In K. Skog, & J. Alexander (Eds.), **Acrylamide and other health hazardous compounds in heat-treated foods**. Cambridge: Woodhead Publishing, p. 325 357, 2006.

71. GODFREY, V. B.; CHEN, L. J.; GRIFFIN, R. J.; LEBETKIN, E. H.; BURKA, L. T. Distribution and metabolism of (5-hydroxymethyl)furfural in male F344 rats and B6C3F1 mice after oral administration. **Journal of Toxicology and Environment Health Part A**, v. 57, p. 199 210, 1999.

72. GOH, K.M., WONG, Y.H., ABAS, F., LAI, O.M., CHEONG, L.Z., WANG, Y., WANG, Y., TAN, C. P. Effects of shortening and baking temperature on quality, MCPD ester and glycidyl ester content of conventional baked cake. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie - LWT**, 116, 108553, 2019. doi:10.1016/j.lwt.2019.108553

73. GUÉRAUD, F.; ATALAY, M.; BRESGEN, N.; CIPAK, A.; ECKL, P, M.; HUC, L.; JOUANIN, I.; SIEMS, W.; UCHIDA, K. Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. **Free radical research**, v. 44, n. 10, p. 1098-1124, 2010.

74. GUSHGARI, A. J.; HALDEN, R. U. Critical review of major sources of human exposure to N-nitrosamines. **Chemosphere**, v. 210, p. 1124-1136, 2018.

75. HABERMEYER, M.; EISENBRAND, G. **N-Nitroso Compounds in Foods**, 2019.

76. HABERMEYER, M.; EISENBRAND, G. N-nitrosamines, including N-nitrosoaminoacids and potential further nonvolatiles. **Process-induced food toxicants: occurrence, formation, mitigation, and health risks**. Jersey: Wiley, p. 365-386, 2009.

77. HAGMAR, L.; TÖRNQVIST, M.; NORDANDER, C.; ROSÉN, I.; BRUZE, M.; KAUTIAINEN, A.; MAGNUSSON, A-L.; MALMBERG, B.; APREA, P.; GRANATH, F. Health effects of occupational exposure to acrylamide using haemoglobin adducts as biomarkers of internal dose. **Scandinavian Journal of Work, Environment & Health**, v. 4, p. 219–226, 2001.

78. HOGERVORST, J. G.; SCHOUTEN, L. J.; KONINGS, E. J.; GOLDBOHM, R. A.; VAN DEN BRANDT, P. A. Dietary acrylamide intake and the risk of renal cell, bladder, and prostate cancer. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, n. 5, p. 1428-1438, 2008.

79. HRNCIRIK, K., VAN DUIJN, G. An initial study on the formation of 3-MCPD esters during oil refining. **European Journal of Lipid Science and Technology,** v. 113, p. 374-379, 2011.

80. HSU, K.Y., CHEN, B.H. A comparative study on the formation of heterocyclic amines and cholesterol oxidation products in fried chicken fiber processed under different traditional conditions. **LWT - Food Science and Technology** v. 126, p. 109300, 2020.

81. HUANG, M.; PENNING, T. M. **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). In: processing contaminants**, 2014.

82. HUSOY, T.; HAUGEN, M.; MURKOVIC, M.; JÖBSTL, D.; STØLEN, L. H.; BJELLAAS, T.; RØNNINGBORG, C.; GLATTC, H.; ALEXANDER, J. Dietary exposure to 5-hydroxymethylfurfural from Norwegian food and correlations with urine metabolites of short-term exposure**. Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 12, p. 3697-3702, 2008.

83. International Agency for Research on Cancer (IARC). **Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking-water. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans**, v. 101, 2012.

84. International Agency for Research on Cancer (IARC) and World Health Organization (WHO). Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC **Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans**, v. 56, 1993.

85. IARC. Furan, dry cleaning, some chlorinated solvents and other industrial, chemicals. IARC, v. 393, 1995.

86. IARC (International Agency for Research on Cancer). **Monograghs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans**. Some N-Nitroso compounds, 1978.

87. IARC. **Acrylamide - IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans.** IARC, v. 60, p. 389-433, 1994.

88. IDOWU, O.; SEMPLE, K. T.; RAMADASS, K.; O'CONNOR, W.; HANSBRO, P.; THAVAMANI, P. Beyond the obvious: Environmental health implications of polar polycyclic aromatic hydrocarbons**. Environment International**, v. 123, p. 543-557, 2019.

89. ILSI (INTERNATIONAL LIFE SCIENCE INSTITUTE), 2009. 3-MCPD Esters in Food Products, summary report of a workshop held in February 2009 in Brussels, Belgium.

90. INGENBLEEK, L.; VEYRAND, B.; ADEGBOYE, A.; HOSSOU, S. E.; KONÉ, A. Z.; OYEDELE, A. D.; KISITO, C. S. K. J.; DEMBÉLÉ, Y. K.; EYANGOH, S. VERGER, P; LEBLANC, J. C.; DURAND, S.; VENISSEAU, A. MARCHAND, P.; LE BIZEC, B. Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods from the first regional total diet study in Sub-Saharan Africa: contamination profile and occurrence data. **Food control**, v. 103, p. 133-144, 2019.

91. JAEGER, H.; JANOSITZ, A.; KNORR, D. The Maillard reaction and its control during food processing. The potential of emerging technologies. **Pathologie Biologie**, v. 58, n. 3, p. 207-213, 2010.

92. KACMAZ, S**. Chapter 2 - Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Flour, Bread, and Breakfast Cereals**. *In*: Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention. p. 13-20, 2 ed, 2019.

93. KAFOURIS, D.; KOUKKIDOU, A.; CHRISTOU, E.; HADJIGEORGIOU, M.; YIANNOPOULOS, S. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in traditionally smoked meat products and charcoal grilled meat in Cyprus. **Meat Science**, v. 164, p. 108088, 2020.

94. KEHRER, J.P., BISWAL, S.S., The molecular effects of acrolein. **Toxicological Sciences** 57, 6-15, 2000.

95. KOWALSKI, S.; LUKASIEWICZ, M.; DUDA-CHODAK, A.; ZIĘĆ, G. 5 Hydroxymethyl-2-Furfural (HMF)–Heat-induced formation, occurrence in food and biotransformation–a Review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 63, n. 4, p. 207-225, 2013.

96. KROH, L. W. Caramelisation in food and beverages. **Food Chemistry**, v. 51, p. 373-379, 1994.

97. KUBOW, S. Toxicity of dietary lipid peroxidation products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 1, p. 67-71, 1990.

98. KWAK, E-J.; LIM, S-I. The effect of sugar, amino acid, metal ion, and NaCl on model Maillard reaction under pH control**. Amino Acids**, v. 27, p. 85–90, 2004.

99. LAMPEN, A. Toxicological properties of MCPD fatty acid esters. In: **Toxicological properties of MCPD fatty acid esters**. AOCS Press, 2014.

100. LAN, C.M., KAO, T.H., CHEN, B. H. Effects of heating time and antioxidants on the formation of heterocyclic amines in marinated foods. **Journal of Chromatography B, v.** 802, n.1, p. 27-37, 2004.

101. LAYTON, D.W., BOGEN, K.T., KNIZE, M.G., HATCH, F.T., JOHNSON, V.M., FELTON, J.S. Cancer risk of heterocyclic amines in cooked foods: An analysis and implications for research. **Carcinogenesis**, v. 16, n. 1, p. 39-52, 1995.

102. LEE, C. H.; CHEN, K. T.; LIN, J. A.; CHEN, Y. T.; CHEN, Y. A.; WU, J. T.; HSIEH, C. W. Recent advances in processing technology to reduce 5-hydroxymethylfurfural in foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 93, p. 271-280, 2019.

103. LEE, H. S.; NAGY, S. Relative reactivities of sugars in the formation of 5-hydroxymethyl furfural in sugar-catalyst model systems. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 14, p. 171-178, 1990.

104. LEE, J.; KIM, S.; MOON, J.; KIM, S.; KANG, D.; YOON, H. Effects of grilling procedures on levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meats. **Food Chemistry**, v. 199, p. 632-638, 2016.

105. LEE, M. L.; NOVOTNY, M. V.; BARTLE, K. D. **Anal. Chem**. v, 48, p. 405-416, 1976.

106. LEONG, S. Y.; DUQUE, S. M.; ABDUH, S. B. M.; OEY, I. Carbohydrates in: Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds. **Woodhead Publishing**, p. 171 206, 2019.

107. LI, C., ZHOU, Y., ZHU, J., WANG, S., NIE, S., XIE, M. Formation of 3-chloropropane-1,2-diol esters in model systems simulating thermal processing of edible oil. **LWT – Food Science and Technology**, v. 60, 586-592, 2016.

108. LIMA, R. F.; DIONELLO, R. G.; PERALBA, M. C.; BARRIONUEVO, S.; RADUNZ, L. L.; REICHERT JÚNIOR, F. W. PAHs in corn grains submitted to drying with firewood. **Food Chemistry**, v. 215, p. 165-170, 2017.

109. LIU, M.; GAO, B. Y.; QIN, F.; WU, P. P.; SHI, H. M.; LUO, W.; MA, A. N.; JIANG, Y. R.; XU, X. B.; YU, L. L. Acute Oral Toxicity of 3-MCPD Mono- and Di-Palmitic Esters in Swiss Mice and Their Cytotoxicity in NRK-52E Rat Kidney Cells. **Food Chem. Toxicol**. v. 50, p. 3785–3791, 2012.

110. LIU, Z.Y., ZHOU, D.Y., LI, A., ZHAO, M.T., HU, Y.Y., LI, D.Y., XIE, H.K., ZHAO, Q., HU X.P., ZHANG J.H., SHAHIDI, F. Effects of temperature and heating time on the formation of aldehydes during the frying process of clam assessed by an HPLC-MS/MS method. **Food Chemistry**, v. 308, p. 125650, 2020.

111. LOCAS, C. P.; YAYLAYAN, V. A. Isotope labeling studies on the formation of 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) from sucrose by pyrolysis-GC/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 6717–6723, 2008.

112. LYNCH, A.M., MURRAY, S., GOODERHAM, N.J., BOOBIS, A.R. Exposure to and activation of dietary heterocyclic amines in humans. **Critical Reviews in Oncology/hematology,** v. 21, n. 1-3, p. 19-31, 1995.

113. LYNCH, B. S.; BRYANT, D. W.; HOOK, G. J.; NESTMANN, E. R.; MUNRO, I. C. Carcinogenicity of monochloro-1,2-propanediol (alpha-chlorohydrin, 3-MCPD). **International Journal of Toxicology,** v. 17, p. 47–76, 1998.

114. MAGA, J. A.; KATZ, I. Furans in foods. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 11, n. 4, p. 355-400, 1979.

115. MARIOTTI, M. S.; TOLEDO, C.; HEVIA, K.; GOMEZ, J. P.; FROMBERG, A.; GRANBY, K.; ROSOWSKI, J.; CASTILLO, O.; PEDRESCHI, F. Are Chileans exposed to dietary furan?. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 30, p. 1715-1721, 2013.

116. MARK, J.; POLLIEN, P.; LINDINGER, C.; BLANK, I.; MARK, T. Quantitation of furan and methylfuran formed in different precursor systems by proton transfer reaction mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2786-2793, 2006.

117. MARQUES A. C., VALENTE T. B., ROSA C. S. Formação de toxinas durante o processamento de alimentos e as possíveis consequências para o organismo humano. **Revista de Nutrição,** v. 22, n. 2, 2009.

118. MEIRE, R. O.; AZEREDO, A.; TORRES, J. P. M. Aspectos ecotoxicológicos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. **Oecologia brasiliensis**, v. 11, p. 188-201, 2007.

119. MERKLE, S., OSTERMEYER, U., ROHN, S., KARL, H., FRITSCHE, J. Mitigation strategies for ester bound 2-/3-MCPD and esterified glycidol in pre-fried breaded and frozen fish products. **Food Chemistry**, v. 245, n. 15, p. 196-204, 2018.

120. MORO, S.; CHIPMAN, J. K.; WEGENER, J. W.; HAMBERGER, C.; DEKANT, W.; MALLY, A. Furan in heat-treated foods: Formation, exposure, toxicity, and aspects of risk assessment. **Molecular nutrition & food research**, v. 56, n. 8, p. 1197-1211, 2012.

121. MURKOVIC, M.; PICHLER, N. Analysis of 5-hydroxymethylfurfual in coffee, dried fruits and urine. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 50, n. 9, p. 842-846, 2006.

122. NACCARI, C.; CRISTANI, M.; GIOFRÈ, F. FERRANTE, M.; SIRACUSA, L.; TROMBETTA, D. PAHs concentration in heat-treated milk samples. **Food Research International**, v. 44, n. 3, p. 716-724, 2011.

123. NAGAO, M. Mutagenicity, in Nagao, M. and Sugimura, T. (eds), **Food borne carcinogens: Heterocyclic amines**, Chichester, Wiley, p. 163-195, 2000.

124. NAGAO, M., HONDA, M., SEINO, Y., YAHAGI, T., SUGIMURA, T. Mutagenicities of smoke condensates and the charred surface of fish and meat. **Cancer Letters** v. 2, p. 221-226, 1977.

125. NI, W., MCNAUGHTON, L., LEMASTER, D.M., SINHA, R., TURESKY, R.J. Quantitation of 13 heterocyclic aromatic amines in cooked beef, pork, and chicken by liquid chromatographyelectrospray ionization/tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 68-78, 2008.

126. NIE, S. P., HUANF, J. G., ZHANG, Y. N., HU, J. L., WANG, S., SHEN, M. Y., Li, C., MARCONE, M. F., XIE, M. Y. Analysis of furan in heat-processed foods in China by automated headspace gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC-MS). **Food Control,** v. 30, p. 62-68, 2013.

127. NTP (National Toxicology Program). **Report on carcinogens: heterocyclic amines (selected), US Department of Health and Human Services, Public Health Service**, National Toxicology Program, 12th ed, p. 220-227, 2011.

128. NTP (National Toxicology Program). **Technical Report on the comparative toxicity studies of allyl acetate, allyl alcohol, and acrolein. Administered by Gavage to F344/N Rats and B6C3F1 Mice. National Institutes of Health Public Health Service**. U.S. Department of Health and Human Services, 2006.

129. NTP. **13rd report on carcinogens: furan. National Toxicology Program (NTP)**, 2014.

130. ORTU, E.; CABONI, P. Levels of 5-hydroxymethylfurfural, furfural, 2-furoic acid in sapa syrup, Marsala wine and bakery products. **International journal of food properties**, v. 20, n. sup3, p. S2543-S2551, 2017.

131. PAIS, P., KNIZE, M. G. Chromatographic and related techniques for the determination of aromatic heterocyclic amines in foods**. Journal of Chromatography B**, v. 747, p. 139-169, 2000.

132. PAMIES D.;VILANOVA E.. Acrolein A2, in: Philip Wexler (Ed.), **Encyclopedia of Toxicology**, Academic Press, Oxford, 3 ed. p. 63-68, 2014.

133. PAPASTERGIADIS, A.; FATOUH, A.; JACXSENS, L.; LACHAT, C.; SHRESTHA, K.;DAELMAN, J.; KOLSTEREN, P.; VAN LANGENHOVE, H.; MEULENAER, B.. Exposure assessment of Malondialdehyde, 4-Hydroxy-2-(E)-Nonenal and 4-Hydroxy-2-(E)-Hexenal through specific foods available in Belgium. **Food and Chemical Toxicology**, v. 73, p. 51-58, 2014.

134. PATEIRO, M.;DOMINGUÉZ, R.; MUNEKATA, P., E., S.; BARBA, F., J.;LORENZO, J. M. . Lipids and fatty acids. In: Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds. **Woodhead Publishing**, 2019. p. 107-137.

135. PEREZ LOCAS, C. P.; YAYLAYAN, V. A. Origin and mechanistic pathways of formation of the parent furan e a food toxicant. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 22, p. 6830-6836, 2004.

136. PUNDIR, C. S.; YADAV, N.; CHHILLAR, A. K. Occurrence, synthesis, toxicity and detection methods for acrylamide determination in processed foods with special reference to biosensors: A review. **Trends in food science & technology**, 2019.

137. PÜSSA, T. Toxicological issues associated with production and processing of meat. **Meat Science,** v. 95, n. 4, p. 844–853, 2013.

138. RAMÍREZ-JIMÉNEZ, A.; GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; GARCÍA-VILLANOVA, B. Evolution of non enzymatic browning during storage of infant rice cereal. **Food Chemistry**, v. 3, n. 2, p. 219-225, 2003.

139. RANNOU, C.; LAROQUE, D.; RENAULT, E.; PROST, C.; SÉROT, T. Mitigation strategies of acrylamide, furans, heterocyclic amines and browning during the Maillard reaction in foods. **Food Research International**, v. 90, p. 154-176, 2016.

140. RESMINI, P.; PELLEGRINO, L.; PAGANI, M. A.; DE NONI, I. Formation of 2-acetyl-3-D-glucopyranosylfuran (glucosylisomaltol) from nonenzymatic browning in pasta drying. **Italian Journal of Food Science**, v. 4, p. 341-353, 1993.

141. ROBLES, H. **Nitrosamines**, 2014.

142. ROMAN, O.;HEYD, B.; BROYART, B.; CASTILLO, R.; MAILLARD, M. Oxidative reactivity of unsaturated fatty acids from sunflower, high oleic sunflower and rapeseed oils subjected to heat treatment, under controlled conditions. **LWT-Food Science and Technology**, v. 52, n. 1, p. 49-59, 2013.

143. RYWOTYCKI, R. The effect of baking of various kinds of raw meat from different animal species and meat with functional additives on nitrosamine contamination level. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 540-548, 2007.

144. SCF (Scientific Committee on Food). **Opinion of the scientific committee on food on 3-monochloro-propane-1,2-diol (3-MCPD)**. Updating the SCF opinion of 1994. Adopted on 30 May 2001. Brussels, Belgium: European Commission, 2001.

145. SEIDEL, A. Heat-generated toxicants in foods: heterocyclic aromatic amines, in: Chemical contaminants and residues in food. **Biochemical Institute for Environmental Carcinogens**, Germany and W. Pfau, GAB Consulting GmbH, Germany, 2012.

146. SGARBIERI, W. **Princípios de nutrição. Campinas: Faculdade de Tecnologia de Alimentos**. Universidade Estadual de Campinas, 1971, 1ª parte.

147. SHAHIDI, F.; JOHN, J. A. Oxidative rancidity in nuts. In: **Improving the safety and quality of nuts**. Woodhead Publishing, 2013. p. 198-229.

148. SHAPLA, U. M.; SOLAYMAN, M.; ALAM, N.; KHALIL, M. I.; GAN, S. H. 5 Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: Effects on bees and human health. **Chemistry Central Journal**, v. 12, n. 3, 2018.

149. SHEN, M., LIU, Q., JIA, H., JIANG, Y., NIE, S., XIE, J., CHANG, L., XIE, M. Simultaneous determination of furan and 2-alkylfurans in heat-processed foods by automated static headspace gas chromatography-mass spectrometry. **LWT - Food Science and Technology** 72, 44-54, 2016.

150. SILVA, F. A. M; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química nova**, v. 22, p. 94-103, 1999.

151. SIM, B.I., KHOR, Y.P., LAI, O.M., YEOH, C.B., WANG, Y., LIU, Y., MEHDI, I.A., TAN, C. P. Mitigation of 3-MCPD esters and glycidyl esters during the physical refining process of palm oil by micro and macro laboratory scale refining. **Food Chemistry**, 2020.

152. STADLER, R., THEURILLAT, V., STUDER, A., SCANLAN, F., SEEFELDER, W. The formation of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in food and potential measures of control, in **Thermal Processing of Food**, Deutsche Forschungsgemeinschaft (ed.), Wiley-VCH, Weinheim, Germany, p. 141-154, 2007.

153. STADLER, R.H. Heat-generated toxicants in foods: acrylamide, MCPD esters and furan. Chemical Contaminants and Residues in Food. Woodhead Publishing Series in Food Science. **Technology and Nutrition,** p. 201-232, 2012.

154. STEVENS, J.F., MAIER, C.S., Acrolein: Sources, metabolism, and biomolecular interactions relevant to human health and disease. **Molecular Nutrition & Food Research** 52, 7-25, 2008.

155. SUNAHARA, G.; PERRIN, I.; MARCHESINI, M. Carcinogenicity Study on 3 Monochloropropane--1,2-diol (3-MCPD) Administered in Drinking Water to Fischer 344 Rats. Unpublished Report No. RE-SR93003, submitted to WHO by Nestec Ltd., Research & Development, Switzerland, 1993.

156. SURH, Y. J.; LIEM, A.; MILLER, J. A.; TANNENBAUM, S. R. 5 Sulfooxymethylfurfural as a possible ultimate mutagenic and carcinogenic metabolite of the Maillard reaction product, 5-hydroxymethylfurfural. **Carcinogenesis**, v. 15, p. 2375-2377, 1994.

157. SWEDISH NATIONAL FOOD ADMINISTRATION. Information about acrylamide in food. **Swedish National Food Administration**, v. 4, p. 24, 2002.

158. TURESKY, R.J. **Genotoxicity, metabolism, and biomarkers of heterocyclic aromatic amines**, in Skog, K. and Alexander, J. (eds), Acrylamide and other hazardous compounds in heat treated foods, Cambridge, Woodhead, pp. 247-274, 2006.

159. UNAL, K., KARAKAYA, M., OZ, F. The effects of different spices and fat types on the formation of heterocyclic aromatic amines in barbecued sucuk. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 2, p. 719-725, 2018.

160. VACA, C. E.; WILHELM, J.; HARMS-RINGDAHL, M. Interaction of lipid peroxidation products with DNA. A review**. Mutation Res**, v, 195, p. 137-149, 1988.

161. VERNIN, G.; CHAKIB, S.; ROGACHEV, S. M.; OBRETENOV, T. D.; PARKANYI, C. Thermal decomposition of ascorbic acid. **Carbohydrate Research**, v. 305, p. 1 15, 1997.

162. VICENTE, E., ARISSETO, A.P., FURLANI, R.P.Z., MONTEIRO, V., GONÇALVES, L.M., PEREIRA, A. L.D., TOLEDO, M.C.F. Levels of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in selected processed foods from the Brazilian market. **Food Research International**, v. 77, p. 310-314, 2015.

163. WARAHO, T.; CARDENIA, V.; DECKER, E., A.; MCCLEMENTS, D. J. Lipid oxidation in emulsified food products. In: **Persistent organic pollutants and toxic metals in foods**. Woodhead Publishing, 2013.

164. WEINHOLD, B., Acrolein and neuro disorders. **Environmental Health Perspect**. 2011.

165. WHO. Summary report of the sixty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO expert committee on food additive (JECFA). Rome, Italy: The ILSI Press International Life Sciences Institute. Washington, DC, pp. 1e47, 2005.

166. WOLK, A. Potential health hazards of eating red meat. **Journal of Internal Medicine**, v. 281, n. 2, p. 106–122, 2017.

167. WU, M.C., MA, C.Y., YANG, C.C., KAO, W.C., SHEN, S.C. The formation of IQ type mutagens from Maillard reaction in ethanolic solution. **Food Chemistry**, v, 125, n. 2, p. 582-587, 2011.

168. WU, S.; GONG, G.; YAN, K.; SUN, Y.; ZHANG, L. **Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils and fatty foods: Occurrence, formation, analysis, change and control.** 2020.

169. YASUHARA, A.; TANAKA, Y.; HENGEL, M.; SHIBAMOTO, T. Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browning model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 14, p. 3999-4003, 2003.

170. YAYLAYAN, V. A.; KEYHANI, A.; WNOROWSKI, A. Formation of sugar-specific reactive intermediates from C-13-labeled L-serines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 636-641, 2000.

171. YAYLAYAN, V. A.; MACHIELS, D.; ISTASSE, L. Thermal decomposition of specifically phosphorylated D-glucoses and their role in the control of the Maillard reaction**. Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 3358-3366, 2003.

172. YAYLAYAN, V. A.; WNOROWSKI, A.; PEREZ LOCAS, C. Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 6, p. 1753-1757, 2003.

173. YAYLAYAN, V.A., KEYHANI, A. Origin of carbohydrate degradation products in L-Alanine/D-[(13) C] glucose model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 48, 2415-2419, 2000.

174. YIN, H., PORTER, N.A. New insights regarding the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. **Antioxidants & Redox Signaling** 7, 170-184, 2005.

175. YURCHENKO, S.; MOLDER, U. Volatile N-Nitrosamines in various fish products. **Food Chem**. v. 96, p.325–333, 2006.

176. ZHANG, L., DU H., ZHANG, P., KONG, B., LIU, Q. Heterocyclic aromatic amine concentrations and quality characteristics of traditional smoked and roasted poultry products on the northern Chinese market. **Food and Chemical Toxicology**, v. 135, p. 110931, 2020.

177. ZHOU, H., JIN, Q., WANG, X., XU, X. Direct measurement of 3-chloropropane-1,2-diol fatty acid esters in oils and fats by HPLC method. **Food Control** 36, 111-118, 2014.

178. ZORRO, A.;GOMES, J.; PINTO, V.; RODRIGUES, A. L.. Determinação da Lipoperoxidação em óleo alimentar. **Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária**, v. 5, 2012.

179. ŻYŻELEWICZ, D., ORACZ, J., KRYSIAK, W., BUDRYN, G., NEBESNY, E. Effects of various roasting conditions on acrylamide, acrolein, and polycyclic aromatic hydrocarbons content in cocoa bean and the derived chocolates. **Drying Technology**, v. 35, p. 363–374, 2017.

10

Desenvolvimento do plano APPCC para linha de produção de queijo mussarela

- Franciely Daiany **Junkerfuerbom**
  UTFPR
- Caroline **Viapiana**
  UTFPR
- Fábio Avelino Bublitz **Ferreira**
  UTFPR

doi 10.37885/201001834

RESUMO

Objetivo: Desenvolver o Plano de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) para uma linha de produção de queijo mussarela. **Métodos:** A metodologia utilizada foi baseada no *Codex Alimentarius*, na Portaria nº. 46, de 10 de fevereiro de 1998 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e ainda, nos requisitos da ABNT NBR ISO 22000:2006, fazendo uso dos sete princípios do APPCC e das etapas preliminares previstas. **Resultados:** O desenvolvimento do Plano APPCC, na indústria alvo deste estudo, resultou na definição da etapa Pasteurização como único Ponto Crítico de Controle (PCC) para controle de perigos microbiológicos. O controle deste PCC foi realizado por meio do monitoramento do binômio tempo/temperatura, tendo como Limite Crítico Inferior a temperatura de 72 °C por 15 segundos e Limite Crítico Superior a temperatura de 75 °C por 15 segundos. **Conclusão:** O desenvolvimento do programa APPCC permitiu realizar uma investigação sistêmica de todo o processo produtivo, verificando possíveis perigos com potencial deletério à saúde do consumidor final e estabelecendo os mecanismos necessários para a garantia da segurança do queijo mussarela.

Palavras-chave: Avaliação de Riscos, Queijo Mussarela, Medidas de Segurança, Inspeção de Alimentos.

INTRODUÇÃO

O Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), conhecido internacionalmente por *Hazard Analysis and Critical Contral Points* (HACCP), vem de encontro à necessidade de produzir alimentos mais seguros, pois é uma maneira sistematizada de estabelecer pontos de monitoramento, em uma linha específica de produção, a fim de garantir a segurança do produto final (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Segundo Profeta e Silva (2005), a melhoria do controle de processo, assim como, de suas variáveis, é uma das consequências da implementação do APPCC. Neste sistema de controle a detecção de falhas é imediata, ou logo após sua ocorrência, o que permite a tomada de correções e/ou ações corretivas antes da propagação dos efeitos na linha de processo. A identificação de etapas e atividades críticas no processo produtivo é imprescindível para a determinação dos Pontos Críticos de Controle, que se tornam alvos de técnicas de monitoramento e verificações para detecção de possíveis falhas. Problemas não identificados e não controlados nestas etapas poderão colocar em risco inaceitável à saúde e/ou integridade do consumidor. Para que funcione de modo eficaz, o APPCC deve ser acompanhado de um Programa de pré-requisitos que fornecerá as condições operacionais e ambientais básicas necessárias para a sua implantação. Por isso, este sistema deve ser executado sobre uma base sólida de cumprimento de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e dos Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) (CARVALHO, 2012).

Os queijos e outros produtos derivados do leite são amplamente consumidos e devem satisfazer não somente aos aspectos sensoriais e nutricionais, mas também aos aspectos de segurança, por isso a importância do desenvolvimento e aplicação do Plano APPCC para a linha de produção do queijo.

OBJETIVO

Desenvolver o programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), em uma linha de produção de queijo Mussarela, com o intuito de promover a melhoria do controle de perigos no processo.

MÉTODOS

O processo de desenvolvimento do programa APPCC foi realizado em uma indústria de laticínios localizada no estado do Paraná, Brasil. Dentre as linhas de produção desta indústria, foi escolhido como base para este estudo, com ênfase no planejamento estratégico da alta direção, a linha de produção de queijo mussarela.

A estruturação do programa APPCC, para linha de produção do queijo mussarela, foi baseada nas metodologias descritas no *Codex Alimentarius* (CAC/RCP 1-1969, Rev.4-2003), na Portaria nº. 46, de 10 de fevereiro de 1998 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e ainda, nos requisitos da ABNT NBR ISO 22000:2006. A metodologia de implementação foi constituída por dois grupos de etapas, sendo elas:

Etapas preliminares:

1 - Formação da equipe multidisciplinar para implementação do APPCC;
2 - Identificação da empresa e do escopo do plano APPCC;
3 - Avaliação do programa de Pré-Requisitos (BPF);
4 - Programa de capacitação técnica;
5 - Descrição do produto e uso esperado;
6 - Elaboração do fluxograma de processo;
7 - Validação do fluxograma de processo.

A avaliação do programa de Pré-Requisitos foi realizada de acordo com os requisitos descridos na Resolução nº 10, de 22 de maio de 2003 e da Portaria no 368, de 4 de setembro de 1997, ambas do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

Etapas específicas do plano APPCC (Sete Princípios):

- Primeiro Princípio: Identificação dos perigos potenciais e medidas preventivas;
- Segundo Princípio: Identificação dos pontos críticos de controle (PCCs);
- Terceiro Princípio: Definição dos limites críticos para as medidas preventivas;
- Quarto Princípio: Definição dos procedimentos de monitorização dos PCCs;
- Quinto Princípio: Definição das correções e ações corretivas;
- Sexto Princípio: Estabelecimento dos procedimentos de verificação;
- Sétimo Princípio: Estabelecimentos dos procedimentos efetivos de registro de resultados e documentação.

RESULTADOS

A equipe multidisciplinar formada para a implementação do Plano APPCC foi constituída por dez colaboradores, com conhecimentos e áreas de atuação distintas. A estruturação da equipe configurou-se pela participação de um representante da alta direção, dois Tecnólogos em Alimentos, três membros do setor de garantia da qualidade, dois colaboradores responsáveis pela produção, um colaborador responsável pela equipe de higienização e um representante do setor de manutenção.

Após a formação da equipe multidisciplinar (Etapa Preliminar 1), da definição, junto a alta direção da empresa, do escopo do plano APPCC proposto (Etapa Preliminar 2), foi realizada a avaliação do programa de Pré-Requisitos ou programa de Boas Práticas de Fabricação (Etapa Preliminar 3). De acordo com a Resolução nº 10, de 22 de maio de 2003 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, o APPCC é uma ferramenta para controle de processo, não para o ambiente onde o processo ocorre. Desta forma, as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e seus respectivos Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) são destinados ao controle do ambiente e processo, constituindo pré-requisitos essenciais à implantação do sistema APPCC. Com isso estabelecido, pode-se entender o sistema APPCC como um método complementar às Boas Práticas de Fabricação. A partir desta proposição, foi realizada uma auditoria preliminar para verificar as condições do programa BPF e seus procedimentos, com o intuito de definir a viabilidade do desenvolvimento do plano APPCC. Abaixo é apresentada a tabela que resume o resultado desta auditoria (Tabela 1).

Tabela 1. Resultado da auditoria do programa de Pré-Requisitos (programa BPF) na produção de queijo mussarela.

Requisitos de BPF avaliados	Edificações e Instalações (%)	Equipamentos, Móveis e Utensílios (%)	Higiene dos Manipuladores (%)	Produção e Transporte do Alimento (%)	Documentação de gestão das BPF (%)
Não conforme	16,46	4,76	0,00	9,09	5,88
Conforme	83,54	95,24	100,00	90,91	94,12

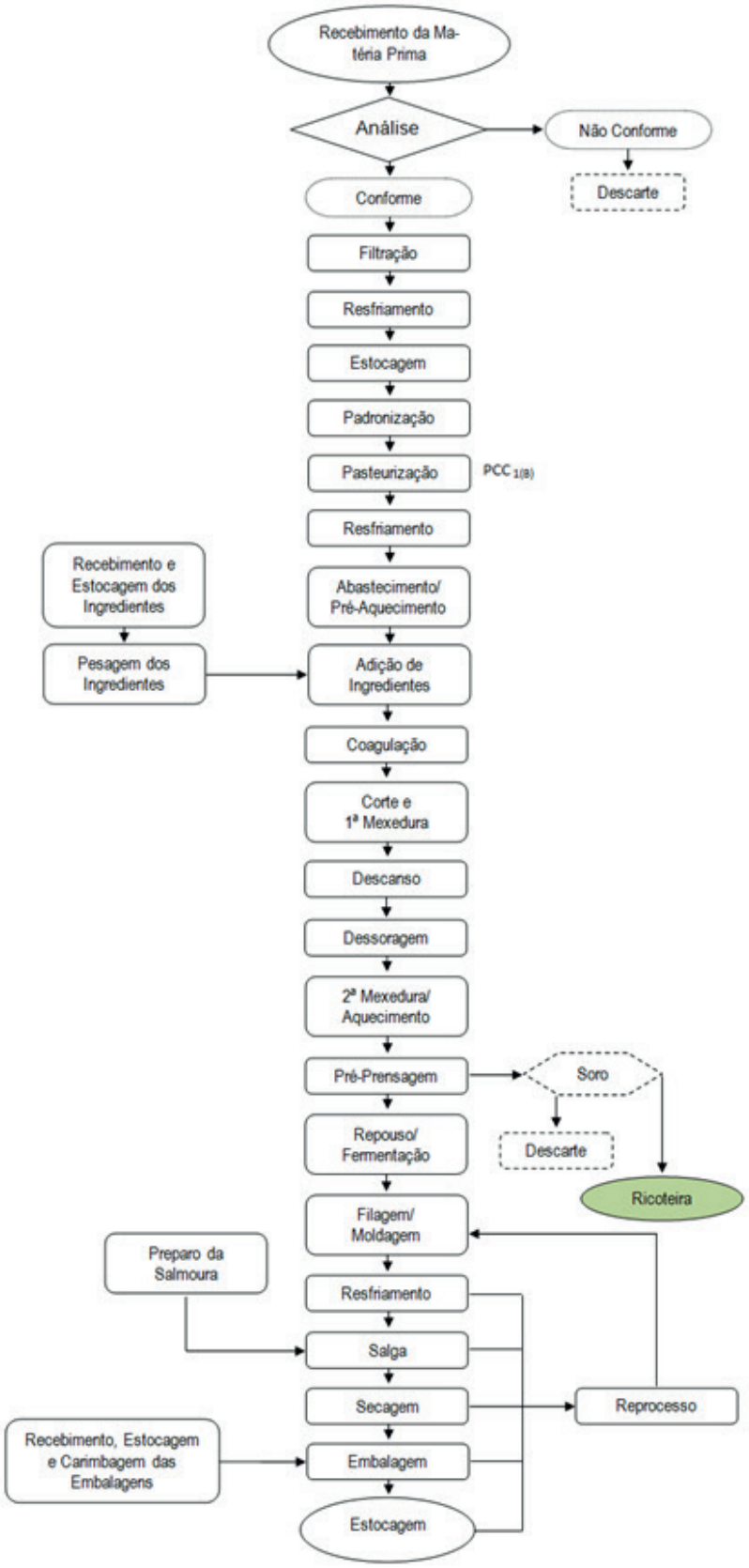
A partir dos resultados gerados pela auditoria do programa de Pré-Requisitos, verificou-se que 92,76% dos requisitos avaliados estavam em conformidade. Os requisitos classificados como não conformes foram analisados com relação ao risco e tratados a partir de um plano de ação. Esta análise de risco indicou a aptidão da indústria ao desenvolvimento do sistema APPCC.

Para a etapa de capacitação técnica (Etapa preliminar 4) foram destinadas 16 horas de treinamento, visando a capacitação da equipe multidisciplinar, para a implantação e desenvolvimento do APPCC. O conteúdo programático foi direcionado à explanação sobre os conceitos de pré-requisitos (PPHO e BPF); de perigo, severidade e risco para produção de alimentos; das etapas preliminares e dos sete princípios do APPCC. Ainda, realizaram-se reuniões a cada dois meses com pautas referentes ao Plano APPCC em andamento. Com esta metodologia didática foi possível nivelar os conhecimentos necessários para elaboração do plano APPCC entre todos os membros da equipe de implantação, fato que resultou em desempenho satisfatório durante o desenvolvimento do plano. A efetividade do treinamento foi validada por meio de avaliação teórica.

Para o correto desenvolvimento e estruturação do plano APPCC elaborou-se o fluxograma (Etapa preliminar 6) do processo produtivo (Figura 1), de forma a facilitar a visualização das etapas de produção. Este fluxograma, assim como a descrição de todas as etapas, foi

elaborado pela equipe de implementação do APPCC e sua validação (Etapa preliminar 7) foi realizada com a análise in loco de todas as fases de produção industrial do queijo mussarela.

Figura 1. Fluxograma do processo produtivo do queijo mussarela.



O desenvolvimento da metodologia de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle resultou em um documento formal chamado de Plano APPCC. Este documento foi composto por toda informação gerada durante o estudo guiado pelas etapas preliminares e pelos sete princípios. O Plano APPCC foi constituído de treze formulários oficiais, nomeados em ordem sequencial como Formulário A à N e uma planilha de apoio. Sendo esta, utilizada para registrar as informações técnicas e científicas que foram necessárias para a definição dos perigos e suas respectivas severidades e probabilidades de ocorrência, servindo de base para o estabelecimento do risco pertinente a cada perigo relacionado à produção do queijo mussarela.

O resultado do estudo indicou a necessidade de criação e implementação de controle na etapa de pasteurização. Este processo deve ser tratado como Ponto Crítico de Controle (PCC), pois se configura como a última etapa do processo produtivo de queijo mussarela onde o controle de perigos biológicos pode ser realizado, considerando ainda que, o programa de Pré-Requisitos não é configurado para o controle efetivo dos perigos biológicos na pasteurização. Todas as informações pertinentes ao referido PCC foram registradas no Formulário N – Resumo do Plano APPCC, e podem ser visualizadas abaixo (Quadro 1).

Para o PCC da etapa de pasteurização foram definidos Limite Crítico Inferior e Superior, estruturados no binômio tempo / temperatura, destinados ao controle de eventos de sub e super pasteurização, respectivamente. Para a definição dos critérios de aceitação para estes limites críticos, se utilizou como base os requisitos normalizados pela Instrução Normativa nº 5, de 14 de fevereiro de 2017 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Quadro 1. Formulário N - Resumo do Plano APPCC (adaptado)

Etapa	Pasteurização
Ponto Crítico de Controle	PCC 1 (biológico)
Perigos Controlados	*Brucella abortus; Escherichia coli 0157:H7; Escherichia coli enteropatogênica; Salmonella spp.*
Medidas Preventivas	Manutenção preventiva de equipamentos. Controle do binômio Tempo x Temperatura na Pasteurização.
Limites Críticos	Limite Crítico Inferior: 72 ˚C/15s Limite Crítico Superior: 75 ˚C/15s

Etapa	Pasteurização
Monitorização	**O que:** Temperatura do processo de pasteurização, teste de fosfatase alcalina e peroxidase. **Como:** Observação visual e registro da temperatura indicada no termômetro do pasteurizador e no termógrafo. Teste físico-químico para determinação da atividade enzimática da fosfatase alcalina e peroxidase. **Frequência:** Temperatura: a cada 30 minutos para o termômetro do pasteurizador. Temperatura: constante para o termógrafo. Análises da fosfatase alcalina e peroxidase: diária. **Responsável:** Temperatura: Queijeiro. Análises da fosfatase alcalina e peroxidase: Laboratorista.
Correções/Ações corretivas	**Para oscilações da temperatura abaixo do Limite Crítico Inferior:** - Parada do processo; - Segregação do leite potencialmente inseguro; - Ajuste do binômio tempo temperatura no pasteurizador; - Repasteurização do leite potencialmente inseguro; - Registro da não conformidade em planilha; - Investigação das causas que levaram a variação. **Para oscilações da temperatura acima do Limite Crítico Superior:** - Parada do processo; - Segregação do leite potencialmente super pasteurizado; - Ajuste do binômio tempo temperatura no pasteurizador; - Registro da não conformidade em planilha; - Investigação das causas que levaram a variação. **Para casos de positividade na análise de fosfatase alcalina:** - Segregação do lote potencialmente sub pasteurizado; - Quando necessário, ajuste do binômio tempo temperatura no pasteurizador; - Repasteurização do leite potencialmente inseguro; - Registro da não conformidade em planilha; - Investigação das causas que levaram a variação. **Para casos de negatividade na análise de peroxidase:** - Segregação do lote potencialmente super pasteurizado; - Quando necessário, ajuste do binômio tempo temperatura no pasteurizador; - Registro da não conformidade em planilha; - Avaliação do lote para definir a intensidade do problema; - Investigação das causas que levaram a variação
Registros	- Planilha de registro das análises de Fosfatase Alcalina e Peroxidase; - Planilha de registro da temperatura do pasteurizador; - Planilha de registro da temperatura monitorada no termógrafo; - Planilha de registro de não conformidades.

Etapa	Pasteurização
Verificações	**O que:** 1 - Análise dos registros de temperatura proveniente do termógrafo e do termômetro do pasteurizador; 2 - Análise dos registros dos resultados dos testes de fosfatase alcalina e peroxidase; 3 - Análise do Relatório de Não Conformidades; 4 - Auditoria Interna; **Como:** 1, 2 e 3 - Análise visual das planilhas de registro e Relatório de Não Conformidades; 4 - Auditoria documental e "in loco". **Frequência:** 1, 2 e 3 - Mensalmente; 4 - Semestralmente. **Responsável:** 1, 2 e 3 - Supervisor da Qualidade; 4 - Supervisor da Qualidade e Equipe APPCC.

DISCUSSÃO

A definição de Ponto Crítico de Controle para o processo de pasteurização, corriqueiramente é notada em sistemas produtivos que trabalham com este tratamento térmico para controle de micro-organismos. Trabalhos realizados na área de laticínios concluem que o controle de perigos biológicos na pasteurização é essencial para a segurança dos consumidores, sendo esta etapa a última oportunidade para reduzir estes perigos à níveis seguros ou eliminá-los. Observando ainda que os controles necessários na etapa de pasteurização não são contemplados pelo programa de pré-requisitos, classifica-se esta etapa como um Ponto Crítico de Controle (PCC) no APPCC (FURTTINI; ABREU, 2006; BRUM, 2004; TOBIAS; PONSANO; PINTO, 2014).

Pesquisas relacionadas ao APPCC para indústrias de laticínios evidenciam a necessidade de controle efetivo para perigos químicos provenientes de resíduos de medicamentos de uso veterinário ou de adulterantes químicos, que podem ser encontrados no leite cru (ROSA; QUEIROZ, 2007, TOBIAS; PONSANO; PINTO, 2014, BRUM, 2004). No Brasil, este controle é previsto a partir da Instrução Normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. No laticínio alvo deste estudo, o controle de resíduos de antibióticos e de adulterantes faz parte da rotina operacional da etapa de recebimento de leite cru na indústria e foi inserido ao programa de pré-requisitos. Sendo os respectivos perigos químicos, controlados efetivamente desta forma, a etapa Recebimento não foi classificada como PCC, mas sim como um Ponto de Controle (PC). O gerenciamento destes perigos é realizado a partir do Procedimento Padrão de Higiene Operacional para Proteção Contra Contaminantes e Adulterantes do Alimento (PPHO 5).

CONCLUSÃO

O desenvolvimento do plano APPCC permitiu realizar uma investigação sistêmica de todo o processo produtivo, verificando a presença e o controle de possíveis perigos com potencial deletério à saúde do consumidor final. A partir do desenvolvimento do Plano APPCC para linha de produção do queijo tipo mussarela, foi possível definir um Ponto Crítico de Controle, para controle de perigos biológicos, sendo ele o processo de pasteurização do leite. A etapa de pasteurização configurou-se como a última ação no processo produtivo para eliminação de microrganismos patogênicos, sendo que, o controle desta etapa, não é previsto no programa de Pré-Requisitos. Desta forma, se definiu Limite Crítico Inferior e Superior, este relacionado ao evento de super pasteurização, capaz de interferir negativamente em aspectos nutricionais e sensoriais, e aquele relacionado ao evento de sub pasteurização, com potencial para comprometer a segurança microbiológica do alimento. Estes Limites Críticos foram relacionados às variáveis tempo e temperatura de pasteurização, às atividades de monitoramento, às correções e ações corretivas a serem executadas quando falhas são detectadas, bem como à sistemática de registros e verificações que devem ser realizadas para este controle.

REFERÊNCIAS

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 22000:** Sistemas de Gestão da Segurança de Alimentos – Requisitos para qualquer organização na cadeia produtiva de alimentos. Rio de Janeiro, 2006.

2. BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria n° 46**, de 10 de fevereiro de 1998. Disponível em: <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/portaria-ma-46-de-10-02-1998,687.html> Acesso em: 29 out. 2020.

3. BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria Nº 368**, de 04 de setembro de 1997. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/empresario/Portaria_368.1997.pdf/view> Acesso em: 29 out. 2020.

4. BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Resolução RDC nº 10**, de 22 de maio de 2003. Disponível em: <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/resolucao-dipoa-10-de-22-05-2003,744.html#:~:text=Institui%20o%20Programa%20Gen%C3%A9rico%20de,Perigos%20e%20Pontos%20Cr%C3%ADticos%20de> Acesso em: 29 out. 2020.

5. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 5**, de 14 de fevereiro de 2017. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-no-5-de-14-de-fevereiro-de-2017-20364902> Acesso em: 29 out. 2020.

6. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 77**, de 26 de novembro de 2018. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750141/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-77-de-26-de-novembro-de-2018-52749887> Acesso em: 29 out. 2020.

7. BRUM, Jaime Victor Ferreira. **Análise de perigos e pontos críticos de controle em indústria de laticínios de Curitiba – PR**. CURITIBA 2004. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/1599> Acesso em: 29 out. 2020.

8. CARVALHO, Lucia R. de. **Mapeamento De Riscos Microbiológicos No Processo Produtivo De Carne Bovina: Diagnóstico E Proposição De Melhoria Contínua.** Niterói 2012. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vtt-581> Acesso em: 29 out. 2020.

9. FRANCO, Bernadette D. G. de M.; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia de Alimentos**. Editora Atheneu, 1ª Edição, São Paulo, 2008. ISBN: 9788573791211.

10. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Higiene dos Alimentos – Textos Básicos / Organização Pan-Americana da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária; *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. – Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 2006. 64 p.: il. ISBN 85-87943-47-2.

11. PROFETA, Rogério Augusto; SILVA, Simone Ferminoda. **APPCC – Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle na Empresa de Açúcar**. ABEPRO - ENEGEP 2005. Porto Alegre, RS, Brasil, 2005. Disponível em: < http://www.abepro.org.br/biblioteca/ENEGEP2005_Enegep0208_0048.pdf> Acesso em: 29 out. 2020.

12. RIBEIRO-FURTINI, Larissa L.; ABREU, Luiz R. de. **Utilização de APPCC na indústria de alimentos.** Ciência e Agrotecnologia, v. 30, n. 2, p. 358-363, 2006. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/242125937_Utilizacao_de_APPCC_na_industria_de_alimentos_Utilization_of_HACCP_in_food_industry/link/037a25810cf2031942372f2f/download> Acesso em: 29 out. 2020.

13. ROSA, Leonardo Souza da; QUEIROZ, Maria Isabel. **Avaliação da qualidade do leite cru e resfriado mediante a aplicação de princípios do APPCC**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, p. 422-430, 2007.

14. TOBIAS, Wanderleia; PONSANO, Elisa H. G.; PINTO, Marcos F. **Elaboração e implantação do sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle no processamento de leite pasteurizado tipo A.** Ciência Rural, Santa Maria, v.44, n.9, p.1608-1614, set, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20131150> Acesso em: 29 out. 2020.

11

Desenvolvimento e avaliação da aceitabilidade de petisco de queijo

- Simone Melo **Vieira**
- Sidney Fernandes **Bandeira**

Artigo original publicado em: 02/2020
Brazilian Journal of Development - ISSN 2525-8761.

Oferecimento de obra científica e/ou literária com autorização do(s) autor(es) conforme Art. 5, inc. I da Lei de Direitos Autorais - Lei 9610/98

10.37885/201102119

RESUMO

O trabalho teve como objetivo desenvolver e avaliar a aceitabilidade de petiscos (snacks) elaborados com massa de queijo saborizada com páprica doce, chumichurri e açafrão com pimenta. O desenvolvimento do novo produto envolveu alterações nas etapas de elaboração de queijos e a utilização de pequenas formas, nas quais, a massa foi submetida à desidratação. As saborizações do petisco de queijo foram submetidos ao teste sensorial com 90 julgadores não treinados, que avaliaram o sabor, o aroma, a textura e a aceitação global. Utilizou-se escala hedônica de nove pontos (9=gostei muitíssimo; 1=desgostei muitíssimo) para avaliar o nível de aceitação das amostras. Para tratamento dos dados, aplicou-se análise de variância (Tukey - nível de significância de 5%). O petisco de queijo sabor chumichurri foi o que obteve maiores notas em todos os quesitos. Não houve nenhum produto na faixa de rejeição (de 1 a 4 na escala hedônica de 9 pontos). A pesquisa visou atender tendências do mercado realcionada à ampliação do consumo de comidas rápidas e petiscos na forma de snacks com ênfase para a demanda de produtos com maior valor nutricional, como por exemplo, queijos.

Palavras-chave: Queijos, Inovação Tecnológica, Aceitabilidade.

INTRODUÇÃO

O leite bovino corresponde a uma matéria-prima composta por água e componentes orgânicos que possuem significativa importância nutricional. Entre os componentes do leite, a caseína, corresponde à 80% da porção proteica do leite e, praticamente, a 100% da massa que compõe um queijo (Ordonez, 2005). Existem inúmeros tipos de queijos disponíveis para consumo, porém, inovações para diferenciação e aprimoramento desses produtos podem ser realizadas para atendimento de novas necessidades dos consumidores e também para o alcance de novos mercados. A mudança no padrão de consumo alimentar sinaliza para a demanda crescente de comidas rápidas e práticas para serem consumidas. Nessa categoria de alimentos enquadram-se os snakes ou petiscos cujo foco das formulações atuais, está voltado para a promoção da saúde (Prandi, 2014).

Nos Estados Unidos da América, duas empresas se uniram para lançar um produto saudável e crocante a partir de queijo cheddar, gouda e Pepper Jack. Os empresários desenvolveram e patentearam um sistema de desidratação dos queijos que preserva os componentes nutricionais (Santin, 2013). Esse tipo de inovação em queijos promove o aumento da vida útil por meio da desidratação e também pela ação germicida de algumas substâncias saborizantes. Com base na iniciativa dos empresários citados, a presente pesquisa objetivou desenvolver um pequeno queijo desidratado saborizado para ser consumido como petisco.

MATERIAL E MÉTODOS

Produção do queijo

Utilizou-se leite integral como matéria-prima, coalho, sal e condimentos naturais desidratados. Os condimentos utilizados para saborização foram: páprica doce, chimichurri, e açafrão com pimenta do reino. As etapas para elaboração do novo produto corresponderam: aquecimento à temperature de 32-36°C, adição do coalho para obtenção da massa, corte da massa, dessoragem, salga e incorporação dos sabores, enformagem, desidratação parcial em micro-ondas, desidratação complementar e tostagem em forno elétrico.

Avaliação sensorial

Na análise sensorial, as amostras (codificadas com 3 dígitos) foram servidas para 90 provadores de ambos os sexos, em copinhos descartáveis à temperatura ambiente. Os testes foram realizados em cabines apropriadas, sob luz branca, longe de ruídos e de odores. Foi aplicado o teste de aceitação global (escala hedônica estruturada), com pontos variando de um (1 = desgostei extremamente) a nove (9 = gostei extremamente), de acordo IAL (2005).

Análise estatística

Os dados foram apresentados com média ± desvio padrão. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e aplicado teste de diferença por Tukey, com nível de significância de 5%, com o auxílio do programa de cálculo Sisvar versão 5.6 (Ferreira, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O novo produto desenvolvido apresentou as seguintes características: formato cilíndrico, diâmetro de 15,4 ± 0,7 mm, altura de 11,3 ± 1,1mm, textura levemente crocante e versões nos sabores de páprica doce, chimichurri e açafrão com pimenta do reino. Foi incorporado ao produto leve sabor de tostado devido ao processo de fornagem. A característica visual do novo queijo desenvolvido pode ser observada na Figura 1.

Figura 1. Petiscos de queijo

O teste sensorial para avaliação da aceitação das três variações de sabor do petisco de queijo demonstrou que não houve diferença estatística significativa entre o produto saborizado com chimichurri e o saborizado com açafrão e pimenta. Entretanto, mesmo não sendo a diferença entre esses dois sabores significância estatística, o de chimichurri apresentou maior aceitação (maior nota). Em relação ao aroma observou-se que não houve diferença significativa entre as amostras de chimichurri e açafrão com pimenta. Para esse atributo, a amostra de chumichurri alcançou notas maiores, ou seja, obteve também maior aceitação. Os resultados para textura demonstraram diferença significativa entre as três amostras, sendo, a amostra de chumichurri considerada com melhor textura. Na avaliação geral do produto notas acima de 7 pontos foram atribuías às três formulações.

Entretanto, maior nota foi dada à amostra de chumichurri. De um modo geral, os petiscos de queijos analisados apresentaram índices de aceitabilidade variando de 80 a 90%, bem superiores ao valor mínimo (70%) necessário para que o produto seja considerado aceito (Teixeira et al., 1987).

Tabela 1. Resultado análise sensorial de aceitação do petisco de queijo

Parâmetros	Tratamentos		
	Sabor páprica	Sabor chimichurri	Sabor açafrão
Sabor	6,8± 0,6[a]	7,8 ± 0,4[b]	7,5 ± 0,7[b]
Aroma	7,3 ± 0,5[ab]	7,6 ± 0,4[b]	6,8 ± 0,5[a]
Textura	6,6 ± 0,5[a]	7,3 ± 0,5[b]	6,8 ± 0,8[ab]
Impressão Global	7,3 ± 0,5[a]	7,9 ± 0,3b	7,4 ± 0,5[a]

Médias com letras na mesma linha em comum não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey, p≤ 0,05)

O teste sensorial de aceitação utilizado na pesquisa é considerado um método simples, cujos resultados mesmo quando obtidos por provadores não treinados, são confiáveis. Segundo Minin (2006) os consumidores conseguem facilmente, expressar sua aceitação com base nos atributos “gosta” ou “desgosta”. A escala hedônica de 9 pontos é a mais utilizada para avaliação da preferência com adultos proporcionando considerável sucesso (Dutcosky, 2007). Na pesquisa, o número expressivo de provadores não treinados contribuiu significativamente para a consistência dos resultados.

CONCLUSÕES

Após o desenvolvimento da pesquisa, concluiu-se que é viável tecnicamente a produção de um petisco à base de queijo desidratado e saborizado com grande potencial para comercialização no mercado. A inclusão das etapas de enformagem, saborização, desidratação e fornagem ocasionaram significativas alterações nas características do queijo e oportunizam a geração de um novo produto bastante diferenciado em relação aos existentes no mercado. Esse novo tipo de queijo formulado com três diferentes sabores, com pequena dimensão e baixa umidade demonstrou ser bem aceito por provadores não treinados. Os petiscos de queijo saborizados com chumichurri apresentaram as maiores notas para o sabor, aroma, textura e avaliação global. No entanto, os demais sabores também demonstraram boa aceitação com notas acima de 6 na escala hedônica.

REFERÊNCIAS

1. Dutcosky, S. D. Análise sensorial de alimentos. (2007). 2° ed. ver. e ampl.Curitiba: Champagnat, 239 p.

2. Ferreira, D. F. (2014). Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. Ciênc. agrotec. [online]. vol.38, n.2 [citado 2015-10-17], pp. 109-112 . Disponible en: ISSN 1413-7054. http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001.

3. Instituto Adolfo Lutz. (2005). Normas analíticas do IAL: Métodos químicos e físicos para análise de Alimentos. 3. ed: São Paulo.

4. Minim, V. P. (2006). Análise sensorial: estudos com consumidores. Viçosa: Ed. UFV, 225 p.

5. Ordonez J. A. (2005) Tecnologia de alimentos. vol. 2. Porto Alegre: Artmed, 279 p.

6. Prandi, E. (2019). O Mercado de snacks. Disponível em <http://www.abre.org.br/wp- content/uploads/2014/08/mintel_mercado_snacks.pdf > Acesso em 16 de maio de 2018.

7. Santin, J. (2018). Novidades – lançamentos lácteos. Disponível em < https://www.milkpoint.com.br/colunas/novidades-lancamentos-lacteos/companhia-americana-lanca-snacks-de-queijo-desidratado-205397n.aspx > Acesso em: 16 de maio de 2018.

8. Teixeira, E., Meinert, E. M., Barbetta, P. A. (1987). Métodos sensoriais. In: Análise sensorial de alimentos. Florianópolis, Editora da UFSC, p. 66-119.

12

Desenvolvimento, composição e aceitação sensorial de café solúvel adicionado de café torrado micronizado

- Julyene Silva **Francisco**
  UEL
- Ana Carolina Forgati dos **Santos**
  UEL
- André Luiz Buzzo **Mori**
  UEL
- Rodolfo Campos **Zanin**
  UTFPR
- Marta de Toledo **Benassi**
  UEL

doi 10.37885/201102012

RESUMO

O objetivo do trabalho foi desenvolver, caracterizar e verificar a aceitação sensorial de um café solúvel adicionado de café torrado micronizado. Duas formulações foram elaboradas com adição de 5% de café torrado micronizado (TM) a extratos solúveis de café arábica (EA) e de café canéfora (EC), denominadas EA/TM e EC/TM. EA, EC e TM foram caracterizados quanto ao teor de ácidos clorogênicos totais (ACG), cafeína, caveol e cafestol, e as bebidas dos extratos e formulações foram comparadas por teste sensorial de diferença e analisadas quanto à aceitação. EC/TM apresentou maior teor de cafeína (2,9 g 100 g^{-1}) e EA/TM, maior teor de ACG (3,2 g 100 g^{-1}). A composição dos produtos foi semelhante à de cafés solúveis comerciais brasileiros, com o diferencial da presença de caveol (0,04 g 100 g^{-1}) e cafestol (0,03 g 100 g^{-1}), oriundos do TM. A adição de TM (5%) foi percebida sensorialmente somente no produto EA/TM. As bebidas adicionadas de café torrado micronizado foram igualmente aceitas (média de 6,3 em escala de 10), e a adição de TM não modificou a aceitação. Tendo em vista a aceitação sensorial e por não ter havido percepção da adição de TM, é preconizado o uso do extrato canéfora na produção de café solúvel adicionado de café torrado micronizado para obtenção de produto com boa aceitação.

Palavras-chave: *Coffea arabica*, *Coffea canephora*, ACG, Cafeína, Diterpenos.

INTRODUÇÃO

O café se destaca na economia brasileira como um dos principais produtos agrícolas de exportação, sendo o Brasil o principal produtor mundial e o segundo maior consumidor da bebida (OIC, 2020).

No Brasil, a preocupação com a qualidade do café tem aumentado em função do maior volume de informações como o conhecimento dos benefícios do consumo da bebida para a saúde, disponibilidade de diferentes produtos como cafés premium e as cápsulas, divulgação de concursos de qualidade, levando os consumidores a ter interesse por produtos inovadores e dar maior atenção às diferenciações quanto à região de produção, certificações, sabores, entre outros (ABICS, 2020; EUROMONITOR INTERNATIONAL, 2017). A preferência do consumidor brasileiro se concentra no café torrado e moído (81% do consumo) (ABIC, 2019), devido aos atributos sensoriais de sabor e aroma bastante característicos das bebida obtidas com esse material. Verifica, no entanto, uma tendência de crescimento no setor de café solúvel, numa média de 4,2 % nos últimos 3 anos, superior ao verificado para café torrado e moído (ABICS, 2020), mostrando o potencial para inovação na área (EUROMONITOR INTERNATIONAL, 2017).

Entre as inovações no seguimento de café solúvel, a Nestlé tem em seu portfólio um produto instantâneo adicionado de café torrado micronizado, já disponível em alguns mercados (Japão, Reino Unido, México) (NESCAFE, 2020; GANES-CHASE, 2013) e recentemente foi lançado na Ásia (COMUNICACAFFE, 2020). Esse produto tem um conceito bastante diferenciado e interessante, principalmente para o consumidor brasileiro, mais habituado ao consumo de bebidas produzidas com café torrado e moído (notadamente café coado/filtrado), de tentar conciliar a praticidade de preparo do café solúvel com o aroma e sabor do café torrado e moído.

Além das mudanças sensoriais, a adição de café torrado micronizado implica em mudanças na composição, uma vez que compostos não hidrossolúveis estarão presentes na bebida de café solúvel. Comparativamente ao produto torrado, maiores teores de compostos hidrossolúveis, como ácidos clorogênicos e cafeína, são encontrados no café solúvel devido a concentração desses compostos durante o processamento para a obtenção do extrato, em que componentes não solúveis são removidos (CORSO; VIGNOLI; BENASSI, 2016; VIGNOLI; BASSOLI; BENASSI, 2011). Além das variações de composição pelo processo, são também observadas diferenças em relação à espécie de café utilizada no café solúvel. Café arábica, principal material na produção de café torrado e moído, apresenta maiores teores de diterpenos, componentes da fração lipídica insaponificável e, portanto, não detectados em café solúvel; cafés canéfora, principal material na produção de cafés solúveis, apresentam maiores teores de cafeína (ZANIN; KITZBERGER; BENASSI, 2020; REIS et al., 2019; CORSO; VIGNOLI; BENASSI, 2016; De SOUZA; BENASSI, 2012).

OBJETIVO

Desenvolver, caracterizar (quanto ao teor de cafeína, ácidos clorogênicos e diterpenos) e avaliar a aceitação sensorial do produto café solúvel adicionado de café torrado micronizado.

MÉTODOS

Material

Extratos solúveis liofilizados de *Coffea arabica* (extrato arábica, EA) e *Coffea canephora* (extrato canéfora, EC) foram produzidos em planta piloto industrial por percolação e fornecidos pela Companhia Iguaçu (Cornélio Procópio, Brasil). Os cafés foram submetidos a processo de torra média, granulados, e extraídos, sendo realizada em uma batelada de 30 kg para cada tipo de café. Durante o processo de extração, água sob pressão a 180 °C foi introduzida na primeira fase de percolação (coluna com o café mais antigo) até atingir o café mais novo na última etapa. No último estágio (sexta coluna), o extrato encontra o café recém carregado, do qual extrai parte dos sólidos solúveis favorecendo a preservação do aroma e do sabor. Os sólidos solúveis do extrato aumentam, mas a temperatura diminui, então a última coluna que contém café fresco é extraída a uma temperatura próxima a 100 °C para minimizar os danos térmicos. A secagem dos extratos foi realizada por liofilização, sendo obtido em torno de 0,8 kg de cada café solúvel. O material foi armazenado em câmara fria a 5 °C até o momento da formulação dos produtos e análises.

Para obtenção do micronizado, empregou-se café torrado comercial, constituído por grãos da espécie arábica.

Formulações: produção e caracterização de cor e umidade

O café torrado foi congelado e moído em moinho IKA A11BASIC (Staufen, Alemanha). Após a moagem, as partículas do produto foram separadas com o uso de peneiras granulométricas padrão, malhas de 600 μm (ASTM nº 30) e 180 μm (ASTM nº 80) por meio de agitação manual. A porção de partículas menores que 180 μm, aqui denominada café torrado micronizado (TM), foi acondicionada em frascos de plástico, armazenados em freezer a -20 °C até o momento do uso.

Foi feita adição de 5% de TM aos extratos EA e EC, com base no teor empregado nos produtos comerciais disponíveis no mercado. Duas formulações foram elaboradas: extrato de café arábica adicionado de café torrado micronizado (EA/TM) e extrato de café canéfora adicionado de café torrado micronizado (EC/TM).

A umidade (3,00 g de amostra) foi determinada em infravermelho OHAUS-MB200 (Parsippany, EUA), a 105 ºC por 7 min. Os resultados foram empregados para o cálculo da composição em base seca.

Para análise de cor, utilizou-se um colorímetro portátil KONICA Minolta-CR400 (Osaka, Japão), acoplado ao tubo de projeção de luz (CR-A33), com geometria 45/0 e iluminante D65. Os valores de L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul) foram obtidos, e calculou-se a tonalidade cromática (h).

Reagentes, padrões e equipamentos

Foram utilizados padrões de cafeína, ácido 5-cafeoilquínico (5-ACQ) (Sigma, EUA), caveol e cafestol (Axxora, USA). Solventes KOH (Vetec, Brasil), tercbutil metil éter grau HPLC (Acrós Organics, EUA); acetonitrila (Fisher Scientific, EUA) e ácido acético glacial (Sigma-Aldrich, EUA) de grau cromatográfico. A água empregada no preparo de padrões e soluções foi obtida por sistema de purificação e filtração Milli-Q (Millipore, França). As fases móveis foram filtradas em membrana de 0,22 µm (Millipore, Brasil), e as amostras em membrana de 0,45 µm (Millipore, Brasil). Foi empregada coluna Spherisorb ODS1 (250 × 4,6 mm × 5 µm) (Waters, EUA).

Determinação dos compostos bioativos

A determinação dos compostos hidrossolúveis, cafeína e ácidos clorogênicos totais (ACG), foi baseada no descrito por Zanin et al. (2016). Para extração, os cafés (0,50 g) foram dissolvidos em 30 mL de água, aquecidos a 80 ºC por 10 min e posteriormente filtrados. As extrações foram feitas em duplicata. As análises foram realizadas em cromatógrafo a líquido Shimadzu (Kyoto, Japão) composto por duas bombas LC-10AD, válvula injetora Rheodyne com alça de amostragem de 20 µL, forno para coluna CTO-20A e detector espectrofotométrico UV/Visível SPD-10A. Os compostos foram eluídos com ácido acético 5% (A) e acetonitrila (B) com vazão de 0,7 mL min^{-1} utilizando o gradiente: 0-5 min: 8% de B; 5-35 min: 15% de B. A detecção foi feita a 272 nm para cafeína e 320 nm para ACG. As análises foram realizadas em duplicata. Os compostos foram identificados com base nos tempos de retenção e coeluição com padrões. A quantificação foi feita por padronização externa usando curvas analíticas de 6 pontos na faixa de 50 a 3000 mg 100 g^{-1} de cafeína e 5-ACQ (R^2 > 0,99). O teor de ACG foi estimado pela soma das áreas dos compostos detectados a 320 nm (ZANIN et al., 2016), utilizando-se o 5-ACQ como padrão para a quantificação.

A extração e análise de caveol e cafestol foi adaptada de Dias et al. (2010). As amostras (0,20 g para o café torrado micronizado e 0,30 g para os extratos) foram saponificadas com 2,0 mL de KOH 2,5 mol L^{-1} (em etanol 96%, v/v) a 80 ºC por 1 h. Após adição de 2,0

mL de água destilada, foi feita extração da fração insaponificável com 2,0 mL de tercbutil metil éter, sob agitação, e centrifugação por 3 min a 3000 rpm. Na sequência, adicionou-se à fase orgânica água (2 mL) para limpeza, e a fase aquosa foi descartada. A solução de extrato foi evaporada a 70 ºC. O extrato etéreo foi ressuspenso e apropriadamente diluído na fase móvel. As extrações foram realizadas em duplicata. Utilizou-se um cromatógrafo a líquido Surveyor Plus (Thermo Scientific, EUA) e detector de arranjo de diodos (Surveyor PDA Plus). Foi empregada eluição isocrática de acetonitrila:água (55:45, v/v) na vazão de 0,9 mL min^{-1}, e detecção a 220 nm (cafestol) e a 290 nm (caveol). As análises foram realizadas em duplicata. A quantificação foi feita por padronização externa usando curvas analíticas de seis pontos na faixa de 50 a 1000 mg 100 g^{-1} para caveol e cafestol ($R^2 > 0,99$).

Os teores de compostos bioativos nos produtos EA/TM e EC/TM foram estimados com base na proporção de cada composto bioativo presente em cada uma das frações.

Os resultados foram analisados por ANOVA, considerando as amostras como causa de variação, e teste de médias de Tukey ($p < 0,05$) por meio do programa Statistica 10 (STATSOFT, 2010).

Avaliações sensoriais

As avaliações foram realizadas em laboratório de Análise Sensorial em cabines individuais sob luz branca. Participaram dos testes consumidores regulares de café, e o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual de Londrina (CAAE 07753412.7.0000.5231). As bebidas (cerca de 30 mL) foram servidas em copos de isopor descartáveis, codificados com número de três dígitos aleatórios, seguindo-se um delineamento experimental de blocos completos balanceados e aleatorizados.

As bebidas dos extratos, EA e EC, e dos produtos, EA/TM e EC/TM, foram preparadas conforme Kobayashi e Benassi (2012). Utilizou-se a proporção de 1,4 g de café solúvel e 4,75 g de sacarose para 50 mL de água filtrada a 95 °C.

As bebidas dos extratos e das formulações foram comparadas por teste de diferença para verificar se a adição de café torrado micronizado (5%) era percebida sensorialmente. Foram empregados dois testes triangulares, avaliando os grupos de amostras, EA e EA/TM, e EC e EC/TM, cada teste empregou uma equipe de 30 consumidores. Os parâmetros de sensibilidade do teste foram definidos como $\alpha = 0,01$ e proporção de discriminadores (Pd) = 50%, obtendo-se potência do teste de 0,91. Os resultados foram avaliados empregando o programa V-power (OP&P Product Research, 2020).

Para aceitação, empregou-se equipe de 100 consumidores de bebidas de café, jovens (93% com idade inferior a 35 anos), em maior parte constituída por mulheres (62%) e com diferentes graus de escolaridade e renda familiar. A maioria da equipe (75%) consumia os

dois tipos de cafés, torrado e moído e café solúvel. Entre os consumidores de café solúvel, a frequências de consumo era variável: diária (27%), semanal (27%) ou esporádica (46%) de consumo.

As bebidas foram servidas de forma monádica e sequencial, e a impressão global foi avaliada em escala hedônica híbrida de 10 cm, ancorada nas extremidades e no meio pelas expressões, "desgostei extremamente", "não gostei, nem desgostei" e "gostei extremamente" (VILLANUEVA; PETENATE; SILVA, 2005) Os escores hedônicos obtidos foram submetidos à ANOVA, sendo as bebidas e os avaliadores considerados como causa de variação, e teste de médias de Tukey ($p < 0,05$). O programa Statistica 10 (STATSOFT, 2010) foi utilizado para a análise.

RESULTADOS

Os extratos EA e EC apresentaram cor marrom amarelada (h = 62,5) e valores de luminosidade (L*) de 24,6 e 20,0, respectivamente; no café torrado micronizado observou-se uma cor marrom escura e avermelhada (h = 53; L* = 13,3).

Quanto a composição, os extratos EA e EC apresentaram maiores teores de cafeína e ACG ($p < 0,05$) que o café torrado micronizado, mas diterpenos foram detectados apenas em TM. Quanto aos produtos de café solúvel, EA/TM e EC/TM, observou-se a presença de diterpenos pela introdução de TM e maior teor de cafeína e ACG ($p < 0,05$) para o EC/TM devido a maior concentração desses compostos no EC (Tabela 1).

Tabela 1. Teores de cafeína, ácidos clorogênicos totais (ACG), caveol e cafestol dos extratos, café torrado micronizado e produtos solúveis.

Material	Cafeína	ACG	Caveol	Cafestol
	(g 100 g^{-1})	(g 100 g^{-1})	(g 100 g^{-1})	(g 100 g^{-1})
EA[1]	$2,08^{c} \pm 0,03$	$3,33^{a} \pm 0,34$	nd	nd
EC[2]	$3,01^{a} \pm 0,01$	$2,41^{bc} \pm 0,09$	nd	nd
TM[3]	$0,74^{e} \pm 0,01$	$0,96^{d} \pm 0,02$	$0,75^{a} \pm 0,06$	$0,60^{a} \pm 0,06$
Produtos				
EA/TM	$2,01^{d} \pm 0,02$*	$3,22^{ab} \pm 0,32$*	$0,04^{b} \pm 0,00$*	$0,03^{b} \pm 0,00$*
EC/TM	$2,90^{b} \pm 0,00$*	$2,34^{c} \pm 0,08$*	$0,04^{b} \pm 0,00$*	$0,03^{b} \pm 0,00$*

[1]Extrato arábica; [2]extrato canéfora; [3]café torrado micronizado. *Valores calculados com base na proporção dos ingredientes (95% extrato solúvel e 5% café torrado micronizado). nd: não detectado. Valores de média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$).

Na avaliação sensorial, foi inicialmente avaliado se a adição de café torrado micronizado era percebida sensorialmente nos produtos de café solúvel EA/TM e EC/TM. Para as bebidas à base de extrato arábica, houve diferença sensorial significativa entre EA e EA/TM ($p = 0,01$), ao contrário do observado nas formulações com café canéfora, em que os

produtos EC e EC/TM foram considerados similares (p = 0,02) (91% de confiança), considerando a proporção de discriminadores estabelecida (Pd = 0,5).

Na sequência, verificou-se o efeito da adição de café torrado micronizado na aceitação dos produtos solúveis comparativamente aos extratos (Tabela 2). As bebidas adicionadas de café torrado EA/TM e EC/TM foram igualmente aceitas (p > 0,05) com nota média de 6,3 (em uma escala de 10) e não diferiram dos extratos.

Tabela 2. Aceitação sensorial das bebidas dos extratos e dos produtos.

Bebidas		*Aceitação global*		
		Equipe (n = 100)	Consumidores de café torrado e moído e solúvel (n = 75)	Consumidores apenas de café torrado e moído (n = 25)
Extratos	EA[1]	6,21[a]	6,42[a]	5,58[a]
	EC[2]	6,28[a]	6,40[a]	5,92[a]
Produtos	EA/TM[3]	6,20[a]	6,21[a]	6,17[a]
	EC/TM[4]	6,46[a]	6,63[a]	5,94[a]

[1]Extrato arábica; [2]extrato canéfora; [3]café solúvel arábica adicionado de café torrado micronizado; [4]café solúvel canéfora adicionado de café torrado micronizado. Valores médios seguidos de letras diferentes na coluna indicam ocorrência de diferença significativa (Tukey, p < 0,05) entre as notas referentes à escala hedônica de 10 cm (0 - desgostei extremamente, 10 - gostei extremamente).

DISCUSSÃO

Caracterização dos extratos secos, do café torrado micronizado e dos produtos solúveis

Os extratos EA e EC apresentaram cor próxima a descrita para cafés solúveis de torra média (VIGNOLI; BASSOLI; BENASSI, 2011) e dentro da faixa relatada para café solúvel comercial brasileiro – L* de 19,5 a 43,7 (MARCUCCI et al., 2013). O café torrado micronizado apresentou cor semelhante à descrita para cafés de torra escura (CAMPANHA; DIAS; BENASSI, 2010; VIGNOLI et al., 2014) e cafés torrado e moído comerciais brasileiros (L* de 14 a 21,3 e h de 50 a 58) (De SOUZA et al., 2010)

A maior concentração de cafeína e ACG nos extratos, comparativamente ao café torrado micronizado (Tabela 1), pode ser atribuída ao processo de produção de café solúvel, em que componentes insolúveis em água, são removidos durante a extração, que resulta na concentração de sólidos solúveis e consequentemente dos compostos hidrossolúveis, cafeína e ácidos clorogênicos. Os diterpenos caveol e cafestol foram observados no café torrado micronizado, e nos produtos solúveis EA/TM e EC/TM pela adição de TM (Tabela 1).

Os teores de cafeína dos extratos (EA e EC) e produtos de café solúvel (EA/TM e EC/TM) ficaram abaixo ao reportado para cafés solúveis produzidos com café arábica (2,6 a 4,1 g $100g^{-1}$) e canéfora (3,8 a 5,8 g $100g^{-1}$) (CORSO; VIGNOLI; BENASSI, 2016; VIGNOLI;

BASSOLI; BENASSI, 2011), mas dentro da faixa relatada para cafés solúveis comerciais, de 1,6 a 4,1 g $100g^{-1}$ (NOGUEIRA; TRUGO, 2003; RODRIGUES; BRAGAGNOLO 2013; MARCUCCI et al., 2013). A cafeína é um alcaloide que contribui com o amargor e adstringência da bebida (GLOESS et al., 2014; BARBOSA et al., 2019), além de efeitos positivos para a saúde como a ação estimulante e função antioxidante e neuroprotetora (VIEIRA; GASPAR; SANTOS, 2020; BALDISSERA et al., 2019; GROSSO et al., 2017).

Teores de 5-ACQ, principal isômero da família dos ácidos clorogênicos (correspondente de 30 a 50% do ACG), são descritos numa ampla faixa (de 0,2 a 4,2 g 100 g^{-1}) para cafés solúveis comerciais e extratos produzidos com cafés arábica e canéfora (de 3,8 a 5,8 g $100g^{-1}$). Existem poucos dados na literatura para ACG em cafés solúveis, mas Corso, Vignoli e Benassi (2016) reportaram teores de 2,4 a 5,7 g $100g^{-1}$ para extratos produzidos com cafés arábica e canéfora; os extratos EA e EC, e produtos EA/TM e EC/TM ficaram dentro dessa faixa. Ácidos clorogênicos correspondem a uma família de compostos fenólicos, também associados a sensações de amargor e adstringência (GLOESS et al., 2014; BARBOSA et al., 2019), com expressiva atividade antioxidante, e cuja ingestão é relacionada a benefícios cardiovasculares, efeito neuro e hepatoprotetivo, decréscimo da pressão arterial, dentre outros efeitos positivos à saúde (METWALLY et al., 2020; CHEN et al., 2019; COSTABILE; SARNSAMAK; HAUGE-EVANS, 2018).

O maior diferencial na composição dos produtos solúveis EA/TM e EC/TM com relação aos cafés solúveis de mercado é a presença dos diterpenos caveol e cafestol, que foram incorporados em baixos teores pela adição de café torrado micronizado (Tabela 1). Ingestão de altos teores de cafestol já foi associada a efeito hipercolesterolêmico, mas consumo regular de diterpenos em quantidades moderadas tem efeito positivo, e esses compostos tem sido destacados pelos efeitos anticarcinogênicos, antioxidantes, anti-inflamatórios e hepatoprotetores (FÜRSTENAU; SOUZA; OLIVEIRA, 2019; COSTABILE; SARNSAMAK; HAUGE-EVANS, 2018; MOEENFARD; ALVES, 2020).

Observou-se dessa forma, para os produtos formulados propostos, um interessante balanço de componentes bioativos.

Avaliação sensorial

A percepção da adição de TM nos extratos foi diferenciada dependente da matriz: foi percebida diferença entre produtos com extrato de café arábica (EA e EA/TM) mas não nas formulações produzidas com canéfora (comparando EC e EC/TM).

Interessante observar que apesar da presença de TM ter sido percebida nos produtos de café arábica, a adição de TM não modificou a aceitação das bebidas produzidas a partir das duas matrizes (Tabela 2). Considerando que a equipe tinha participantes com diferentes

níveis de familiaridade com o consumo do produto solúvel, foi avaliado separadamente o resultado dos consumidores de café torrado e moído e café solúvel, e dos consumidores somente de café torrado e moído. Observou-se o mesmo comportamento na aceitação, indicando que o produto desenvolvido pode ter aceitação sensorial similar ao café solúvel convencional para consumidores de café, independentemente da familiaridade com o produto solúvel (Tabela 2).

Na produção de cafés solúveis, destaca-se no mercado brasileiro o uso de café canéfora pelo menor preço e maior rendimento na extração de sólidos solúveis, sendo a comercialização de cafés solúveis produzidos a partir de café arábica ainda bastante limitada. Tendo em vista os resultados que mostram uma interessante composição considerando os compostos bioativos, o fato da adição de TM não ser perceptível na bebida de café canéfora e a aceitação sensorial do produto (similar ao obtido para produto de café arábica), o emprego de café canéfora na produção de extrato solúvel adicionado de café torrado micronizado poderia permitir a obtenção de produto de menor preço e com bom balanço de bioativos e aceitação sensorial.

CONCLUSÃO / CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram desenvolvidas duas formulações de café solúvel adicionado de café torrado micronizado tendo como base extratos de café arábica e café canéfora. Observou-se nos produtos formulados (EA/TM e EC/TM) um interessante balanço de componentes bioativos. A composição apresentou como diferencial a presença de caveol e cafestol, oriundos do café torrado micronizado (TM); o produto com base canéfora apresentou maior teor de cafeína e o com base arábica, maior teor de ACG. A adição de café torrado micronizado (TM) na faixa de estudo (5%) foi percebida sensorialmente somente no EA/TM. As bebidas foram igualmente aceitas e a adição de café torrado micronizado não modificou a aceitação. Considerando-se o conjunto dos resultados preconiza-se o uso do extrato canéfora na produção de café solúvel adicionado de café torrado micronizado.

REFERÊNCIAS

1. ABIC - Associação Brasileira da Indústria de Café. Consumo de Café no Brasil aumenta 4,80% e chega a 21 milhões de sacas (2019). Disponível em: http://consorciopesquisacafe.com.br/arquivos/consorcio/consumo/Press_release_consumo_final _vs_04_02_19a.pdf. Acesso em: 03 nov. 2020.

2. ABICS - Associação Brasileira da Indústria de Café Solúvel. Relatório do Café solúvel do Brasil Análise de desempenho. Janeiro de 2020. Disponível em: https://agenciap1.files.wordpress.com/2020/01/relatc3b3rio-do-cafc3a9-solc3bavel-do-brasil-jan2020.pdf. Acesso em: 03 nov. 2020.

3. BALDISSERA, M. D.; SOUZA, C. F.; ABBAD, L. B.; VERDI, C. M.; SANTOS, R. C.; SILVA, A. S.; BALDISSEROTTO, B. Dietary supplementation with caffeine increases survival rate, reduces microbial load and protects the liver against *Aeromonas hydrophila*-induced hepatic damage in the grass carp *Ctenopharyngodon idella*. Microbial Pathogenesis, London, v. 135, p. 103637, 2019. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103637

4. BARBOSA, M S. G.; FRANCISCO, J. S.; SCHOLZ, M. B. S.; KITZBERGER, C. S. G.; BENASSI, M. T. Dynamics of sensory perceptions in arabica coffee brews with different roasting degrees. Journal of Culinary Science & Technology, Philadelphia, v. 17, n. 5, p. 453-464, 2019. https://doi.org/10.1080/15428052.2018.1489321

5. CAMPANHA, F. G.; DIAS, R. C. E.; BENASSI, M. T. Discrimination of coffee species using kahweol and cafestol: Effects of roasting and of defects. Coffee Science, Lavras, v. 5, n. 1, p. 87-96, 2010. https://doi.org/10.25186/cs.v5i1.265

6. CHEN, Y.; JIANG, S.; CHEN, Q.; LIU, Q.; KONG, B. Antioxidant activities and emulsifying properties of porcine plasma protein hydrolysates modified by oxidized tannic acid and oxidized chlorogenic acid. Process Biochemistry, London, v. 79, p. 105-113, 2019. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.12.026

7. COMUNICACAFFE. Nescafé Red Cup with Arabica Micronized Roasted Coffee launches in Thailand (2020). Disponível em: https://www.comunicaffe.com/nescafe-red-cup-with-arabica--micronized-roasted-coffee-launches-in-thailand/. Acesso em: 25 out. 2020.

8. CORSO, M. P.; VIGNOLI, J. A; BENASSI, M. T. Development of an instant coffee enriched with chlorogenic acids. Journal of Food Science and Technology, Karnataka, v. 53, p. 1380-1388, 2016. http://dx.doi.org/10.1007/s13197-015-2163-y

9. COSTABILE, A.; SARNSAMAK, K.; HAUGE-EVANS, A. C. Coffee, type 2 diabetes and pancreatic islet function – A mini-review. Journal of Functional Foods, Amsterdan, v. 45, p. 409-416, 2018. https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.04.011

10. De SOUZA, R. M. N.; BENASSI, M. T. Discrimination of commercial roasted and ground coffees according to chemical composition. Journal of the Brazilian Chemical and Society, São Paulo, v. 23, n. 7, p. 1347-1354, 2012. http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532012000700020

11. De SOUZA, R. M. N.; CANUTO, G. A. B.; DIAS, R. C. E.; BENASSI, M. T. Teores de compostos bioativos em cafés torrados e moídos comerciais. Química Nova, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 885-890, 2010. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010000400023

12. DIAS, R. C. E.; CAMPANHA, F. G.; VIEIRA, L. G. E.; FERREIRA, L. P.; POT, D.; MARRACCINI, P.; BENASSI, M. T. Evaluation of kahweol and cafestol in coffee tissues and roasted coffee by a new High-Performance Liquid Chromatography Methodology. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v. 58, n. 1, p. 88-93, 2010. https://doi.org/10.1021/jf9027427

13. EUROMONITOR INTERNATIONAL. Tendências do mercado de cafés em 2017. Disponível em: http://consorciopesquisacafe.com.br/arquivos/consorcio/consumo/tendencias_do_mercado_cafe _2017.pdf. Acesso em: 4 out. 2020.

14. FÜRSTENAU, C. R.; SOUZA, I. C. C.; OLIVEIRA, M. R. The effects of kahweol, a diterpene present in coffee, on the mitochondria of the human neuroblastoma SH-SY5Y cells exposed to hydrogen peroxide. Toxicology in Vitro, New York, v. 61, p. 104601, 2019. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2019.104601

15. GANES-CHASE, J. Instant changes still take time: Outlook for soluble markets. 2013. Disponível em: <http://www.ico.org/event_pdfs/seminar-consumption/jganesconsulting-e.pdf>. Acesso em: 13 out. 2020.

16. GLOESS, A. N.; VIETRI, A.; WIELAND, F.; SMRKE, S.; SCHÖNBÄCHLER, B.; LÓPEZ, J. A.; PETROZZI, S.; BONGERS, S.; KOZIOROWSKI, T.; YERETZIAN, C. Evidence of different flavour formation dynamics by roasting coffee from different origins: On-line analysis with PTR--ToF-MS. International Journal of Mass Spectrometry, Amsterdan, v. 365–366, p. 324–337, 2014. https://doi.org/10.1016/j.ijms.2014.02.010

17. GROSSO, G.; GODOS, J.; GALVANO, F.; GIOVANNUCCI, E. L. Coffee, Caffeine, and Health Outcomes: An Umbrella Review. Annual Review of Nutrition, Palo Alto, v. 37, n. 1, p. 131–156, 2017. https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071816-064941

18. KOBAYASHI, M. L.; BENASSI, M. T. Caracterização sensorial de cafés solúveis comerciais por Perfil Flash. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 33, suppl. 2, p. 3081-3092, 2012. https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33Supl2p3081

19. MARCUCCI, C. T.; ALMEIDA, M. B.; NIXDORF, S. L.; BENASSI, M. T. Teores de trigonelina, ácido 5-cafeoilquínico, cafeína e melanoidinas em cafés solúveis comerciais brasileiros. Química Nova, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 544-548, 2013. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422013000400011

20. METWALLY, D. M.; ALAJMI, R. A.; EL-KHADRAGYD, M. F.; YEHIA, H. M.; AL-MEGRIN, W. A.; AKABAWY, A. M. A.; AMIN, H. K.; MONEIM, A. E. A. Chlorogenic acid confers robust neuroprotection against arsenite toxicity in mice by reversing oxidative stress, inflammation, and apoptosis. Journal of Functional Foods, Amsterdan, v. 75, p. 104202, 2020. https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104202

21. MOEENFARD, M.; ALVES, A. New trends in coffee diterpenes research from technological to health aspects. Food Research International, Essex, v. 134, p. 109207, 2020. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109207

22. NESCAFE Nescafé Gold Barista Style (2020). Disponível em: https://www.nescafe.com/gb/our-coffees/gold/nescafe-gold-blend-barista-style. Acesso em: 14 out. 2020.

23. NOGUEIRA, M.; TRUGO, L. C. Distribuição de isômeros de ácido clorogênico e teores de cafeína e trigonelina em cafés solúveis brasileiros. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 23, n. 2, p. 296-299, 2003. http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612003000200033

24. OIC - Organização Internacional do Café. Relatório sobre o mercado do café – Setembro de 2020. Disponível em: http://www.ico.org/documents/cy2019-20/cmr-0920-p.pdf. Acesso em: 18 out. 2020.

25. OP & P PRODUCT RESEARCH. V-Power Disponível em: http://www.senstools.com/v-power.html. Acesso em: 18 out. 2020.

26. REIS, T. A. D.; DE CONTI, A. J.; BARRIENTOS, E. A. L.; MORI, A. L. B.; BENASSI, M. T. Instant coffee with steamed PVA beans: Physical-chemical and sensory aspects. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 43, p. e026119, 2019. https://doi.org/10.1590/1413-7054201943026119

27. RODRIGUES, N. P.; BRAGAGNOLO, N. Identification and quantification of bioactive compounds in coffee brews by HPLC–DAD–MS. Journal of Food Composition and Analysis, San Diego, v. 32, p. 105-115, 2013. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.09.002

28. STATSOFT. STATISTICA for Windows: computer program manual. Versão 10. Tulsa: Software Inc., 2010.

29. VIEIRA, A. J. S. C.; GASPAR, E. M.; SANTOS, P. M. P. Mechanisms of potential antioxidant activity of caffeine. Radiation Physics and Chemistry, London, v. 174, p. 108968, 2020. https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2020.108968

30. VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G.; BENASSI, M. T. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. Food Chemistry, Barking, v. 124, n. 3, p. 863-868, 2011. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.008

31. VIGNOLI, J. A.; VIEGAS, M. C.; BASSOLI, D. G.; BENASSI, M. T. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. Food Research International, Essex, v. 61, p. 279-285, 2014. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.006

32. VILLANUEVA, N. D. M.; PETENATE, A. J.; SILVA, M. A. A. P. Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. Food Quality and Preference, Barking, v. 16, n. 8, p. 691-703, 2005. https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2005.03.013

33. ZANIN, R. C.; CORSO, M. P.; KITZBERGER, C. S. G.; SCHOLZ, M. B. S.; BENASSI, M. T. Good cup quality roasted coffees show wide variation in chlorogenic acids content. LWT - Food Science and Technology, London, v. 74, p. 480-483, 2016. http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.012

34. ZANIN, R. C.; KITZBERGER, C. S. G.; BENASSI, M. T. Characterization of roasted *Coffea arabica* species by the relationship between caffeine and diterpenes contents. Brazilian Archives of Biology and Technology, Curitiba, v. 63, e20180752, 2020. https://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2020180752

13

Elaboração de tempero em pó obtido a partir do resíduo de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) com adição de pólen apícola

- Elen Vanessa Costa da **Silva**
  UEPA
- Marília Luana Martins da **Silva**
  UEPA
- Brenda Cabral **Alves**
  UEPA

doi 10.37885/201102171

RESUMO

Este estudo teve como objetivo o aproveitamento dos resíduos provenientes do processamento de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), para a elaboração de farinha de pescado e posterior obtenção de tempero em pó adicionado de pólen apícola e comparação com uma formulação comercial. Foi realizada a caracterização microbiológica das amostras, e os resultados mostraram conformidade com os parâmetros exigidos pela legislação, uma vez que não foram observados valores significativos de coliformes a 45ºC, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e ausência de *Salmonella spp*. Além disso, o resultado da caracterização físico-química mostrou que as amostras apresentaram atividade antioxidante e que o teor de proteínas e de valor calórico apresentou-se elevado, bem como o teor de lipídios foi superior ao padrão exigido pela legislação. Foi realizado teste afetivo para verificar a aceitabilidade do produto e a intenção de compra, os quais mostraram resultados satisfatórios. O rendimento do produto final foi baixo e o custo de produção foi inferior a R$ 0,05 para ambas as amostras analisadas. Portanto, o aproveitamento dos resíduos de pescado é uma alternativa viável para a elaboração de novos produtos, uma vez que possui baixo custo de produção e tem a capacidade de agregar valor a um produto que antes era desperdiçado.

Palavras-chave: Farinha de Pescado, Aproveitamento de Resíduo, Pescada Amarela, Tempero em pó.

INTRODUÇÃO

O pescado é um alimento importante na dieta de inúmeros grupos populacionais, não apenas como fonte de proteínas de alta qualidade nutricional, mas ainda como reserva significativa de ácidos graxos poliinsaturados da série ômega 3 (ω-3) e dos que apresentam os ácidos linoléico e linolênico em sua composição, aos quais são atribuídos numerosos benefícios à saúde humana, por serem considerados essenciais por não serem sintetizados pelo organismo (Ramos Filho *et al.*, 2008; Lehninger *et al.*, 1998).

Desta forma, devem ser estudadas estratégias alternativas que busquem a popularização e aumento do consumo desses produtos, além de agregar valor e melhorar a rentabilidade das empresas, uma vez que muitas descartam inadequadamente os resíduos provenientes do processamento do pescado. Uma das formas de aproveitamento desses resíduos é a produção de farinha de pescado, a qual é um importante produto que se destaca pelo seu elevado valor nutricional, e a adição de uma pequena quantidade dessa farinha confere ao alimento proteínas de alto valor biológico, sais minerais (cálcio, fósforo e ferro) e gordura de boa qualidade (Bombardelli *et al.*, 2005; Godoy *et al.*, 2010).

Para a conservação desses componentes, comumente são utilizados compostos sintéticos, principalmente em alimentos com alto potencial de oxidação, pois são antioxidantes efetivos e muito empregados na indústria de alimentos, porém podem apresentar atividades mutagênicas. Neste sentido, a procura de agentes antioxidantes naturais tem recebido atenção especial por parte dos pesquisadores da indústria alimentícia. Um desses agentes pode ser o pólen, pois, a sua ação biológica é decorrente da presença de compostos fenólicos, tais como flavonoides e ácidos fenólicos, que dentre outras propriedades biológicas possui ação antioxidante (Carpes *et al.*, 2008).

OBJETIVO

Aproveitar os resíduos do processamento de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) para a obtenção de farinha de pescado e posterior elaboração de tempero em pó para macarrão instantâneo, com adição de pólen apícola, analisando suas características microbiológicas, físico-químicas, análise de custo e rendimento do produto final, e suas características sensoriais comparadas com um tempero em pó já existente no mercado.

MÉTODOS

Composição do tempero

Foram realizados testes preliminares para a escolha de duas formulações finais para serem comparadas com o tempero em pó já existente no mercado, com sabor de camarão (marca Nissin ®). A tabela 1 mostra a formulação utilizada para a elaboração do tempero em pó de resíduos de pescada amarela, conforme metodologia adaptada de Souza Neto & Neves (2011).

Tabela 1. Formulação utilizada para a elaboração do tempero em pó.

Componentes	Formulação A*	Formulação B*
Farinha de pescado	80	90
Cloreto de sódio	6	3
Glutamato monossódico	5	2
Alho	4	2
Urucum	4	2
Pólen apícola	1	1
TOTAL	100	100

*Valores expressos em porcentagem (%).

Os resíduos provenientes da filetagem de pescada amarela foram adquiridos em uma indústria de beneficiamento de pescado localizada no estado do Pará, e os mesmos foram embalados em saco plástico de polietileno e acondicionados em freezer a -18ºC, para posteriormente, serem processados.

Preparo do tempero

Após a obtenção e transporte da matéria-prima, o processo de elaboração do tempero pronto em pó foi realizado conforme metodologia adaptada de Caldeira *et al*. (2011) mostrado na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma do processo de elaboração do tempero em pó.

Fonte: Adaptado de Caldeira *et al*. (2011).

Para a elaboração da farinha de peixe utilizada, os resíduos adquiridos foram submetidos a dois processos de desidratação. No primeiro processo, o resíduo foi previamente desidratado em um fogão industrial a 200 ºC por um período de 1 hora e 30 minutos, a fim de remover parte da água presente na amostra. Posteriormente, o resíduo foi submetido à 2ª desidratação, com o auxílio de uma estufa com circulação de ar forçada (de marca IN NOVA) a uma temperatura de 100 °C por um período de aproximadamente 7 horas, com a finalidade de retirar o excesso de água presente no mesmo. Em seguida, a matéria-prima desidratada foi deixada em descanso até atingir a temperatura ambiente e submetida à trituração em um liquidificador (de marca Walita) a fim de reduzi-la a partículas menores. Feito isso, a massa foi peneirada com o objetivo de possibilitar a aquisição de grânulos uniformes obtendo-se assim a farinha de peixe. Posteriormente, foi adicionado pólen apícola, com a finalidade de atuar como antioxidante natural, e condimentos para agregar sabor ao produto, sendo obtido o tempero em pó de resíduos de pescada amarela. As amostras do tempero em pó foram armazenadas em recipiente de vidro, sem a influência de oxigênio e de luz.

Análises microbiológicas

Foi realizada a caracterização das amostras A e B. As análises microbiológicas para *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp., Bacillus cereus* e Coliformes termotolerantes, segundo o método Compendium (Downes & Ito, 2001) e apresentaram seus resultados baseados através da Resolução RDC nº 12, da ANVISA (Brasil, 2001).

Análises físico-químicas

A caracterização físico-química das amostras foi realizada em triplicata.

Cinzas: Em mufla à 600°C até incineração total (Instituto Adolfo Lutz, 2008);

Lipídios: Extração por solventes (éter de petróleo), em aparelho de Soxleth (Instituto Adolfo Lutz, 2008);

Proteínas: Método de Kjeldahl (Instituto Adolfo Lutz, 2008);

Umidade: Estufa com circulação de ar à 105 °C (Instituto Adolfo Lutz, 2008);

Carboidrato: Análise realizada por diferença (Brasil, 2003);

Valor calórico: Somatória dos teores de carboidratos, proteínas e gordura, conforme coeficiente de Atwater (Instituto Adolfo Lutz, 2008);

Antioxidante: Método de captura dos radicais DPPH e ABTS (Rufino *et al.*, 2007); pH: Realizado em pHmetro (Instituto Adolfo Lutz, 2008);

Acidez: Titulometria (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Aplicação da análise sensorial

A avaliação foi feita utilizando 80g de macarrão instantâneo da marca Nissin®, o qual foi submetido a cozimento por 3 minutos em 400ml de água fervente, seguido da adição de 5g do tempero em pó de resíduos de pescada amarela.

Foi realizado teste afetivo para verificar a aceitabilidade dos consumidores quanto às formulações A, B e a amostra existente no mercado (sabor de camarão), avaliando quesitos de forma globalizada, através de 50 julgadores não treinados, de ambos os sexos e com idade superior a 18 anos, na qual foi utilizada escala hedônica estruturada com 9 pontos variando de gostei muitíssimo (9) a desgostei muitíssimo (1), e de intenção de compra utilizando uma escala de 5 pontos variando de certamente não compraria (1) a certamente compraria (5), seguindo o método de Dutcosky (2011).

Análise de rendimento

Os cálculos de rendimento foram realizados através da relação entre o produto final e a quantidade inicial de matéria-prima (Cahill, 1980).

Análise de custo

Para realização do cálculo de custo foi feita a relação entre preço e quantidade de matéria-prima utilizada para a elaboração do produto (Santos, 1999).

Análise estatística

Os resultados da avaliação sensorial foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância ($p<0,05$), por meio do teste de Tukey, através da utilização do programa Assistat versão 7.7.

RESULTADOS

Análises microbiológicas

Os resultados da análise microbiológica do tempero em pó estão expostos na Tabela 2, bem como os valores da legislação segundo Brasil (2001).

Tabela 2. Resultados das análises microbiológicas do tempero em pó.

Análises	Formulação A	Formulação B	Legislação (Brasil, 2001)
Coliformes a 45ºC	11 NMP/g	3 NMP/g	Máx. 100 NMP/g
Staphylococcus aureus	$<1x10^1$ UFC/g	$<1x10^1$ UFC/g	Máx. $5x10^2$ UFC/g
Bacillus cereus	$<1x10^1$ UFC/g	$<1x10^1$ UFC/g	Máx. $3x10^3$ UFC/g
Salmonella spp.	Aus	Aus	Aus

NMP/g= Número Mais Provável por grama de amostra; UFC/g= Unidade Formadora de Colônias por grama de amostra; Aus= Ausência em 25g de amostra.

Os resultados da análise microbiológica estão de acordo com as exigências estabelecidas pela Resolução – RDC nº12, de 02 de Janeiro de 2001 para misturas ou pós para preparo de massas alimentícias e outras preparações, enquadrados na categoria de serem consumidos após adição de líquido, com emprego de calor, mostrando que o produto não oferece riscos para o consumidor, confirmando assim a sanidade do tempero e que os procedimentos higiênico-sanitários foram seguidos de maneira correta, desde a obtenção da matéria-prima até o processamento.

Análises físico-químicas

Os resultados da caracterização físico-química estão apresentados na Tabela 3, assim como os valores da legislação de acordo com Brasil (1997).

Tabela 3. Caracterização físico-química das amostras de tempero em pó.

Análises	Formulação A	Formulação B	Legislação (Brasil, 1997)
Cinzas (%)	$17,01±0,01^a$	$14,52±0,03^b$	-
Lipídios (%)	$18,24±0,41^a$	$19,64±0,55^b$	Máx. 10%
Proteínas (%)	$51,46±0,50^a$	$53,49±0,01^b$	Mín. 40%
Umidade (%)	$1,97±0,03^a$	$1,77±0,05^b$	Máx. 10%
Carboidrato (%)	$11,32±1,50^a$	$10,58±1,00^a$	-
Valor calórico (Kcal)	$415,3±1,00^a$	$433,0±1,00^b$	-
Antioxidante DPPH (g temp./g)	$17903,18±4,18^a$	$19893,16±5,12^a$	-
Antioxidante ABTS (μM trolox/g)	$10,66±0,10^a$	$7,84±0,05^b$	-
pH	$6,47±0,04^a$	$6,45±0,03^a$	Máx. 6,8
Acidez	$2,08±0,27^a$	$2,00±0,37^a$	-

As médias das amostras com letras iguais, não diferem entre si ao nível de 5% de significância ($p<0,05$).

Com base nos resultados, pode-se verificar que os parâmetros avaliados estão de acordo com as determinações exigidas pelo regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal – RIISPOA (Brasil, 1997), para farinhas de pescado de 2ª

qualidade, com exceção do teor de lipídio de ambas as formulações, o qual foi superior ao valor máximo permitido pela legislação, de 10%.

Os resultados mostram que as duas amostras avaliadas apresentaram diferença significativa entre si ao nível de 5% de significância, com relação aos parâmetros de cinzas, lipídios, proteínas, umidade, valor calórico e capacidade antioxidante pelo método ABTS (μM trolox/g).

A amostra B apresenta uma maior quantidade de farinha de peixe em sua composição (90%), proporcionando assim uma maior concentração de lipídios e proteína, interferindo em um menor valor de umidade e maior valor calórico.

O teor de cinzas dos dois tratamentos foi estatisticamente diferente entre si devido ao fato de que a amostra B possui menor quantidade de condimentos em sua formulação, visto que os mesmos possuem componentes importantes (potássio, sódio, fósforo, selênio, zinco, entre outros), sendo grandes influenciadores nos valores encontrados para esta análise.

Os resultados da capacidade antioxidante pelo método DPPH mostram que a formulação A apresentou maior capacidade antioxidante que a amostra B, pois quanto menor o valor da concentração do radical DPPH, maior é a capacidade antioxidante dos compostos presentes na amostra (Carpes *et al.*, 2008).

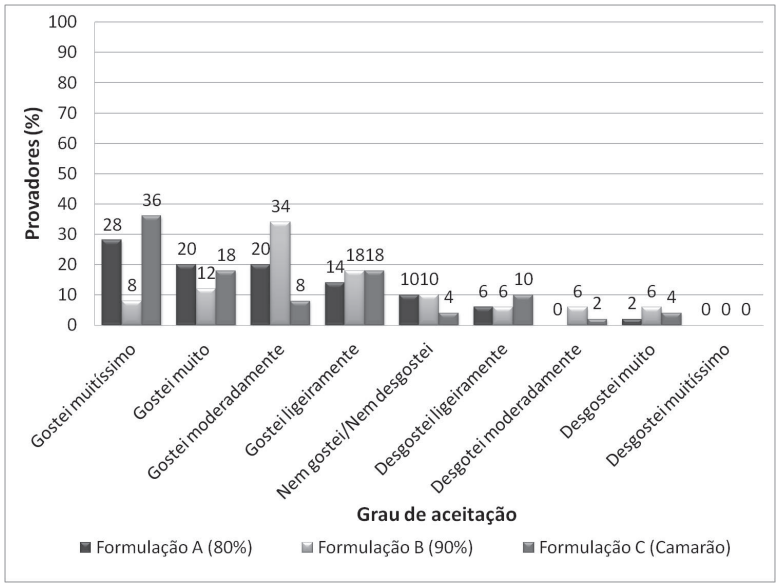
Os resultados obtidos conforme o método ABTS apresentaram diferença estatística entre si ao nível de 5% de significância. Este resultado pode ser atribuído à maior quantidade de alho e urucum presentes na formulação A os quais são condimentos que se destacam por suas propriedades nutricionais e pelos altos teores de zinco e selênio em sua composição, ambos metais antioxidantes (Leonêz, 2008).

Com relação ao pH, o regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal – RIISPOA (Brasil, 1997) estabelece um limite máximo de 6,8 para produtos elaborados a partir de pescados e derivados. Isto mostra que o tempero em pó de resíduos de pescada amarela, elaborado neste trabalho, está dentro dos padrões exigidos pela legislação e em condições adequadas para o consumo.

As análises de acidez (expressas em ácido lático) realizadas neste trabalho resultaram em valores de 2,08 e 2,0, para as duas amostras avaliadas, conforme é mostrado na tabela 3. Porém, não há um padrão exigido pela legislação, para que se possa tomar como base, avaliando este índice. Estes valores obtidos podem ser explicados pela adição do pólen nas formulações, o qual é muito ácido, que provocou o baixo índice de acidez nas amostras.

Análise sensorial

Figura 2. Histograma do teste de aceitabilidade da avaliação sensorial.



A **Figura 2** mostra o histograma do teste de aceitabilidade referente à avaliação sensorial.

Com base na somatória dos dados positivos apresentados na Figura 2, é possível observar que para as formulações A, B e comercial (camarão), os índices de aceitabilidade foram de 82%, 72% e 80%, respectivamente, mostrando assim que todas as amostras encontram-se dentro dos padrões de aprovação, uma vez que é necessário obter índice acima de 70% de aceitação (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

A seguir, a Tabela 4 apresenta as médias das notas de cada amostra referente à avaliação, por meio do teste de Tukey.

Tabela 4. Média das notas dos julgadores para o tempero em pó de resíduos de pescada amarela e para o tempero em pó comercial.

	Formulações		
	A	**B**	**Comercial**
Média de aceitação	$7,14^{a}$	$6,18^{b}$	$7,06^{ab}$

As médias das amostras com letras iguais, não diferem entre si ao nível de 5% de significância ($p<0,05$).

A partir dos resultados gerados pela Anova, pode-se verificar que as amostras A e B não se diferiram da amostra comercial (camarão), no entanto elas diferiram entre si, ao nível de 5% de significância. Isso pode ser explicado pelo fato de que havia uma maior quantidade de condimentos na formulação A, o que realçou o sabor do tempero, quando comparado com a formulação B, a qual tinha maior quantidade de farinha de peixe, porém uma menor quantidade de condimentos intensificadores. A amostra comercial foi de fundamental importância na modificação do sabor e na diferenciação das amostras anteriores, visto que a mesma tinha sabor bem diferente das demais, por ser industrializado e apresentar características,

artificiais, capazes de conferir ao produto sabor e aroma, como a presença de corantes, conservantes e aditivos.

Os resultados para intenção de compra referentes às formulações A, B e comercial, respectivamente, indicaram que 30% dos julgadores certamente comprariam o tempero em pó com 80% de farinha de peixe e 36% possivelmente comprariam o mesmo tempero. O resultado para a formulação com 90% de farinha de peixe mostra que 8% certamente comprariam e 42% possivelmente comprariam este tempero. Para a formulação de camarão, já presente no mercado, 50% dos julgadores certamente comprariam e 14% possivelmente comprariam o produto.

Análise de rendimento

O resultado obtido da análise de rendimento do produto indicou que após o processo de elaboração foram obtidos 1,137Kg de tempero em pó para a formulação A e 1,011Kg para a formulação B, totalizando um rendimento de 9,48% e 8,42% de aproveitamento, respectivamente, a partir de 12Kg de resíduo recebidos da indústria, do qual gerou 1,820Kg de farinha de peixe.

Análise de custo

De acordo os resultados da análise de custo, o valor necessário para que se produza 100g desse tempero foi de R$ 0,62 e R$ 0,35 para a formulação A e B, respectivamente. No entanto, a indústria alimentícia utiliza apenas 5g de tempero em pó para cada pacote de macarrão instantâneo. Por isso, foi realizada a proporção entre o valor encontrado para cada 100g e o valor utilizado para cada 5g de tempero, os quais foram de R$ 0,03 para a formulação A e R$ 0,02 para a formulação B, mostrando que ambas as formulações possuem baixo custo de produção.

DISCUSSÃO

Análises microbiológicas

Caldeira et al. (2011) realizaram a elaboração de temperos a partir do aproveitamento de piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*) desidratada, e apresentaram resultados semelhantes, no qual ocorreu ausência de *Salmonella spp.* em 25 gramas de amostra, valor de <1,0 x 10^1 UFC/g para *Staphylococcus aureus* e <1,0 x 10^1 NMP/g para Coliformes termotolerantes. Nascimento (2013), em estudo similar, encontrou valores para Coliformes a 45ºC, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella spp.,* de <1,0 x 10^1 NMP/g, <1,0 x 10^1 UFC/g e ausência em 25 gramas, respectivamente.

Análises físico-químicas

Dantas (2009) elaborou embutido de pescada branca (*Plasgioscion squamosissimos*) com adição de extrato de pólen, e encontrou um valor calórico de 163 kcal na amostra analisada.

Em um estudo avaliando a composição química de farinha de resíduos de Piramutaba, Nascimento (2013) encontrou valores de cinzas (18,72±0,08), lipídios (10,44±0,27), proteínas (47,93±0,31), umidade (2,18±0,21) e carboidrato (20,71±0,45), mostrando a semelhança de resultados com o presente trabalho, visto que em ambos os estudos, os produtos foram submetidos a condições similares, isto é, a uma temperatura de 100 ºC.

Serafini (2013) avaliou a atividade antioxidante de pólen apícola e seu efeito na qualidade de hambúrguer, e encontrou 966,21μg/mL±0,95, valor inferior ao exposto neste trabalho, e consequentemente, maior atividade antioxidante em termos de sequestro do radical DPPH. Marghitas *et al.* (2009) ao analisarem a atividade antioxidante de porções de pólen apícola pela metodologia do ABTS, obtiveram valores entre 546 a 6838 μmol Trolox/g, e estes por sua vez, apresentaram-se superiores em relação as amostras analisadas no presente estudo, os quais foram de 10,66 μM trolox/g e 7,84 μM trolox/g, para as formulações A e B, sequencialmente.

Nascimento (2013) elaborou farinha de peixe a partir do aproveitamento do resíduo de piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*), e encontrou valores para pH de 7,2 e 6,9 em dois lotes analisados, mostrando que ambos estão acima do parâmetro estabelecido pela legislação vigente. Em estudo semelhante, Lima et al. (2014) desenvolveu farinha de resíduos de salmão (*Salmo salar L.*) e encontrou valores de 6,33.

Santos et al. (2014) elaborou farinha de peixe produzida com tamuatá (*Callichthys callichthys*), e encontrou valores de 5,1 para acidez (expressas em ácido lático).

Análise sensorial

Stevanato et al. (2007) realizaram um estudo, em que avaliaram a aceitação de farinha de resíduo de tilápia na forma de sopa e na forma de caldo, para um público-alvo de crianças e universitários, respectivamente, que resultou em 70% de aceitação da sopa e 48% de rejeição do caldo.

Caldeira et al. (2011), em estudo semelhante, avaliaram o percentual de intenção de compra de amostras de tempero desidratado a partir de farinha de piramutaba e verificaram que 48% dos provadores provavelmente comprariam o produto com 34% de farinha de peixe, 32% certamente comprariam a amostra com 45% de farinha de peixe e 39% provavelmente comprariam o tempero com 39% de farinha de peixe.

Análise de rendimento

Rocha *et al.* (2011) encontrou um rendimento acima do valor obtido neste estudo, o qual obtiveram 29,71% de aproveitamento na elaboração de farinha de tilápias que não alcançaram o tamanho padrão de comercialização. Este resultado pode ser explicado pelo fato de terem sido usadas espécies de pescado com tamanhos diferentes, o qual pode influenciar no processo de trituração da matéria-prima e no aproveitamento final.

Além disso, para a elaboração de farinha de tilápia, foram utilizados pescados em sua forma integral, enquanto que neste trabalho foram utilizados apenas os resíduos (carcaças), o qual possui pequena quantidade de carne aderida. O rendimento obtido também pode ser justificado pelo fato da espécie utilizada ser de grande porte, possuindo uma coluna vertebral muito grande e bastante calcificada, o que dificultou o seu maior aproveitamento, visto que o equipamento utilizado no processo de trituração não tinha capacidade suficiente para realizar tal função.

Análise de custo

A diferença de valores entre as formulações se dá pelo fato de conterem diferentes quantidades de componentes, principalmente tratando-se da farinha de pescado, a qual não apresentou custo, uma vez que o resíduo utilizado foi doado pela indústria de processamento de pescado, o que acabou influenciando no custo do produto final.

Quando comparadas à formulação comercial (a qual possui custo de R$ 1,20 para o macarrão instantâneo acrescido de 5g de tempero em pó sabor camarão), as formulações elaboradas neste trabalho apresentaram valores bastante inferiores, uma vez que ambas obtiveram um custo final de produção inferior a R$ 0,05 (5 centavos).

CONCLUSÃO

A avaliação microbiológica das amostras mostrou que os temperos elaborados neste trabalho estavam dentro dos padrões exigidos pela Legislação Brasileira.

A caracterização físico-química mostrou que o produto elaborado apresentou alto teor de proteína e lipídeos, consequentemente elevando seu valor calórico.

A amostra A apresentou maior capacidade antioxidante que a amostra B, no entanto os valores encontrados foram baixos, se comparados com outros estudos realizados.

O tempero em pó das formulações A e B foi bem aceito pelos julgadores, quando comparado com a amostra comercial e a intenção de compra apresentou-se satisfatória, demonstrando ter um bom potencial para o mercado consumidor.

Sendo assim, pode-se considerar que a utilização do aproveitamento dos resíduos provenientes do processamento de pescada amarela é uma alternativa viável para a elaboração de novos produtos, uma vez que possui baixo custo de produção, quando comparado com a amostra comercial, e tem a capacidade de agregar valor a um produto que antes era desperdiçado. Em contrapartida, foi possível verificar que o rendimento do tempero foi baixo.

REFERÊNCIAS

1. Bombardelli, R. A., Syperreck, M. A., & Sanches, E. A. (2005). Situação atual e perspectivas para o consumo, processamento e agregação de valor ao pescado. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia*, 8(2), 181-195.

2. Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, RIISPOA. (1997). *Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.

3. Brasil, Ministério da Saúde, ANVISA. (2001). Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. *Aprova Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.

4. Brasil, ANVISA. (2003). Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. *Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional*. Diário Oficial da União, Brasília.

5. Cahill, V. R. (1980). Princípios do processamento da carne. *Centro de Pesquisa e Treinamento em Tecnologia da Carne*, 122p., ITA/EMBRAPA, São Paulo.

6. Caldeira, K. A. V., Silva, S. F., Ribeiro, S. C. A., Ribeiro, C. F. A., & Park, K. J. (2011). Aproveitamento da piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*) desidratada na elaboração de temperos. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.13, n.1, p.75-83.

7. Carpes, S. T., Prado, A., Moreno, I. A. M., Mourão, G. B., Alencar, S. M., & Masson, M. L. (2008). Avaliação do potencial antioxidante do pólen apícola produzido na Região Sul do Brasil. *Revista Química Nova,* v. 31, n. 7, 1660-1664.

8. Dantas, V. V. (2009). *Elaboração de embutido de peixe pescada-branca (Plasgioscion squamosissimos) tipo mortadela com adição de extrato de pólen*. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Tecnologia Agroindustrial ênfase em Alimentos). Universidade do Estado do Pará, Paragominas.

9. Downes, F. P., & Ito, K. (2001). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. *American Public Health Association*, 4th ed.

10. Dutcosky, S. D. (2011). *Análise sensorial de alimentos,* 3a ed., 426p, Curitiba: Champagnat.

11. Godoy, L. C., Franco, M. L. R. S., Franco, N. P., Silva, A. F., Assis, M. F., Souza, N. E., Matsushita, M., & Visentainer, J. V. (2010). Análise sensorial de caldos e canjas elaborados com farinha de carcaças de peixe defumadas: aplicação na merenda escolar. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 30 (Supl.1): 86-89.

12. Instituto Adolfo Lutz. (2008). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*, 1a. ed. digital, São Paulo.

13. Lehninger, A. L., Nelson, D. L., & Cox, M. M. (1998). *Princípios da bioquímica*. 859 p., São Paulo: Sarvier.

14. Leonêz, A. C. (2008). *Alho: alimento e saúde.* Monografia, Universidade de Brasília.

15. Lima, C. A. R., Brasil, D. L., Oliveira, N. C., Sales, A. P. M., Gadelha, N. C., Santos Junior, E. C., & Silva, E. M. C. (2014). Desenvolvimento e caracterização físico-química de farinha obtida a partir de resíduo de salmão (*Salmo salar L.*). *Congresso da Associação Brasileira de Química*, Ceará, Brasil.

16. Marghitas, L. A., Stanciu, O. G., Dezmirean, D. S., Bobis, O., Popescu, O., Bogdanov, S., & Campos, M. G. (2009). In vitro antioxidant capacity of honeybeecollected pollen of selected floral origin harvested from Romania. *Food Chemistry*, v. 115, p. 878–883.

17. Nascimento, A. M. F. (2013). *Aproveitamento do resíduo da filetagem industrial de piramutaba (Brachplatystoma vaillantii) na fabricação de farinha para alimentação animal.* Dissertação de Mestrado (Ciências Ambientais), Universidade do Estado do Pará, Belém.

18. Ramos Filho, M. M., Ramos, M. I. L., Hiane, P. A., & Souza, E. M. T. (2008). Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira de Mato Grosso do Sul. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 28(2): 361-365.

19. Rocha, J. B. S., Silveira, C. S., Ledo, C. A. S., & Barreto, N. S. E. (2011). *Composição e estabilidade de farinha de tilápia (Oreochromis niloticus) produzida artesanalmente para o consumo humano.* Magistra, Cruz das Almas, v. 23, n. 4, p. 215-220.

20. Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. G., Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. D. (2007). Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. *Comunicado Técnico Online Embrapa*, nº 127, 1.

21. _____. (2007). Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS+. *Comunicado Técnico Online Embrapa*, nº 128, 1.

22. Santos, A. L. C. (1999). *Elaboração e Caracterização de salsicha tipo "hot dog" bubalina e bovina.* Monografia (Especialização em Tecnologia de Alimentos). Departamento de Engenharia Química. Universidade Federal do Pará.

23. Santos, S. R., Altoé, M., Da Silva, I. Q., Martins, D. A., Mourão, H. C., Negreiros, J. R. G., Paixão, T., Pereira, J., Carneiro, J. L., & Cordovil, S. R. (2014). Elaboração de farinha de peixe (piracuí) produzido com a espécie tamuatá (*Callichthys callichthys*). *Semana Acadêmica da Universidade do Estado do Pará*, Marabá, Brasil.

24. Serafini, L. F. (2013). *Atividade antioxidante dos extratos de manjerona e pólen apícola: efeitos na qualidade de hambúrguer*. Dissertação de Mestrado (Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco.

25. Souza Neto, A. M. L., & Neves, L. B. (2011). *Caracterização morfométrica das duas espécies de Mapará (Hypophthalmus marginatus e Hypophthalmus edentatus) comercializadas no porto de Cametá e perfil sensorial das espécies na forma de tempero desidratado.* Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia Agroindustrial Alimentos). Universidade do Estado do Pará, Cametá.

26. Stevanato, F. B., Petenucci, M. E., Matsushita, M., Mesomo, M. C., Souza, N. E., Visentainer, J. E. L., Almeida, V. V., & Visentainer, J. V. (2007). Farinha de resíduo de tilápia como alimento humano na forma de sopa. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 27(3): 567-571.

14

“Elaboração e análises centesimais de biscoitos tipo cookie de biomassa de banana verde (*musa ssp*).

- Jiullie Delany Bastos **Monteiro**
  IFAP
- Élida Viana de **Souza**
  IFAP
- Leandro Fernandes **Damasceno**

doi 10.37885/201001925

RESUMO

Atualmente a indústria de alimentos têm buscado aumentar a oferta de produtos mais saudáveis e atrativos ao consumidor, pois estes estão cada vez mais exigentes, buscando uma dieta com maior qualidade, constituída principalmente por alimentos funcionais, enriquecidos com substâncias isoladas e propriedades que influenciam as atividades fisiológicas ou metabólicas. Para tal, uma das alternativas que podem ser utilizadas para atender essa demanda é a elaboração de novos produtos alimentícios, que empreguem ingredientes com elevado valor nutricional e que sejam atrativas e práticas. A banana é produzida na maioria dos países tropicais e subtropicais, uma das frutas mais consumidas no mundo, é um alimento altamente energético e perene. E a biomassa do fruto ainda verde pode ser empregada na formulação de alimentos para agregar valor nutricional e funcional. Nesse contexto, este trabalho objetivou a elaboração e análise de duas formulações de biscoito tipo cookie, com substituição total de farinha de trigo por biomassa de banana verde (BBV). Foram propostas duas formulações de biscoitos tipo cookie, F1 (com ovos) e F2 (com aveia). Os ingredientes foram homogeneizados, modelados, assados e submetidos a análises centesimais, em triplicata. Os cookies desenvolvidos são ricos em minerais e apresentam menor valor energético, comparado aos da literatura. Sendo assim, as formulações demonstraram viabilidade quanto a sua inserção na dieta diária, para atender tanto a população de celíacos, quanto ao público interessado em suas propriedades funcionais e nutricionais.

Palavras-chave: BBV, Funcional, Substituição.

INTRODUÇÃO

A indústria de alimentos têm buscado aumentar a oferta de produtos mais saudáveis e atrativos ao consumidor, pois o binômio saúde-dieta vem ganhando uma relevância cada vez maior na sociedade, o que incentiva uma tendência pela busca de alimentos capazes de ofertar além de nutrientes, algumas propriedades funcionais e nutracêuticas que possam melhorar a saúde e qualidade de vida do consumidor, estes são amplamente discutidos na saúde pública e vêm ganhando cada vez mais espaço nas prateleiras dos supermercados (MIAMOTO, 2008).

A ascensão de alimentos funcionais (AF) está ocorrendo em decorrência da mudança no perfil do consumidor. No Brasil, o aumento da expectativa de vida da população é uma realidade e a longevidade garante o crescimento do mercado de AF, sendo um dos setores do mercado mais promissores, em destaque para os iogurtes probióticos, barras de cereais, águas e sucos funcionais (CARMO, 2015; SEBRAE, 2014).

Cabe ainda destacar que a tendência no setor de alimentos está relacionada a quatro grandes frentes: a conveniência, a autenticidade, o prazer e a saúde. Uma vez que a falta de tempo tem levado, cada vez mais, o consumo de alimentos de rápido preparo, práticos, e ainda que possam ser ingeridos em movimento, sem abrir mão da satisfação, nem de sua segurança alimentar (PEREIRA, 2007).

Neste enfoque, para a legislação brasileira é definido como alimento funcional todo aquele alimento ou ingrediente consumido como parte da dieta usual, que exerça além das funções metabólicas normais básicas, efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para o consumo, sem supervisão médica, podendo desempenhar um papel potencialmente benéfico na redução dos riscos de doenças (ANVISA, 1999; MORAIS E COLA, 2006).

Dentre os AF mais consumidos destacam-se as frutas, devido seus aspectos socioeconômicos e alimentares, no setor alimentício brasileiro a fruticultura desempenha uma importante atividade, contudo anualmente 1,3 bilhões de toneladas de alimentos são direcionados ao lixo nas cadeias produtivas agroindustriais, o que representa um desperdício total de 30% da produção mundial (ONU, 2017).

De acordo com a Embrapa (2018), o Brasil produz cerca de 45 milhões de toneladas de frutas, ocupando o terceiro lugar no ranking mundial, entretanto a ausência de técnicas adequadas de pós-colheita, transporte e armazenamento geram grandes perdas, evidenciando a necessidade de viabilizar processos simples e baratos, que sejam capazes de otimizar o aproveitamento, para garantir maior estabilidade e durabilidade destes (PONTES, 2009).

Dentre as frutas mais produzidas no Brasil, está a banana (*Musa ssp*). com cerca de 7,19 milhões de toneladas/ano, destacando-se devido seu alto valor nutricional, versatilidade e baixo custo (EMBRAPA, 2011). De acordo com Ranieri e Delani (2014), sua boa aceitação

é proveniente de seus aspectos sensoriais e valor nutricional, consistindo em uma boa fonte energética, devido à presença de carboidratos, e minerais como: potássio, manganês, iodo, zinco e vitaminas do complexo B (B1, B2, B6 e niacina), vitamina C e ácido fólico. Apesar disso, o fruto verde apresenta maior quantidade de minerais, ao ser comparado ao fruto maduro, apresentando ainda pequenas quantidades de proteínas como albumina e globulina e aminoácidos livres como: asparagina, glutamina e histidina. É rico em flavonóides, que atuam na proteção da mucosa gástrica, e é caracterizado por uma forte adstringência, resultado da presença de altas quantidades de compostos fenólicos solúveis, principalmente taninos, possuindo baixas quantidades de açúcar e altos teores de amido resistente (AR), o qual age no organismo como fibra alimentar (Almeida, 2014; Carmo, 2015).

Salienta-se ainda, que o amido das bananas tem sido muito pesquisado para o emprego na indústria de alimentos e na área da nutrição a partir do conceito de AR, que tem atraído grande interesse científico pelos benefícios de suas propriedades funcionais, que servem como simbióticos no organismo do ser humano, por terem efeito prebióticos e probióticos. Estudos clínicos demonstram que o fato de os AR's apresentarem propriedades semelhantes às das fibras promove benefícios fisiológicos aos humanos (Carmo, 2015; Valle; Camargos, 2003; Pereira, 2007).

O termo "amido resistente" foi usado pela primeira vez por Englyst, Wiggins e Cummings (1982) para designar o amido que não era hidrolisado durante a incubação com enzimas digestivas. Para ser considerado resistente à digestão, ele precisa chegar intacto ao intestino grosso, onde é fermentado pela microbiota intestinal (YUE & WARING, 1998). Tendo entre outras funções, a de produzir ácidos graxos de cadeia curta, reduzir o potencial calórico dos alimentos e o índice glicêmico, e ainda aumentar o teor de fibras dos alimentos. Além disso, favorece a integridade da mucosa do intestino, a melhora do trânsito intestinal e a diminuição do acúmulo de gordura corporal, atuando na prevenção de doenças como o câncer de intestino e diabetes, pois atenua as concentrações de glicose e insulina pós-prandial com o aumento da sensação de saciedade, que constitui uma ferramenta útil em dietas de emagrecimento ou de manutenção de peso (CARMO, 2015; VALLE; CAMARGOS, 2003; PEREIRA, 2007; BRASIL, 1999).

É importante ressaltar que na fase de primeiro estágio de maturação, ou seja ainda verde, a banana apresenta maiores quantidades de AR e de sais minerais, pois durante o processo de amadurecimento há um aumento nas concentração de açúcares solúveis na polpa em relação à casca, isso ocorre, devido à migração de água da casca para polpa, fazendo com que as vitaminas concentradas se diluam (BLEINROTH,1995; HULME, 1971). A figura 1 apresenta a classificação segundo a escala de maturação de Von Loesecke dos frutos da bananeira.

Figura 1. Escala de maturação de Von Loesecke dos frutos da bananeira. Fonte: Adaptado de PBMH & PIF, 2006.

A biomassa de banana verde (BBV) é constituída pela polpa de banana verde cozida e processada, e pode ser adicionada na formulação de alimentos para agregar valor nutricional e funcional, pois sua utilização é de extensão considerável, visto que além de não alterar o sabor aumenta a quantidade de fibras, proteínas e nutrientes, elevando significativamente o rendimento dos produtos. São três os tipos de BBV: a biomassa integral que contém casca e polpa, a biomassa P constituída de polpa e a biomassa F feita com a fibra da casca da banana verde, sendo as mais empregadas a tipo P e integral (CARMO, 2015; IZIDORO, 2007).

No contexto da produção alimentícia, os biscoitos – tipo Cookies podem ser mencionados como atrativos, pois embora não constituam um alimento básico como o pão, são aceitos e consumidos por pessoas de qualquer idade sobretudo entre as crianças, sua praticidade, conveniência, elevada vida de prateleira e alto consumo, tornam a produção interessante, especialmente quando deseja-se elaborar um novo alimento enriquecido/fortificados com fibras/proteínas para serem fontes desses nutrientes em virtude do grande apelo existente nos dias atuais para melhorar a qualidade da dieta (MIAMOTO, 2008; FASOLIN et al., 2007).

Para a legislação brasileira, biscoito ou bolacha é o produto obtido pelo amassamento e cozimento conveniente da massa com farinhas, féculas fermentadas, ou não, e outras substâncias alimentícias (BRASIL, 1978). Neste sentido , este produto de panificação torna-se viável para o estudo com matérias-primas sucedâneas, pois de acordo com El-Dash e Germani (1994), os consumidores passam a aceitar novos produtos desde que os mesmos possam fazer parte de seus hábitos alimentares, sejam gostosos, de boa qualidade, facilidade de consumo e ao seu custo acessível com condições de competir com o do produto convencional.

OBJETIVO

Este trabalho objetivou a elaboração e análise de duas formulações de biscoito tipo cookie, com substituição total de farinha de trigo por biomassa de banana verde com alto valor nutritivo e funcional.

MATERIAL E MÉTODOS

Matérias-primas

Como matérias-primas foram utilizados frutos verdes de Banana-da-terra (*Musa paradisiaca*), beneficiadas nos laboratórios de Tecnologia em Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amapá - IFAP. Os frutos passaram por lavagem, e foram submetidos à cocção por cerca de 10 minutos a 180 °C e então, descascados e triturados para a obtenção de BBV tipo P, constituída somente de poupa.

Elaboração dos biscoitos

Foram elaboradas duas formulações de biscoito tipo cookie: F1 com ovos e F2 com aveia, a massa do biscoito foi constituída por BBV, açúcar mascavo, fermento químico, água, chocolate em pó, manteiga e castanha do Brasil, conforme informado na tabela 1.

Tabela 1. Formulações de cookie de biomassa de banana verde propostas. Formulações de Cookies propostas (%)

Formulações de Cookies propostas (%)		
	F1	F2
Biomassa de Banana Verde	39	38
Manteiga	11	11
Açúcar	13	13
Aveia	2	0
Ovos	0	4
Fermento	0	0
Castanha	4	4
Chocolate em pó	13	13
Água	18	17

Os ingredientes foram homogeneizados em multiprocessador, até a obtenção de uma massa encorpada. Os cookies foram modelados manualmente, com aproximadamente 18 g e levados ao forno a 180 °C por 45 minutos, conforme fluxograma na figura 2 e fotos na figura 3.

Figura 2. Fluxograma das etapas de elaboração de cookie de biomassa de banana verde.

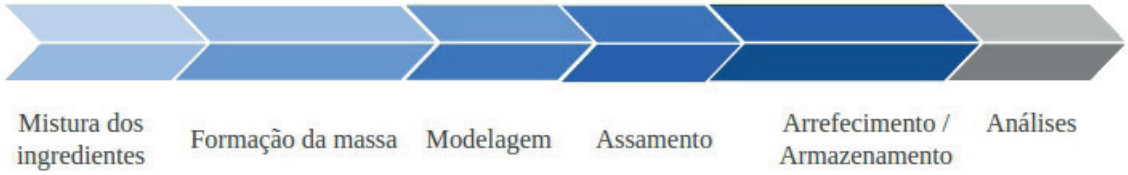


Figura 3. Fotos das formulações de cookie desenvolvidas.

*(A) Banana verde in natura, (B) Banana verde após a cocção, (C) Polpa da Banana cozida, (D) ingredientes utilizados na formulação dos cookies, (E) cookies moldados e (F) cookies assados.

Caracterização

Os cookies, então foram submetidas à análises centesimais de Umidade (UMD), Proteína Bruta Total (PBT), Lipídios Totais (LPT), Cinzas (CNZ), Carboidratos Totais (CBT); Teor de cálcio e fósforo, em triplicata, nos laboratórios de alimentos da EMBRAPA- AP,

A UMD, foi realizada por secagem em estufa a 105 ºC até peso constante, segundo metodologia padrão; PBT foi obtida através do Método Kjeldahl; LPT, determinado em aparelho Soxhlet com éter de petróleo sob refluxo durante 4 horas; A análise de CNZ foi realizada gravimetricamente em mufla a 550-570°C/4h; Carboidratos Totais foram calculados por diferença (100 g – gramas totais de umidade, proteínas, lipídios e cinzas), segundo a Resolução RDC n° 360, de 23 de dezembro de 2003 (Ial, 2008; Souza & Nogueira, 2005; Silva & Queiroz, 2002).

O Cálculo do Valor Energético (VET), foi obtido aplicando-se os fatores de Atwater 4 – 9 – 4 kcal/g para os valores de proteínas, lipídios e carboidratos totais, respectivamente; segundo Anderson et al. (1988) e a Resolução RDC n° 360, de 23 de dezembro de 2003 (Ial, 2008; Brasil, 2003). O teor de cálcio e fósforo nas amostras foi determinado segundo método referido pela AOAC (2000).

RESULTADOS

Quanto aos resultados das análises centesimais dos cookies de biomassa de banana verde na tabela 2, (figuras 4 e 5), a formulação F1 apresentou teores de umidade, proteínas, lipídios, cálcio e fósforo inferiores a formulação F2, tais resultados podem ser atribuídos a adição de ovos na formulação F2 em comparação adição de aveia no cookie F1.

Tabela 2. Resultado da análise centesimal de cookies de BBV.

Amostra	Umidade	Proteínas	Lipídeos	Cinzas	Carboidratos	VET	Cálcio	Fósforo
Cookie F1	4,84 ± 0,20	3,31 ± 0,06	18,08 ± 0,89	2,24 ± 0,07	71,53	462,08	0,05 ± 0,0	0,09 ± 0,01
Cookie F2	6.74 ± 0,03	4,45 ± 0,02	20,27 ± 0,03	2,20 ± 0,10	66,35	465,59	0,06 ± 0,02	0,13 ± 0,0

*VET - Valor Energético (Kcal), valores expressos em (%).

Figura 4. Resultado da análise centesimal de cookies de BBV.

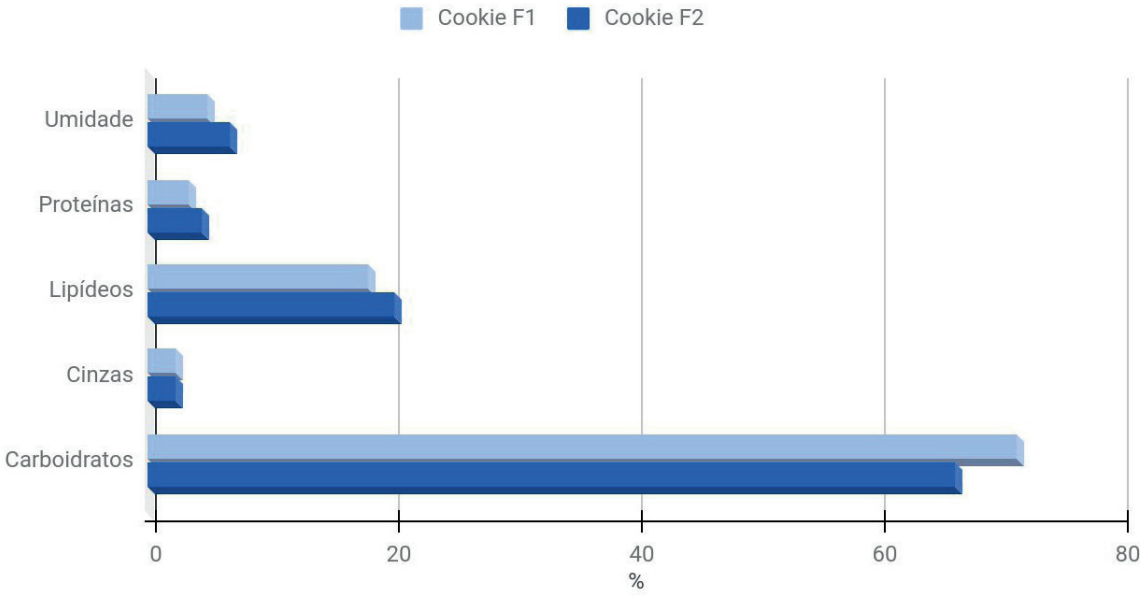
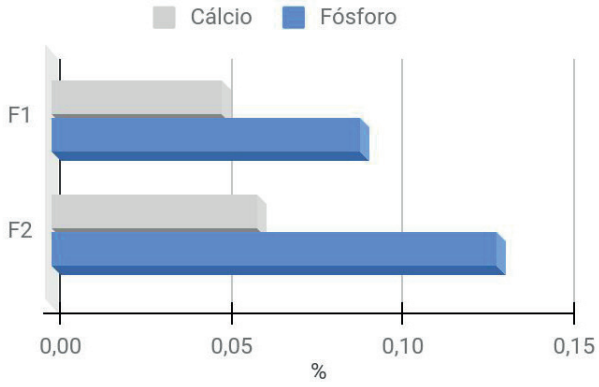


Figura 5. Resultado da análise centesimal, para as amostras F1 e F2 de cookies de BBV.



DISCUSSÃO

A determinação de umidade é uma das medidas mais importantes e utilizadas na análise de alimentos, ela está relacionada com sua estabilidade, qualidade e composição, e pode afetar estes processos durante a vida útil do produto (ANTÓNIO, 2006). Ao compararmos os resultados de umidade dos cookies de BBV, formulação F1 (4,84 %) e F2 (6,74 %), com os descritos na literatura observamos que Cortat, et al. (2015) desenvolveu formulações de cookies com 75% farinha de banana verde (FBV) com teor de umidade de 4,83 %, valor próximo ao encontrado para a formulação F1, entretanto a formulação F2 apresentou valores superiores aos descritos

na literatura, tanto em relação a formulação com 75% de FBV, quanto a padrão com 100% farinha de trigo (0,74 %) e ainda, ao cookie com 25% de farinha de arroz refinado e FBV (2,4 %).

De acordo com a literatura, os minerais são essenciais para as funções básicas do organismo, representando cerca de 4~6 % da massa corporal total e atuam na regulação de atividades enzimáticas, mantêm o balanço osmótico no organismo, facilitam a transferência de nutrientes essenciais e mantêm a sensibilidade de células nervosas e musculares, sendo fundamentais para a manutenção da saúde (ANDERSON, 2004; FRAGA, 2005; BRINQUES, 2014). Os valores obtidos para cinzas (F1 2,20 e F2 2,24 %) foram superiores aos relatados na literatura por Cortat, et al. (2015) em formulações de cookies com 75% farinha de banana verde (1,55%), padrão com 100% farinha de trigo (1,35 %) e com 25% de farinha de arroz refinado e FBV (1,43%), dessa forma, os cookies desenvolvidos são ricos em minerais.

Um dos elementos mais abundantes no organismo e essencial para a vida é o cálcio, pois atua na liberação de neurotransmissores no cérebro, auxiliando o sistema nervoso e no metabolismo do ferro, sendo de grande importância para o bom funcionamento do coração, sua dose diária recomendada é de 500~600 mg (LOHMANN, 2008). Dessa forma, os biscoitos de BBV desenvolvidos apresentaram bons teores de cálcio, correspondendo a 0,05% para a formulação com aveia e 0,06% para a formulação com ovos.

Outro elemento que desempenha importantes funções fisiológicas, é o fósforo, pois está presente na estrutura e função da membrana celular, na ativação de reações metabólicas e na estrutura dos ossos e dentes (TOMASSI, 2002). Os cookies analisados apresentaram teores de fósforo significativos, de 0,09 % para a formulação F1 e de 0,13 % para a F2. Diante disso, a produção de alimentos industrializados com a fortificação de minerais pode ser uma das estratégias para combater as deficiências nutricionais (GRANATO et al., 2008).

Os teores de lipídios encontrados (F1 18,08 % e F2 20,27 %) foram inferiores aos relatados na literatura por Cortat, et al. (2015) em formulações com 75% FBV e óleo de coco (25,85 %), padrão com 100% farinha de trigo (27,5 %) e com 25% de farinha de arroz refinado e farinha de banana verde (24,36 %), dessa forma, os cookies F1 e F2 desenvolvidos apresentam menor valor energético do que os da literatura.

Os valores proteicos obtidos nas formulação com biomassa de banana verde (F1 3,31% e F2 4,45 %) mostraram-se superiores aos informados por Cortat, et al. (2015) em formulações de cookies com 75% FBV e óleo de coco (2,66 %) e com 25% de farinha de arroz refinado e FBV (2,59 %), no entanto estes são inferiores a formulação padrão com 100% farinha de trigo (6,44 %), pois esta apresenta teores proteicos elevados devido a presença das proteínas da farinha de trigo, gliadina e glutenina, que se entrelaçam, por meio de pontes de hidrogênio, ligações de dissulfeto e forças de Van der Waals, formando uma rede protéica denominada glúten (ARAÚJO et al., 2009).

A formulação de biscoito adicionada de aveia (F1) apresentou 71,53 % de carboidratos, valores superiores ao relatados por Cortat, et al. (2015), enquanto que a formulação F2 (66,35 %) adicionada de ovos, expressou teores próximos aos encontrados, no mesmo trabalho, para cookies com 25% de farinha de arroz refinado e FBV (66,63 %), 75% de FBV e óleo de coco (61,9 %) e da formulação padrão com 100% farinha de trigo (62,76 %). Os carboidratos presentes na BBV constituem 60% de amido resistente, ou seja, um tipo de carboidrato que fornece energia e funciona como alimento probiótico, beneficiando a flora intestinal ao ser fermentado no intestino grosso, enquanto que os demais carboidratos, presentes nas formulações comuns são convertidos em açúcares, dos quais 99,5% são fisiologicamente disponíveis, ou seja, são digeridos antes de chegar ao intestino grosso (LOBO; SILVA, 2003).

CONCLUSÕES

Disponível em todas as épocas do ano, a banana é de fácil acesso e baixo valor comercial, sendo o aproveitamento de sua biomassa favorável na culinária e na indústria para a elaboração de produtos panificáveis, pois não altera o sabor das preparações, aumenta a quantidade de fibras e outros nutrientes e proporciona um maior rendimento (Valle; Camargos, 2003).

Os cookies com biomassa de banana verde apresentaram valores de macronutrientes superiores aos encontrados na literatura, demonstrando viabilidade quanto a sua inserção na dieta diária, para atender tanto a população de celíacos, quanto ao público interessado em suas propriedades funcionais e nutricionais.

Por sua versatilidade a BBV não apresenta restrições quanto ao seu uso, desde que utilizada em proporções corretas, pode ser importante para a redução de custos e ainda substituir cereais como trigo, aveia e centeio auxiliando na dieta de celíacos na exclusão do glúten (Carmo, 2015; Zandonadi, 2009).

Portanto, na busca por alimentos saudáveis e saborosos, com propriedades funcionais e valor nutricional, que contribuam para melhorar a dieta, pode-se empregar a BBV na produção de cookies, tendo em vista aumentar sua variedade alimentar e ainda agregar valor nutricional, atraveś de um componente de alta palatabilidade, fácil acesso e de grande disponibilidade regional.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Pesquisa e Extensão - DEPEX, a Seção de Gerenciamento dos Laboratórios de Curso – SELAB do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amapá e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA/AP pelo apoio.

REFERÊNCIAS

1. Almeida. Determinação De Taninos Em Extratos De Casca De Banana / Leiliane Aparecida De Almeida. - Poços De Caldas, 2014. Disponivel em: <https://www.unifal-mg.edu.br/engenharia-quimica/system/files/imce/TCC_2014_2/Leiliane_Almei da_TCC_2014_2.pdf>

2. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução no 18, de 30 de abril de 1999. D.O.U. - Diário Oficial da União, Poder Executivo, 03 maio. 1999. Legislação federal. A.O.A.C (2000). Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists International. Maryland, USA.

3. BRASIL, 1978. *Resolução CNNPA n° 12, de 24 de julho de 1978.*Biscoitos e Bolachas.

4. CARMO, A. F. dos S. Functional properties of green banana biomass and meal. 2015. 58f .Completion of course work . Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2015. Disponível em: <https://sistemas.eel.usp.br/bibliotecas/monografias/2015/MBI15005.pdf>. Instituto Adolfo Lutz. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos.*São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 1020. [Versão Eletrônica].

5. Izidoro, D.R. Influência da polpa da banana (*Musa cavendishii*) verde no comportamento reológico, sensorial e físico-químico de emulsão. 2007.167 f. Dissertação(Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

6. Morais, F.P.; Cola, L. M. Alimentos Funcionais e Nutracêuticos: Definição, Legislação e Benefícios a Saúde. Revista Eletrônica de Farmácia, v. 3, n. 2,. 2006. P. 109-122.

7. Miamoto, J. B. M. Obtenção e caracterização de biscoito tipo cookie elaborado com farinha de inhame (Colocasia esculenta L.). 2008. 132 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2008.

8. Silva, D. J.; Queiroz, A. C. Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos. 3ed. Viçosa: UFV, 2002.

9. Silva Neto, S. P. Da; Guimarães, T. G. Evolução Da Cultura Da Banana No Brasil E No Mundo. Planaltina, Df: Embrapa Cerrados, 2011.

10. Serviço Brasileiro De Apoio As Micros E Pequenas Empresas (SEBRAE). Como montar uma loja de alimentos funcionais, 2014.

11. Souza, G. B.; Nogueira, A. R. A. *Manual de laboratórios: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos.*São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005.

12. Pereira, K.D. Amido resistente, a última geração no controle de energia e digestão saudável. Ciências Tecnológicas De Alimentação. Vol. 27. Num. 1. 2007. p. 88-92.

13. Pontes, C. R. Enriquecimento protéico do bagaço de caju através de fermentação semi-sólida utilizando Aspergillus niger. Dissertação (Mestrado): Programa de Pós Graduação em Tecnologia dos Alimentos – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

14. Ranieri e Delani. Banana Verde (Musa Spp): Obtenção Da Biomassa E Ações Fisiológicas Do Amido Resistente. Revista Uningá Review, Vol.20, N.3, Pg.43-49, Out - Dez 2014.

15. Valle, H. F.; Camargos, M. Yes, Nós Temos Banana. São Paulo: Editora Senac, 2003.Vale Mais. Biomassa De Banana Verde – Um Alimento Funcional. Zandonadi, R.P. Massa de banana verde: uma alternativa para exclusão do glúten. Brasília, 2009.

16. ANTONIO, Graziella Colato. Análises de Materiais Biológicos. Campinas (SP): Unicamp, 2006. Disponível em <http://www.feagri.unicamp.br/ctea/manuais/analise_matbiologico.pdf> Acesso em: 04 mal. 2012;

17. ANDERSON, J. J. B. Minerals. In: MAHAN, L. K.; STUMP, S. E. (Eds.). Krause's food, nutrition and diet therapy. 11 ed. Philadelphia: Saunders, 2004.

18. FRAGA, C. G. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. Molecular Aspects of Medicine, v. 26, p. 235–244, 2005.

19. BRINQUES, G. B. Bioquímica humana aplicada à nutrição. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2014.

20. LOHMANN, P. Dossiê: Os minerais na alimentação. Food Ingredients Brasil, no 4, 2008.

21. LOBO, A. R.; SILVA, G. M. L. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. Revista de Nutrição, Campinas (SP), v.16, n.2, abril-jun. 2003;

22. YUE, P.; WARING, S. Resistant starch in food applications. Cereal foods world (USA), 1998.

23. ENGLYST, H.; WIGGINS, H. S.; CUMMINGS, J. H. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. Analyst, v. 107, n. 1272, p. 307-318, 1982.

24. ARAÚJO, W.M.C.; MONTEBELLO, N.P.; BOTELHO, R.B.A.; BORGO, L.A. Alquimia dos alimentos. Série Alimentos e Bebidas. Distrito Federal: Senac, 2009;

25. BRASIL, 1999. Portaria n° 18, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e/ou de Saúde de Alegadas em Rotulagem de Alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/18_99.htm> Acesso em 19 abr. 2012;

26. ENGLYST, H.N; HUDSON, G.J. The classification and me a sur ement of dietary carbohydrates. Food Chem, v.57, n.1, p.15-21, 1996; https://doi.org/10.1016/0308-8146(96)00056-8.

27. PBMH & PIF (Programa Brasileiro Para A Modernização Da Horticultura & Produção Integrada De Frutas). Normas De Classificação De Banana. São Paulo: Ceagesp, 2006. (Documentos, 29).

28. BLEINROTH, E.W. Banana: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. 2. ed. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1995

29. HULME, A.C. The biochemistry of fruits and their products. London: Academic Press, v.1, 1970; ISBN: 123612020.

30. EL-DASH, A.; GERMANI, R. Tecnologia de Farinhas Mistas: Uso de Farinhas Mistas na Produção de Biscoitos. Brasília: EMBRAPA - SPI, 1994. v. 6, 47 p.

31. FASOLIN, L. H.; ALMEIDA, G. C.; CASTANHO, P. S.; NETTO OLIVEIRA, E. R. Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações química, física e sensorial. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, n. 3, p. 524-529, 2007. http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000300016

32. Tomassi, G. (2002). Fósforo: un nutriente esencial en la dieta humana. Informaciones Agronómicas (Ecuador).(Jun 2002), 47, 8-9.

33. EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Ciência que transforma: resultados e impactos positivos da pesquisa agropecuária na economia, no meio ambiente e na mesa do brasileiro, 2018. Disponível em <https://www.embrapa.br/grandes-contribuicoes-para-a-agricultura-brasileira/frutase-hortalicas>.

34. ONU - Nações Unidas no Brasil. FAO: 30% de toda a comida produzida no mundo vai parar no lixo, 2017. Disponível em <https://nacoesunidas.org/fao-30-detoda-a-comida-produzida-no-mundo-vai-parar-no-lixo/>.

15

Extrato etanólico dos frutos de *capsicum chinense* e sua ação contra *escherichia coli* e *listeria monocytogenes*: um breve relato

- Larissa Sousa **Santos**
  IFGOIANO
- Cassia Cristina **Fernandes**
  IFGOIANO
- Mayker Lazaro Dantas **Miranda**
  IFTM

doi 10.37885/201001857

RESUMO

A pimenta pertence ao gênero *Capsicum* e a família Solanaceae. O termo capsicum deriva da palavra grega “kapso” que significa “morder” referindo-se assim à pungência da fruta. Muitas doenças são transmitidas por alimentos contaminados por microrganismos patogênicos, dentre eles a *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. A *E. coli* é o principal microrganismo gram-negativo anaeróbio facultativo que faz parte da microbiota intestinal normal e a principal forma de contaminação por esta bactéria se dá através da ingestão de água ou alimentos que não foram processados e tiveram algum tipo de contaminação fecal durante a sua produção, como por exemplo, leite não-pasteurizado. O leite e seus derivados estão entre os produtos alimentícios mais envolvidos na transmissão de *L. monocytogenes*. A listeriose acomete, sobretudo, indivíduos imunodeprimidos, grávidas, recém-nascidos e idosos, o que ressalta o caráter oportunista deste micro-organismo e sua importância para a saúde pública. Uma das alternativas estudadas para minimizar a contaminação de alimentos é o emprego de plantas, ou seus extratos, como agentes antimicrobianos de origem natural em produtos alimentícios. Desta forma o objetivo do presente estudo é fornecer dados científicos a respeito da ação do extrato etanólico dos frutos vermelhos de *C. chinense* (pimenta biquinho). Para tanto, avaliou-se a atividade antimicrobiana deste extrato contra *E. coli* e *L. monocytogenes* através da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pelo método de microdiluição em caldo. O extrato mostrou-se moderamente ativo frente as duas bactérias avaliadas com valores de CIM = 100 μg/mL (*L. monocytogenes*) e 250 μg/mL (*E. coli*).

Palavras-chave: Pimenta, Leite, Atividade Antibacteriana, Produtos Naturais.

INTRODUÇÃO

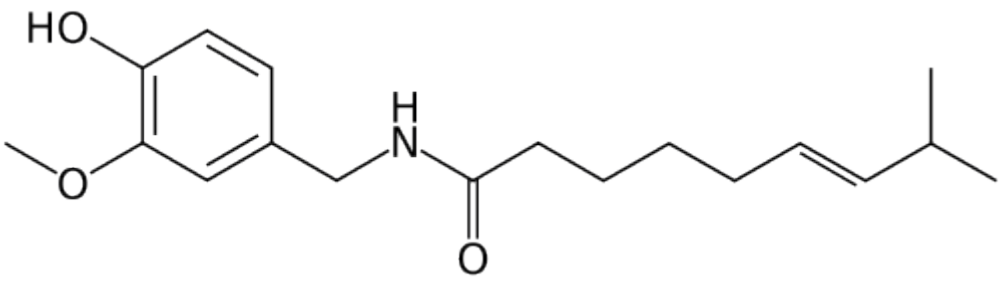
As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) continuam despertando a necessidade da elaboração de estratégias para sua minimização e prevenção. Estas contaminações são devidas à ingestão de alimentos contaminados por microrganismos patogênicos, objetos lesivos, substâncias químicas ou substâncias tóxicas presentes naturalmente nos alimentos, sendo responsáveis por milhares de hospitalizações, centenas de mortes e muitas vezes complicações irreversíveis (SIMONETTI et al., 2016).

Dentre estes microrganismos patogênicos podemos citar duas bactérias alvos deste estudo, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. A contaminação por *E. coli* por humanos ocorre principalmente por via fecal oral, devido à ingestão de alimentos de origem animal contaminados, como carne bovina malcozida, derivados lácteos não pasteurizados, verduras e frutas irrigadas com água infectada, assim como por meio da ingestão direta de água contaminada com excrementos de animais (DRUMOND et al., 2018). Já a bactéria *L. monocytogenes* pode ser facilmente encontrada em alimentos de origem animal e vegetal, "*in natura*" ou processados. O leite e seus derivados estão entre os produtos alimentícios mais frequentemente envolvidos na transmissão de *L. monocytogenes* (BARANCELLI et al., 2011).

A uso de plantas com propriedades farmacológicas para o emprego no desenvolvimento de novos fármacos ou produtos para indústrias do segmento alimentício têm se destacado e vários pesquisadores prosseguem avaliando tais propriedades de plantas pouco ou nada estudadas. Neste contexto, a crescente busca por novos conhecimentos têm demonstrado que várias espécies de pimenta apresentam expressiva atividade antimicrobiana frente a diferentes microrganismos (CARVALHO et al., 2010).

É descrito na literatura que as pimentas consideradas pungentes no gênero *Capsicum* são reconhecidas pelos teores de vitaminas, minerais, pigmentos naturais e pela sensorialidade, estando associada às concentrações de capsaicina (Figura 1). O componente ativo dessas pimentas conhecidas internacionalmente como pimentas *chili* ou ardidas é o composto químico capsaicina (8-metil-N-vanilil-1-6-nonamida). Trata-se de uma substância irritante para os mamíferos, incluindo os humanos, e produz sensação de queimação em qualquer tecido que entre em contato (PERUCKA & MATERSKA, 2001).

Figura 1. Estrutura química da capsaicina.



Bactérias toxinfectivas alimentares sofrem inibição que pode ser justificada pela presença de condimentos como soluções conservantes em alimentos, que interferem significativamente na preditividade dos resultados de pesquisa diagnóstica no sentido falso-negativo, mesmo obedecidas as determinações da legislação vigente (CARVALHO et al., 2006). É válido ainda destacar que a pungência devida à concentração de capsaicina e a atividade antibacteriana dos extratos destas plantas podem estar intrinsicamente ligadas (CARVALHO et al., 2006).

Neste contexto, este trabalho objetivou avaliar a atividade antibacteriana do extrato etanólico dos frutos vermelhos de *C. chinense* (pimenta biquinho – Figura 2) contra duas bactérias patogênicas *E. coli* e *L. monocytogenes* e apresentar os resultados obtidos na forma de uma comunicação curta.

Figura 2. Frutos vermelhos de *C. chinense*

OBJETIVOS

Obter o extrato etanólico dos frutos vermelhos de *C. chinense* e avaliar seu potencial antibacteriano *in vitro* contra duas bactérias patogênicas: *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes.*

MÉTODOS

Obtenção do material vegetal

Os frutos vermelhos de *C. chinense* foram comprados nos municípios de Santa Helena – Goiás e Rio Verde - Goiás. Já no laboratório de Química de Produtos Naturais do IFGoiano – Campus Rio Verde os frutos foram lavados com água destilada e secos com papel toalha

seguido da remoção de seus pedúnculos. Os frutos foram secos/desidratados em câmara com circulação de ar a 40 °C e armazenados para posterior preparação do extrato bruto etanólico.

Preparação do extrato etanólico

O material seco foi triturado e submetido ao processo de extração com etanol na proporção de 1:10 (vegetal/solvente). O solvente etanol ficou em contato com o material vegetal durante 3 dias e em seguida filtrado e submetido a evaporação em rotaevaporador. Desta forma obteve-se o extrato etanólico bruto de consistência xaroposa.

Atividade antibacteriana

A metodologia aqui empregada foi a mesma descrita anteriormente por Simonetti et al. (2016) e Souza et al. (2020). A avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos contra *E. coli* e *L. monocytogenes* foi realizada pelo método microdiluição conforme metodologia adaptada das normas do "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI) (NCCLS document M7-A7, 2006). Foram empregadas linhagens padrão Americam Type Culture Collection de *E. coli* (ATCC 25922) e de *L. monocytogenes* (ATCC 7644) cedidas pelo Laboratório de Microbiologia Aplicada da Universidade de Franca – UNIFRAN.

RESULTADOS

O extrato etanólico bruto obtido a partir dos frutos vermelhos de *C. chinense* exibiu moderada atividade antibacteriana frente às bactérias *E. coli* e *L. monocytogenes* com valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 250 μg/mL e 100 μg/mL, respectivamente.

DISCUSSÃO

De acordo com a literatura atual, amostras de produtos naturais que exibem valores de CIM entre 100 e 500 μg/mL são consideradas moderadamente ativas contra bactérias patogênicas como a própria *L. monocytogenes* (SOUZA et al., 2020).

São encontrados nos frutos de *Capsicum* compostos químicos benéficos a saúde, vitaminas, carotenoides, flavonoides e vários outros considerados antibacterianos, antioxidantes, anti-inflamatórios e antifúngicos. Devido a estas propriedades as pimentas *Capsicum* são importantes fitoterápicos (SARPRAS *et al.*, 2019).

Em estudos prévios com outras espécies de *Capsicum* demonstraram que seus extratos vegetais realmente possuem atividade antibacteriana contra *L. monocytogenes*,

Salmonella typhimurium, *B. cereus*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *S. typhimurium* (CAREAGA et al., 2003).

Diversos estudos revelam que extratos brutos apresentam atividade antimicrobiana mais promissora quando comparada aos extratos fracionados ou que empregaram solventes com polaridades distintas, sendo que tal atividade pode estar relacionada ao sinergismo entre os constituintes fitoquímicos das plantas. Portanto, extratos brutos de espécies vegetais podem muitas vezes apresentar ação antimicrobiana mais pronunciada contra patógenos devido ao sinergismo entre os constituintes bioativos que são extraídos pelo solvente ou método de extração empregado, uma vez que substâncias isoladas podem alterar suas propriedades na presença de outras substâncias (SIMONETTI et al., 2016).

CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste breve relato revelaram que os frutos de *C. chinense* apresentam moderada atividade antibacteriana contra dois tipos de bactérias contaminantes de alimentos. Novos estudos necessitam ser realizados otimizando-se o método de extração dos constituintes fitoquímicos dos frutos desta espécie para avaliação do possível aumento nas atividades biológicas e aprimoramento dos resultados.

REFERÊNCIAS

1. BARANCELLI, G.V., SILVA-CRUZ, J.V., PORTO, E., OLIVEIRA, C.A.F. *Listeria monocytogenes*: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. Arq. Inst. Biol., 78(1), 155-168, 2011.
2. CAREAGA, M., FERNÁNDEZ, E., DORANTES, L., MOTA, L., JARAMILLO, M.E., HERNANDES-SANCHEZ, H. Antibacterial activity of *Capsicum* extract against *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in raw beef meat. Int. J. Food Microbiol., 83(1), 331-335, 2003.
3. CARVALHO, H.H., WIEST, J.M., GRECO, D.P. Atividade antibacteriana e a preditividade do condimento *Artemisia dracunculus Linn. (Asteraceae)*. Variedade inodora – estragão -, frente á *Salmonella* sp. Ciênc. Tecnol. Aliment., 26(1), 75-79, 2006.
4. CARVALHO, H.H., WIEST, J.M., CRUZ, F.T. Atividade antibacteriana *in vitro* de pimentas e pimentões (*Capsicum* sp.) sobre quatro bactérias toxinfectivas alimentares. Rev. Bras. Pl. Med., 12(1), 8-12, 2010.
5. DRUMOND, S.N., SANTIAGO, A.F., MOREIRA, M., LANNA, M.C.S., ROESER, H.M.P. Identificação molecular de *Escherichia coli* diarreiogênica na bacia hidrográfica do rio xopotó na região do Alto Rio Doce. Eng. Sanit. Ambient., 23(3), 579-590, 2018,

6. PERUCKA, I., MATERSKA, M. Phenylalanine ammonia-lyase and antioxidant activities of lipophilic fraction of fresh pepper fruits *Capsicum annum* L. Inn. Food Sci. Emerg. Technol., 2(1), 189-192, 2001.

7. SARPRAS, M., AHMAD, I., RAWOOF, A., RAMCHIARY, N. Comparative analysis of developmental changes of fruit metabolites, antioxidant activities and mineral elements content in Bhut jolokia and other *Capsicum* species. LWT – Food Sci. Technol., 105(1), 363-370, 2019.

8. SIMONETTI, E., ETHUR, M.E., CASTRO, L.C., KAUFFMANN, C., GIACOMIN, A.C., LEDUR, A., AROSSI, K., PACHECO, L.A., GOETTERT, M.I., FALEIRO, D., FREITAS, E.M. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anomala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. Rev. Bras. Pl. Med., 18(1), 9-18.

9. SOUZA, A.O., BESSA, D.H.R.F., FERNANDES, C.C., PEREIRA, P.S., MARTINS, C.H.G., MIRANDA, M.L.D. Phytochemical screening of extracts from *Spiranthera odoratissima* A. St.-Hil. (Rutaceae) leaves and their *in vitro* antioxidant and anti-*Listeria monocytogenes* activities. Acta Scient. Biol. Sci., 42(1), e51881, 2020.

16

Gluten-free bread made from *Prosopis nigra* flour: nutritional contribution and hedonic response of celiac and non-celiac people.

- Estela Patricia **López**
  UNSA
- Ana Gabriela **Torrelio Martos**
  UNSA

10.37885/201001861

ABSTRACT

The objective of the work was to know the nutritional contribution of gluten-free bread made with *Prosopis nigra* flour, and the acceptability measured by celiac and non celiac persons. Gluten-free bread was made from a mixture of corn, rice and *Prosopis nigra* flours. To achieve better technological characteristics, xanthan gum and whey concentrate were added. A portion of bread (50g) provided 19% of DRI for protein for children aged 4 to 8 years, while for a pregnant or lactating woman, this value reached 5%. Regarding the fibers, 50g of bread covered 16% and 14% of the DRI for these biological moments. The fat requirement was covered by 16% for all biological moments analyzed. The dietary contribution of this bread surpasses in proteins and fiber to the commercial ones. Bread made with *Prosopis nigra* flour presented a balanced caloric distribution, contributing a high proportion of proteins, fats, dietary fiber (mainly of the insoluble fraction), and low quantity of carbohydrates available, characteristics that make it a recommendable product for celiac persons in different biological moments. Practical Application This research shows the nutritional contribution and the hedonic response of consumers for innovative gluten-free bread made with *Prosopis nigra* flour.

Keywords: *Prosopis Nigra,* Gluten-Free, Bread, Percent Dietary Reference Intakes (DRI), Acceptability.

INTRODUCTION

Celiac disease is caused by a permanent intolerance to a kind of proteins (prolamins) which are present in cereals like wheat, oats, rye and barley. In general, the gluten-free flours and starches are refined (Huerta et al., 2016), so they lose nutritional value at the expense of protein (O´Shea et al., 2014) vitamins, minerals, and fiber. The incorporation of new raw materials for the production of gluten-free bakery products improves the dietary contribution of all or some of these macro and micronutrients. One of these new alternatives is the *Prosopis nigra* flour, since it is a noble product, which not contains toxic prolamins, and is rich in proteins, fiber, and minerals (Gonzalez Galán et al., 2008; Trevisson, 1992), contributing to the integral dietary treatment of the celiac disease. Moreover, *Prosopis nigra* flour is a non-traditional ingredient of regional production with distinctive sensory attributes that would make it possible to produce innovative and consumer-acceptable products, since it gives a characteristic flavor and color, similar to chocolate or coffee (Margalef et al., 2012). In addition, making bread with addition of *Prosopis nigra* flour would be a strategy to increase the added value of this natural resource of Northwest and Northeast of Argentina.

The production of gluten-free bread implies a technological issue (Matos Segura & Rosell, 2011), and for this reason, much researches have been conducted to improve the quality of gluten-free breads, and additives such as xanthan gum (XG) and whey concentrate (WC) are very often used. These additives favor the formation of a structure to contain the gases generated during fermentation and baking, simulating the functions of gluten (Kittisuban et al., 2014; Nunes et al., 2014; Sciarini et al., 2012; Lazaridou et al., 2007). In addition, the whey concentrate could contribute to improve the quantity and quality of bread proteins, thus helping to maintain the nutritional status of the celiac person. It should be considered that studied product would be recommended for consumption to celiac persons in the maintenance stage and for the general population.

The hedonic response is related to the technological quality of the product and therefore has been extensively studied in gluten-free bread products. In the present study, global acceptability and acceptability by attributes in celiac and non-celiac consumers were measured, since the product is recommended for the entire population. In this regard, it is important to take as a reference that other authors consider that gluten-free formulations that reach hedonic scores equal or greater than 5 (measured at 9-point scales), should be considered very acceptable (Kittisuban et al., 2014; Lazaridou et al., 2014).

Therefore, the present work has as main objective to know the nutritional contribution of gluten-free bread made with *Prosopis nigra* flour, and the acceptability measured by celiac and non-celiac persons.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The bread was made from the mixture of three gluten-free flours: maize (55g / 100g blend), rice (43g / 100g blend) and *Prosopis nigra* flour (2g / 100g blend). All the flours were provided by Dietética Científica, Buenos Aires, Argentina. The Table 1 summarizes the flours chemical composition.

In addition, the following gluten-free ingredients were used for the formulation: high oleic sunflower oil (Molinos Cañuelas, Argentina), Whole Milk (Sancor, Argentina), whole fresh egg, sugar type A (Ingenio Rio Grande, La Mendieta, Jujuy, Argentina), Salt (TIMBO S.A., Argentina), instant powder yeast (Lesaffre S.A., Argentina).

Moreover, the bread was elaborated with addition of hydrocolloids: xanthan gum (XG) (Fufeng, Group Company Limited, China) and whey protein concentrate (WPC) (Milkaut, Argentina), in a proportion of 2% w/w of flours mix each.

Methods

Chemical composition and caloric value of gluten-free flours.

Moisture, ash, crude fat and proteins were analyzed following the AOAC (1990) methods 925.09, 923.03, 922.06, 991.20 respectively. Total dietary fiber (TDF) and soluble and insoluble fractions were analyzed by enzymatic-gravimetric method (AOAC, 1990). The digestible carbohydrates content was calculated by difference (Equation 1). Protein content was calculated using a 5.7 conversion factor. Three replicates for each sample were carried out.

$$\text{Digestible carbohydrates}(g/100g) = 100 - (\text{moisture} + \text{ash} + \text{protein} + \text{crude fat} + \text{TDF}) \quad \text{Equation (1)}$$

The total calorific value was obtained by summing the resulto of the multiplication of the mean values of digestible carbohydrates and protein by 4, and the mean value of lipids by 9 (Atwater factors) (Souci et al., 2000).

Baking test

Ingredients were mixed (15 min), kneaded and rolled in the commercial bread maker machine (Moulinex – home bread). The dough was fermented (27C-95 min), kneaded (30 min), and it was baked at 150° C for 60 min. Finally, the breads were cooled to room temperature (120 min).

Chemical composition and calorific value of gluten-free bread

Gluten-free bread pieces were analyzed to determine moisture, ash, crude fat and proteins were analyzed following the AOAC (1990) methods 925.09, 923.03, 922.06, 991.20 respectively. Total dietary fiber (TDF) and soluble and insoluble fractions were analyzed by enzymatic-gravimetric method (AOAC, 1990). The carbohydrate content was calculated by difference (Equation 1). Protein content was calculated using a 6.25 conversion factor. Three replicates for each analysis were carried out.

The calorific value was calculated in the same way previously described in item 2.2.1.

Percent of the Dietary Reference Intakes (%DRI)

For the calculation of %DRI, equation 2 was applied. The reference values correspond to the Dietary Reference Intake for Energy, Carbohydrates, Fibers, Fats and Proteins (2005) and Dietary Reference Intakes (DIRs): Recommended Intakes for Individuals, Elements (2004), published by the Institute of Medicine of the National Academies, and Human Vitamin and Mineral Requirment (2002), FAO/WHO. The calculations were performed in a differentiated way according to the requirements of adult man, adult woman, child of 4 to 8 years and woman in pregnancy or lactation.

It was considered that a serving of bread is equivalent to 50g of product.

$$\%DRI = (B * 100) / DRI \qquad \text{Equation (2)}$$

Were:

B = g of carbohydrate or protein or fat or fiber provided by a serving of bread.

DRI = recommended intake (g/day) of carbohydrate or protein or fat or fiber.

% = percentage of the DRI covered by a serving of bread.

Acceptability

Overall acceptability and for attributes (texture, taste and color) were measured by 55 consumers (31 to 40 years old, 67% female), of whom 27 were people with a diagnosis of celiac disease at the time of the study, and 28 were non celiac persons. To determine the overall hedonic score and for each of the attributes, we worked with a hedonic scale of seven points, where 1 = “I dislike much” and 7 = “I like it a lot”.

Statistical analyses

The data were organized in the form of tables and figures. The data are presented with mean values and standard deviations. To detect significant differences between the means of the acceptability variable, one-way ANOVA was applied. The comparison between the mean values was performed applying Tukey HSD test, taking as significance level $p < 0.05$. For calculations, Microsoft Excel 2010 and InfoStat 2016e were used.

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical composition of gluten-free flours

The Table 1 summarizes the data of the chemical composition of the gluten-free flours used in this work.

Table 1. Chemical composition (g/100g) and calorific value (kcal/100g) of corn, rice and *Prosopis nigra* flours.

FLOUR	Corn	Rice	*Prosopis nigra*
Moisture*	10.2±0.0	9.9±0.2	10.1±0.4
Ash*	1.6±0.03	1.8±0.0	2.9±0.0
Carbohydrates*	70.1±0.2	83.7±0.1	62.7±0.4
Protein*	8.1±0.0	3.1±0.1	13.0±0.1
Crude fat*	2.8±0.1	0.7±0.0	4.8±0.2
TDF*	7.3±0.1	1.2±0.1	16.6±0.1
Soluble fraction*	2.5±0.1	0.4±0.0	6.1±0.0
Insoluble fraction*	4.8±0.0	0.8±0.0	10.5±0.1
Calorific value (kcal/100g)	338	353	346

Mean values ± standard deviations. * Values expressed in g /100g.

Prosopis nigra flour is rich in monosacharides and disaccharides such as fructose, glucose and sucrose (40-50%), which confer the characteristic sweet taste to the flour (Tucci, 2014; Margalef et al., 2012), and convert it into high-energy food (346 Kcal / 100g – Table 1). The prosopis nigra flour provides an important contribution of proteins (13.0±0.1g /100g) (Table 1), which must be supplemented with cereals to improve the profile of essential amino acids. Regarding fats, this flour provides a moderate amount (4.8±0.2g/100g), and excellent quality. Other authors reported the presence of essential fatty acids, mainly linoleic and oleic (Tucci, 2014; Margalef et al., 2012). In relation to the fiber, the *Prosopis nigra* flour contributes approximately 16.6±0.1g/100g, with predominance of the insoluble fraction (Table 1). It also has other polysaccharides such as galactomannans and lignin that confer potential as a prebiotic for the intestinal flora (Tucci, 2014; Margalef et al., 2012).

In Rice flour, the carbohydrates are the most abundant constituents, with an approximate starch content of 84g / 100g (Table 1). The starch determines the properties and functionality of this flour, and these are dependent on the amylose / amylopectin ratio (60/40) (Leon & Rosell, 2007). Protein is the second constituent in rice flour, although it is one of the protein poorest cereals (3.1±0.1 g/100g) (Table 1). The lipid and TDF contents are lower than the *Prosopis nigra* flour (Table 1), but both nutrients play a very important role in the sensory and functional characteristics of rice flour: the lipids associated to the starch significantly affect the pasting properties and other functional characteristics of the rice starch (León & Rosell, 2007).

Corn flour contains 70% starch and 8% protein (Table 1). The fat and TDF contents were moderate. Corn flour is used to make cookies, biscuits, corn bread, meat emulsions, etc., giving a particular texture to gluten-free products.

Corn flour is one of the least-favored by-products of the grain. However, it is used in the manufacture of cookies, biscuits, cornbread, meat emulsions, etc., giving a particular texture to gluten-free products (León & Rosell, 2007; ILSI, 2006). It contains 70% starch and 8% protein (Table 1). The fat content is moderate, mainly providing linoleic acid (Omega 6) (León & Rosell, 2007). Since it is a whole meal, the TDF contribution was 7.3±0.1g/100g, with predominance of the insoluble fraction (Table1).

Chemical composition and calorific value of gluten-free bread

Next, Table 2 shows the results of the chemical composition of bread, and Figure 1 presents the caloric distribution of the *Prosopis nigra* gluten-free bread.

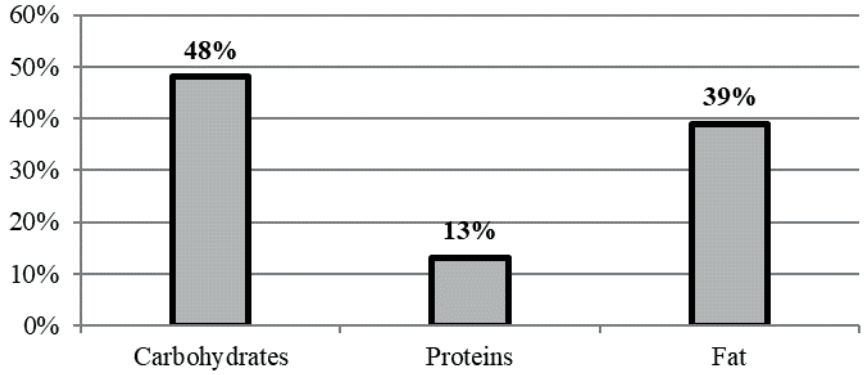
The energy intake of 100g of bread was 231 Kcal (caloric density = 2.31 kcal/g) (Table 2), with a balanced caloric distribution (Fig. 1).

Table 2. Chemical composition of gluten-free bread made with *Prosopis nigra* flour and addition of whey concentrate and xanthan gum.

Bread*	g/100g	
	w.b.	d.b.
Carbohydrates†	27.9**	51.2
Protein	7.5±0.1	13.7
Crude Fat	9.9±0.1	18.2
TDF	7.9±0.4	14.4
SDF	1.1±0.1	2.1
IDF	6.7±0.3	12.4
Ash	1.3±0.1	2.4
Moisture	45.5±0.1	-

Bread*: *Prosopis nigra* gluten-free bread with concentrate of whey protein and xanthan gum. w.b.: wet basis. d.b.: dry basis. TDF: total dietary fiber. SDF: soluble dietary fiber fraction. IDF: insoluble dietary fiber fraction. † Carbohydrates available. ** Calculated by difference [100- (Moisture + protein + fat + ash + TDF)].

Figure 1. Percentages of the Total Caloric Value, covered by carbohydrates, proteins and fats contained in a portion of Prosopis nigra gluten-free bread.



The bread provided 7.5±0.1g/100g of proteins (13.7g/100g d.b.). This value far exceeded those published by Matos Segura & Rosell (2011) when analyzing the average composition of eleven commercial gluten-free breads, and by Ledesma & Milde (2010) and Yazynina et al. (2008). These authors observed that gluten-free loaves generally have very low protein content, which ranged from 2.5 to 6.8/100g (d.b.). This was due to the use of starches (maize, potato, cassava, rice) as the main ingredient in the production of most commercial breads, (Matos Segura & Rosell, 2011). Unlike them, *Prosopis nigra* bread was made from three flour mixture, with addition egg, milk and WC, which favored protein intake.

Related to fats, the gluten-free bread contributed 9.9±0.1g/100g (18.2g/100g d.b.), exceeding the values published by other authors, which varied between 1.6 and 11.1g/100g d.b. (Matos Segura & Rosell, 2011, Ledesma & Milde, 2010, Del Castillo et al., 2009, Yazynina et al., 2008). This result may be due to the fact that, unlike other formulations, whole flours (no starches), egg, whole milk and whey concentrate were used in this study.

The bread with *Prosopis nigra* flour presented 1.3±0.1g /100g (2.4g /100g d.b.) for ashes (Table 2), similar to those reported for the average composition of commercial gluten-free breads by Matos Segura & Rosell (2011), Del Castillo et al. (2009), and Ledesma & Milde (2010) (2.9±0.1g/100g d.b., 2.1±0.1g/100g d.b., and 1.6 to 2.4g/100g d.b., respectively). It should be noted that in the bread studied in this work, flours were used that provide minerals of the grain´s pericarp, milk and low amount of sodium chloride (ClNa: 2% w/w of flour mixture), unlike commercial breads where most of the minerals were supplied by ClNa, raising agents, and chemical preservatives (Matos Segura & Rosell, 2011).

The amount of total dietary fiber (TDF) provided by bread with addition of *Prosopis nigra* was 7.9g/100g (14.4g/100g d.b.) (Table 2). This value far exceeds those published by Ledesma & Milde (2010) (0.7 - 3.4g /100g), Del Castillo et al. (2009) (1.8 ± 0.1g/100g) and Thompson (2000) (1.2 - 5.6 /100g). Matos Segura & Rosell (2011) found similar values (3.6 - 7.2g/100g) to those of the present study, but differed in the proportion of soluble and insoluble fibers. *Prosopis nigra* bread with addition of WC and XG, resulted in higher total

fiber content due to the use of whole flours and the addition of the hydrocolloid. In general, the literature emphasizes that gluten-free breads provide a good amount of fiber, especially the soluble fraction, by the addition of hydrocolloids such as xanthan gum, guar gum, CMC, HPMC, pectin or a combination thereof. (Matos Segura & Rosell, 2011; Korus et al., 2009). The non-addition of gums is reflected in a significant drop in the fiber supply: Ledesma & Milde (2010), reported values for TDF of 0.7 to 3.4g/100g in breads with mixtures of cassava flour and starch.

In the present investigation, the soluble fiber fraction was 1.1g/100g (2.1g/100g d.b.), being lower than the values published by Matos Segura & Rosell (2011) for most of the commercial gluten-free breads studied (2.5 - 4.3g /100g), and higher than those reported by Korus et al. (2009) (1.2-1.5g/100g d.b.). As mentioned previously, the commercial breads have soluble fibers provided by the gums used as technological improvers, but in the case of the bread elaborated in this study, the contribution in soluble fibers could come from xanthan gum and galactomannans of the flour (although they are in small proportion).

Insoluble dietary fiber (IDF) represented the predominant fraction in the sample studied (6.7g /100g, 12.4g/100g d.b.), which far exceeded the values reported in the literature (1.5 - 4.3g /100g d.b., and 2.8 - 4.9g /100g d.b., Matos Segura & Rosell, 2011 and Korus et al., 2000, respectively), since mixtures of starches or modified starches were used for gluten-free bakery. The IDF contribution of corn, rice and *Prosopis nigra* flours was responsible for this result, in addition to the possible existence of resistant RS3 starch, formed from retrograded starches. Matos Segura & Rosell (2011) pointed out that only one of the commercial breads exceeded the average in IDF, reaching 4.3g /100g (d.b.), because maize flour was added to the formulation.

Only for comparison purposes, it is important to note that wheat bread provides 0.8, 3.1, and 3.8g /100g of IDF, SDF and TDF respectively (Saura-Calixto et al., 2000).

In relation to carbohydrates, bread with *Prosopis nigra* flour provided 27.9g/100g (51.2g/100g d.b.) (Table 2), which was markedly lower than that found in the literature (75.6 - 92.5g/100g , according to Matos Segura & Rosell, 2011, and 41.9g/100g according to Del Castillo et al., 2009). The marked difference in the amount of available carbohydrates (starch and sugars) compared to other gluten free breads is explained by the nature of the ingredients used. The low proportion of available carbohydrates is relevant to recommend the consumption of this bread for other population groups, with different non-communicable chronic diseases.

The bread made for this study will be recommended for celiac people in asymptomatic period (without distention and / or diarrhea) and with good recovery of the intestinal functioning, since the bread contains fibers and lactose.

Percentage of the Dietary Reference Intake.

Given the particularities in the chemical composition, this bread can be recommended for celiac and non-celiac people at different biological moments. Therefore, the percentage of the Dietary Reference Intakes (% DRI) (Table 3) and, additionally, the Percent Daily Value (% DV) (Table 4) covered by a 50g portion of bread, are analyzed.

Regarding proteins, a portion of bread with *Prosopis nigra* flour, covers 20% of the DRI for children between 4 and 8 years old, a relevant fact considering that this age group presents great need of this nutrient because it is in the growth stage.

The %DRI covered by a serving of bread, for adult men and women varies from 7% to 8% (Table 3), which represents a significant contribution, based on the estimate that the average bread consumption is 200g/day (Lezcano, 2011). For the pregnant or breastfeeding woman, the protein contribution drops to 5%. However, for these biological moments it is important to recommend high biological quality proteins from other food sources that complement the diet.

The fat contribution reached 16% (Table 3), so it would be important to determine and differentiate the proportion saturated and unsaturated fats to recommend their consumption in people with pathologies related to fat metabolism.

Table 3. Dietary Reference Intakes (% DRI) for protein, fat and fiber covered by a portion (50g) of bread made with *Prosopis nigra* flour and addition of whey concentrate and xanthan gum, according to biological moments.

Nutrient	Biological moment	Dietary Reference Intakes (DRI)* (g/day)	Contribution of a bread serving** (g)	%DRI
Protein	Child (4-8 years)	19	3.74	20
	Adult woman	46		8
	Adult man	56		7
	Pregnancy & Lactation	71		5
Fat	Child (4-8 years)	30	4.95	16
	Adult woman	30		
	Adult man	30		
	Pregnancy & Lactation	30		
Fibre	Child (4-8 years)	25	3.92	16
	Adult woman	25		16
	Adult man	38		10
	Pregnancy & Lactation	28		14

* DRI: Recommendation from the Institute of Medicine of the National Academies (IOM), 2005. ** One serving = 50g of bread.

In relation to TDF, the bread studied would contribute more than 10% of the DRI for all biological moments analyzed, which was considered appropriate, since traditional wheat bread only provides between 4 and 6% of the reference intakes (Ishida & Steel, 2014). In addition,

daily consumption of vegetables, fruits and whole grains should be recommended to achieve an adequate supply of fibers.

Additionally, Table 4 presents the percent of Daily Value (% DV) covered by a portion of bread. This %DV was calculated since it represents one of the necessary requirements for nutritional labeling in Mercosur (MERCOSUR/GMC/RES. Nº 46/03).

A *Prosopis nigra* bread serving covers 6% of the energy value (Table 4). Ledesma & Milde (2010) found that a bread of corn and soybean flour and cassava starch, contributed 10% of the DV, and the difference was due to the fact that it provided more available carbohydrates than the *Prosopis nigra* bread.

The 5% of the DV was covered by proteins, a proportion almost identical to that published by Ledesma & Milde (4.5%). It should be noted that the percent Daily Value for proteins was markedly lower than that discussed above for DRI (Table 3). This difference was simply due to the fact that the DRI considers different recommendations according to the biological moment (being higher for the pregnant and breastfeeding woman), and the Daily Values are a reference used in nutritional labeling, and are calculated based on a diet of 2000 kcal.

Table 4. Percent of Daily Reference Values (% DV) for calories, carbohydrates, proteins, fats and fiber, covered by one serving (50g) of gluten-free bread made with *Prosopis nigra* flour and addition of whey concentrate and xanthan gum.

	Percent Daily Value*	Contribution of a bread serving**	%DV
Energetic value	2000kcal	115kcal	6
Carbohydrates	300g	13.93g	5
Proteins	75g	3.74g	5
Fat	55g	4.95g	9
Fibre	25g	3.92g	16

* Source: MERCOSUR/GMC/RES. Nº 46/03. ** One serving = 50g of bread.

Table 5.presents the results referring to global acceptability and for attributes, whether this has been measured by celiac or non-celiac consumers.

Table 5. Acceptability (general and for attributes) for gluten free bread made with *Prosopis nigra* flour and addition of whey concentrate and xanthan gum.

CELIAC	YES	NO
OVERALL ACCEPTABILITY	5.7±1.8a	6.8±1.2a
TEXTURE	6.0±2.0a	6.0±1.1a
TASTE	5.9±1.7a	5.9±1.2a
COLOR	6.1±1.2a	5.8±1.3a

Mean values ± Standard deviations. CELIAC YESI (*n=27*) – CELIAC NO (*n=28*). Different letters in the rows correspond to significant difference ($p<0.05$).

It should be noted that no differences were detected when comparing the scores recorded for the bread by celiac and non-celiac consumers ($p > 0.05$), which means that the product was equally pleasing for both population groups. This is a very relevant fact, since were expected that non-celiac consumers attribute lower scores, since perhaps the samples

did not have the likely characteristics for them. In turn, the celiac participants gave very good scores to the product, which become relevant since that it is a very demanding population group, and also because in general, the gluten-free breads are considered of low technological quality (Gallagher et al., 2004).

It is noteworthy that other authors consider that gluten-free formulations that achieve hedonic scores equal to or greater than 5 (measured in 9-point scales), should be considered very acceptable (Kittisuban et al., 2014; Lazaridou et al., 2014). This confirms that the loaves with Prosopis nigra flour, achieved excellent scores. Regarding what was reported in other investigations, Kittisuban et al. (2014), found that breads made with rice starch, yeast β-glucans, HPMC and whey protein concentrate showed a general acceptability of 5.7 ± 1.3 on the 9-point hedonic scale; whereas Lazaridou et al. (2014), observed that the bakeries of rice flour, corn starch and sodium caseinate presented a score of 6.5 on a 9-point scale, increasing to 7 by adding 2% of xanthan gum and decreasing to 6.2 by adding 1 % of this hydrocolloid.

CONCLUSIONS

A portion of bread (50g) provided 19% of DRI for protein for children aged 4 to 8 years, while for a pregnant or lactating woman, this value reached 5%. Regarding the fibers, a serving of bread covered 16% and 14% of the DRI for these biological moments. The fat requirement was covered by 16% for all biological moments analyzed.

As for the percent daily value, one serving of gluten-free bread covered 6% of energy, 5% of protein, 6% of fats and 16% of fiber.

The dietary contribution of this bread surpasses in proteins and fiber to the commercial ones.

The general acceptability was close to 6 points (I like), and it did not differentiate between celiac and non-celiac consumers. The attributes did not present differences.

In conclusion, the bread made with *Prosopis nigra* flour presented high acceptability, a balanced caloric distribution, contributing a high proportion of proteins, fats, dietary fiber (mainly of the insoluble fraction), and low quantity of carbohydrates available, characteristics that make it a recommendable product for celiac persons in different biological moments.

REFERÊNCIAS

1. AOAC. (1990). Official methods of Analysis of the AOAC. Volume 2. No. (Ed. 15). Association of Official Analytical Chemists Inc.

2. Del Castillo, V.C., Lescano, G.R., & Armada, M. (2009). Formulación de alimentos para celíacos con base en mezclas de harinas de quinoa, cereales y almidones. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 59*(3), 333-336. http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222009000300015&lng=es.

3. Gallagher, E., Gormley, T.R., y Arendt, E.K. (2004). Recents advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 143-152. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.012

4. González Galán, A., Abreu, C., & Duarte Correa, A. (2008). Caracterización química de la harina del fruto de Prosopis spp. procedente de Bolivia y Brasil. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 58*(3), 309-315. http://www.alanrevista.org/ediciones/2008/3/art-15/#

5. Huerta, K., Alves, J., Silva, A., Kubota, E., & Rosa, C. (2016). Sensory response and physical characteristics of gluten-free and gum-free bread with chia flour. *Food Science and Technology (Campinas)*, *36*(Suppl. 1), 15-18. https://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.0032

6. ILSI Argentina (2006). Maíz y Nutrición. Vol. II, 80p. Retrieved from: http://www.maizar.org.ar/pdf/Revista%20maizar%202.pdf

7. Ishida, P.M., y Steel, C.J. (2014). Physicochemical and sensory characteristics of pan bread samples available in the Brazilian market. *Food Science and Technology* (Campinas), *34*(4), 746-754. http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.6453

8. Kittusuban, P., Ritthiruangdej, P., y Suphantharika, M. (2014). Optimization of hydroxyproylmethylcellulose, yeast β-glucan, and whey protein levels based on physical properties of gluten-free rice bread using response surface methodology. *LWT – Food Science and Technology*, *57*, 738-748. https://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.045

9. Korus, J., Witczak, M., Ziobro, R., & Juszczak, L. (2009). The impact of resistant starch on characteristics of gluten-free dough and bread. *Food Hydrocolloids*, *23*, 988–995. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.010

10. Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., & Biliaderis, C.G. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering, 79*(3), 1033-1047. http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.03.032

11. Ledesma, E.S., & Milde, L.B. (2010). Composición química de panes de fécula de mandioca suplementados con diferentes aditivos. *Revista de Ciencia y Tecnología, 14*, 43-48. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-75872010000200008&lng=es&tlng=es.

12. León, A.E., & Rosell, C. (Ed). (2007). *De Tales Harinas, Tales Panes*: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica. (1a ed). - Córdoba: Hugo Báez Editor, 480 p.

13. Lezcano, E.P. (2011). Productos panificados. Cadenas alimentarias: *Alimentos Argentinos*, *51*, 26-38. Retrieved from: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/revista/ediciones/pdf/revista_AA_51.pdf

14. Margalef M.I., Tóffoli, S.L., Burgos, V.E., Campos, A, Valdez Clinis, G.A., & Jiménez, M. J. (2012). Algarroba Negra (Prosopis nigra): Caracterización fisicoquímica y elaboración de productos dietéticos. *Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud, 1*(2), 14-19. Retrieved from: http://fsalud.unsa.edu.ar/salud/descargas/revista/REVISTA2.pdf

15. Matos Segura, M.E., & Rosell, C.M. (2011). Chemical composition and starch digestibility of different gluten-free breads. *Plant Foods for Human Nutrition*, *66*(3), 224-230. https://dx.doi.org/10.1007/s11130-011-0244-2

16. MERCOSUR. (2003). Reglamento técnico mercosur sobre el rotulado nutricional de alimentos envasados. GMC/RES. Nº 46/03. Retrieved from: http://www.puntofocal.gov.ar/doc/r_gmc_46-03.pdf

17. National Academy of Science. Institute of Medicine (2005). Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, protein, and amino acids (Macronutrients). The National Academies Press (NAP), Washington D.C. Retrieved from: https://www.nap.edu/search/?term=Dietary+Reference+Intakes+for+Energy%2C

18. Nunes, M.E., Ryan, L.A.M.,& Arendt, E.K. (2009). Effect of low lactose dairy powder addition on the properties of gluten –free batters and bread quality. *European Food Research and Technology*, *229*, 31-41. http://dx.doi.org/10.1007/s00217-009-1023-2

19. O´Shea, N., Arendt, E., & Gallagher, E. (2014). State of the art in gluten-free research. *Journal of Food Science, 76(*6), 1067-1076. http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.12479

20. Saura-Calixto, F., Garcia-Alonso, A., Goñi, I., & Bravo, L. (2000): In vitro determination of the indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, *48*, 3342-3347. http://dx.doi.org/10.1021/jf0000373

21. Sciarini, L.S., Ribotta, P.D., León, A.E., & Pérez, G.T. (2012). Incorporation of several additives into gluten free breads: Effect on dough properties and bread quality. *Journal of Food Engineering, 111*, 590-597. http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.011

22. Souci, S. W., Fachman, H., & Kraut, E. (2000). *Foods composition and nutrition tables* Stuttgart: Medpharm GmbH Scientific Publishers. (1182 p.).

23. Tavares, B., Silva, E., Silva, V., Soares Júnior, M., Ida, E., & Damiani, C. (2016). Stability of gluten free sweet biscuit elaborated with rice bran, broken rice and okara. *Food Science and Technology (Campinas)*, *36*(2), 296-303. https://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.0083

24. Thompson, T. (2000). Folate, iron, and dietary fiber contents of the gluten-free diet. *Journal of the American Dietetic Association*, *100*(11), 1389-1396. http://dx.doi.org/10.1016/S0002-8223(00)00386-2

25. Trevisson, M. (1992). Evaluación Nutricional de Frutos de Tres Especies de Algarrobos. Retrieved from: www.fao.org/docrep/006/ad314s/ad314s07.htm

26. Tucci, J.R. (2014). Algarroba: usos y propiedades. Newsletter IATENA - Instituto Argentino de Terapias Naturales. Retrieved from: http://www.iatena.com.ar/articulos/dietetica/la-algarroba-usos-y-propiedades/

27. Yazynina, E., Johansson, M., Jägerstad, M., & Jastrebova, J. (2008). Low folate content in gluten-free cereal products and their main ingredients. *Food Chemistry*, *111*(1), 236-242. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.055

17

Influência da constituição alimentar na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis

- Danilo Furtado da **Costa**
  UFPA
- Ana Beatriz da Silva **Maia**
  UFPA
- Giovanna Medeiros **Pereira**
  UFPA
- Luana Karoline Furtado **Silveira**
  UFPA
- Rosely Carvalho do **Rosário**
  UFPA
- Adriano Cruz da Costa **Maciel**
  UFPA
- Yasmin Silva **Lemos**
  UFPA
- Orquidea Vasconcelos dos **Santos**
  UFPA

10.37885/201102152

RESUMO

Objetivo: A presente pesquisa visa demonstrar ação dos constituintes funcionais dos alimentos como fator de prevenção nos agravos das doenças crônicas não transmissíveis. **Métodos:** As bases metodológicas foram centradas primordialmente em artigos científicos centrados nas plataformas de pesquisas cientificas PubMed, Science Direct da Elsevier, Willey on line library, Base de dados da Springer-Nature, Scielo, ACS – American Chemical Society atuais utilizando Palavras-chave em Inglês e português: “prevenção, alimentos funcionais” combinado com: “bioactives”, “nutraceuticals” ou “functional foods” relacionadas à doenças crônicas não transmissíveis. **Resultados:** Os dados mostram que a inclusão e incremento de fontes alimentares com considerado aporte em constituintes bioativos funcionais, atua de forma direta na redução de agravos a saúde, minimizando sinais e sintomas de patologias crônicas, podendo e devendo ser incentivada como incremento na ingestão dietética diária como estratégias de prevenção base do sistema imunológico com ação anti-inflamatória e imunomodulatórios. **Considerações finais:** Assim, o conhecimento da atuação de constituintes alimentares pode ser tomado como forma de enfrentamento do crescente quadro de morbidade e mortalidade das doenças crônicas não transmissíveis.

Palavras-chave: Alimentos, Funcionais, Etiologia, DCNT.

INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) apresentam alta incidência no mundo todo, com grande impacto epidemiológico e econômico. As doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, câncer e doença respiratória crônica são consideradas as principais DCNTs e são responsáveis por mais de 80% das mortes prematuras por DCNTs em todo o mundo anualmente (WHO, 2018).

No Brasil, o número de mortes prematuras, 30 a 69 anos, por DCNTs foi de 303.791em 2018, representando 42,18% do total de óbitos por ocorrência. A região Norte apresentou 17.383 mortes prematuras e o estado do Pará 8.053, sendo o estado com maior número de mortes na região durante esse período. Em 2019, o número de mortes prematuras foi de 305.679 no território nacional, representando 41,85% do total de óbitos por ocorrência. Na região Norte, foram 39.911 óbitos e no estado do Pará 18.658, caracterizando-o com o estado com maior número de mortes na região durante esse período (BRASIL, 2020).

As doenças cardiovasculares (DCVs) têm sua mortalidade prematura no Brasil principalmente por doenças do aparelho circulatório, com 137.661 mortes em 2018, representando 45,30% das mortes prematuras por DCNTs. Na região Norte, foram 7.469 óbitos, dos quais 3.701 óbitos ocorreram no estado do Pará. Os dados referentes ao ano de 2019, indicam 137.161 mortes em todo território nacional (45% das mortes prematuras por DCNTs), 7.732 na região Norte e 3.786 no estado do Pará (BRASIL, 2020a).

Ademais, essas doenças apresentam como fatores de risco modificáveis, principalmente, o uso de tabaco, consumo de álcool, inatividade física e hábito alimentar inadequado. Com relação ao hábito alimentar, dietas ricas em carboidratos simples, gorduras saturadas e trans, com pouca quantidade de micronutrientes e fibras estão diretamente relacionadas com DCVs, diabetes mellitus tipo 2, câncer e hipertensão; o que é preocupante, pois este padrão alimentar está muito presente na população brasileira (KHAKPOURI et al., 2019; FERREIRA; BARBOSA; VASCONCELOS, 2019).

Desse modo, a adoção de um hábito alimentar saudável, caracterizado pelo consumo regular de frutas, verduras, legumes, leite e derivados desnatados, peixes, aves e carnes magras, com baixa ingestão de doces e bebidas ricas em açúcar, reduz a incidência de DCNTs, agindo na redução de fatores de risco metabólicos e antropométricos (FERREIRA; BARBOSA; VASCONCELOS, 2019; AIRES et al., 2019).

Em consonância, há os alimentos funcionais, os quais se apresentam in natura ou processados pela indústria, e que produzem efeitos benéficos para a saúde, além de suas funções nutricionais básicas. Agem de forma positiva nas funções fisiológicas do organismo, favorecendo a saúde, melhorando a qualidade de vida e auxiliando na redução do risco de doenças. Por esse motivo se tornaram uma nova tendência do mercado. Na composição

desses alimentos, encontram-se ácidos graxos mono e poli-insaturados, prebióticos, probióticos, carotenoides, compostos fenólicos, proteínas de soja, etc. (SILVA, A. C. et al., 2016; XIE; LIANG; CHEN, 2019). Com relação a esses componentes, destacam-se os compostos bioativos, como carotenoides e compostos fenólicos ou polifenóis, os quais atuam na modulação da inflamação e do estresse oxidativo, contribuindo para a prevenção e a modulação das vias metabólicas associadas ao desenvolvimento das DCNTs. Para isso, é importante que a ingestão seja diária, para atender às necessidades e ter ação multifatorial1 (GIANAZZA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2020).

Assim, o objetivo deste trabalho foi compilar dados científicos atuais da ação de constituintes funcionais como estratégias em bases alimentares de constituintes que atuem na prevenção e ou coadjuvantes terapêuticos alternativos com vistas a reduzir a incidência de DCNT'S. Vislumbramos agregar a estes o reconhecimento da ação de compostos com reconhecida atuação bioativas que dão suporte a otimização do sistema imunológico como agentes de defesa orgânica que venham a ser consumidos na ingestão dietética diária.

METODOLOGIA

A referida pesquisa é parte integrante do projeto "Tecnologias analíticas para agregação de valor a produtos e subprodutos da fruticultura Amazônica" componente do grupo de pesquisa do CNPQ. É pautada na revisão de materiais bibliográficos que versão sobre a composição de alimentos tendo como base exemplares de constituintes funcionais. As plataformas e bases de dados consultadas ancoraram-se em artigos científicos e outros documentos encontrados nos periódicos da CAPES, PubMed, Science Direct da Elsevier, Willey on line library, Base de dados da Springer-Nature, Scielo, ACS – American Chemical Society, além do Google acadêmico. Foram utilizados os descritores em Inglês e também em português: "Alimentos funcionais" combinado com: "acids graxos", "bioactives", "nutraceuticals" ou "functional foods", "flavonoids" associadas entre si pelo descritor booleano "AND". A busca nas bases de dados de artigos científicos foi realizada sem recorte de tempo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

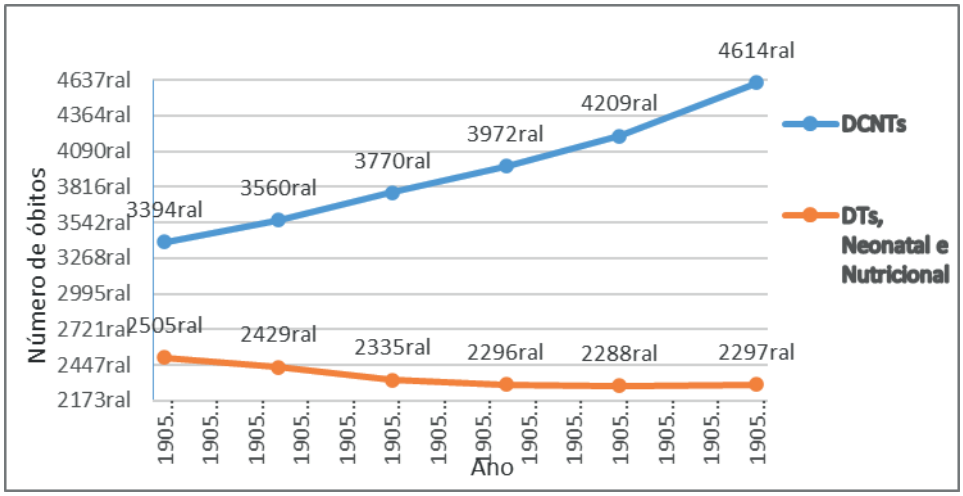
Doenças crônicas não transmissíveis e sua relação com a alimentação

A prevalência das doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) no Brasil está correlacionada ao processo de transição nutricional, o qual está intimamente ligado ao aumento da oferta de alimentos com alta carga energética, nutricionalmente pobres, incrementados de aditivos alimentares, de rápido consumo e preparo, conhecidos como alimentos

ultra- processados; os quais passaram por um crescimento exponencial no seu consumo em decorrência do baixo custo e das necessidades decorrentes do padrão de vida urbano-ocidental (CONFORTIN et al., 2019; CANUTO; FANTON; LIRA,2019; FERREIRA; BARBOSA; VASCONCELOS, 2019; MALTA et al., 2019).

A Figura 1 apresenta o gráfico de evolução do número de óbitos por doenças crônicas não transmissíveis, doenças transmissíveis, morte neonatal e nutricional ao longo dos anos, correlacionando-se com a melhora no combate a doenças transmissíveis e na acessibilidade ao atendimento médico durante o pré-natal, e com a transição nutricional.

Figura 1. Evolução de óbitos por doenças crônicas não transmissíveis, doenças transmissíveis, neonatal e nutricional (1990 a 2016).



DCNTs: doenças crônicas não transmissíveis; DTs: doenças transmissíveis.

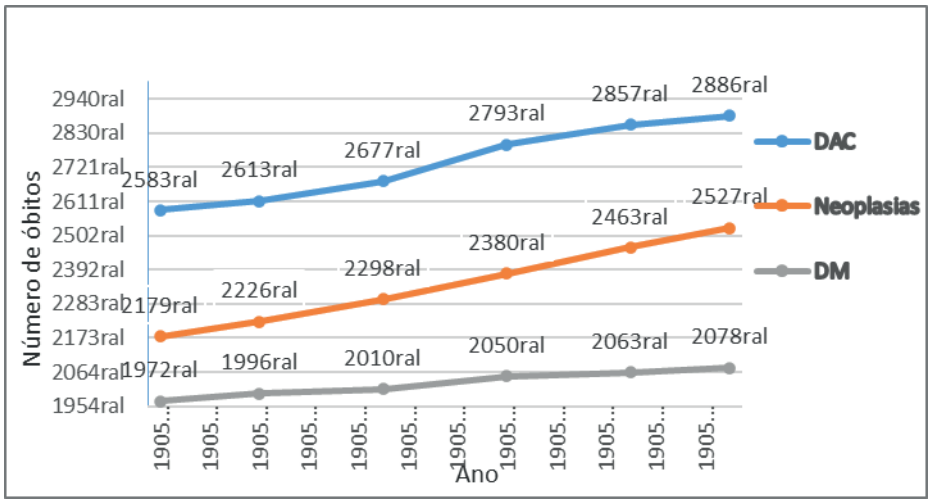
Fonte: Brasil (2016).

Desse modo, considera-se como comportamento alimentar de risco para as DCNTs aquele em que há consumo excessivo de sódio, gorduras saturadas e trans, carboidratos simples (ou refinados) e aditivos alimentares, muito presentes em alimentos ultraprocessados; além da ingestão insuficiente de carboidratos complexos, gorduras insaturadas, vitaminas, minerais e fitonutrientes, nutrientes encontrados em alimentos *in natura* e minimamente processados. Característica essa, segundo estudos, presente no hábito alimentar de grande parte da população brasileira, a qual é fator de risco para o desenvolvimento precoce de alguma DCNT, aumentando a mortalidade na faixa etária de 30 a 69 anos, denominada “morte prematura” (BRASIL, 2015; CONFORTIN et al., 2019; HAINES et al., 2019; PALLAZOLA et al., 2019).

Dentre as DCNTs, as doenças cardiovasculares (DCVs) são as que mais causam morbimortalidade, além de serem as principais responsáveis por mortes prematuras (CATAPANO et al., 2019). A Figura 2 compara os dados referentes a óbitos por doenças do aparelho circulatório e duas das principais DCNTs durante o período de 1996 e 2019, demonstrando

o impacto das doenças que envolvem o aparelho circulatório sobre o número de óbitos por doenças crônicas.

Figura 2. Comparação entre os óbitos por doenças crônicas não transmissíveis na linha temporal de 1996 a 2019.



DAC: doenças do aparelho circulatório; DM: diabetes *mellitus*.

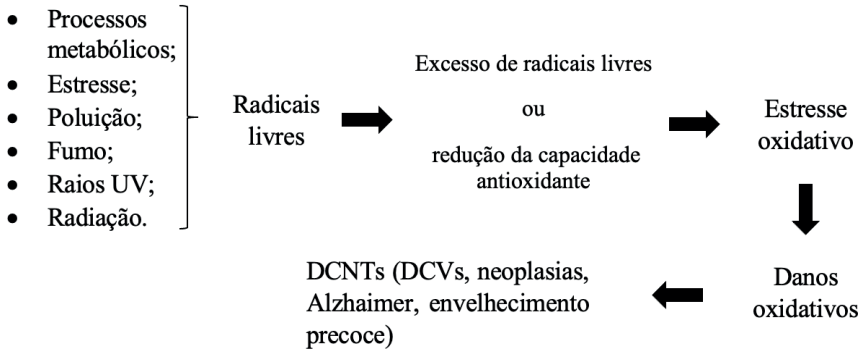
Fonte: Brasil (2020).

Isso se deve, em grande parte, à persistência de fatores de risco, muitos destes modificáveis, na vida da população. Dentre esses fatores de risco, dietas ricas em gorduras saturada e trans, elevado consumo de açúcar, baixa ingestão de fibras dietéticas e antioxidantes, fumo, consumo excessivo de bebida alcoólica, obesidade, diabetes, dislipidemia e hipertensão são fatores de risco muito impactantes no desenvolvimento de DCVs, principalmente no que tange à aterogênese (ECHEVERRIA et al., 2020; SANCHES-SILVA et al., 2020).

Em consequência, esses fatores de risco promovem um estresse oxidativo por elevada produção de radicais livres, induzindo a uma contínua produção de espécies químicas instáveis, gerando acúmulo de danos oxidativos em lipídios (lipoperoxidação), proteínas e no ácido desoxirribonucleico - DNA (ALVES HENRIQUE et al., 2018; CUNHA et al., 2016; PISOSCHI; POP, 2015; PORSH; SIMAS; GRANZOTI, 2019). No contexto cardiovascular, essa oxidação ocorre, principalmente, com as lipoproteínas de baixa densidade (LDL), pois são centrais no processo de transporte de colesterol do fígado para as células, sendo, desse modo, mais susceptíveis à migrarem para o espaço subendotelial e sofrerem lipoperoxidação (AFONSO; SPICKETT, 2019; GIANAZZA et al., 2019).

A figura 3 resume as condições que promovem a geração de radicais livres e a cadeia de eventos até o surgimento das doenças crônicas não transmissíveis.

Figura 3. Origem dos radicais livres e progressão até o surgimento de doenças.

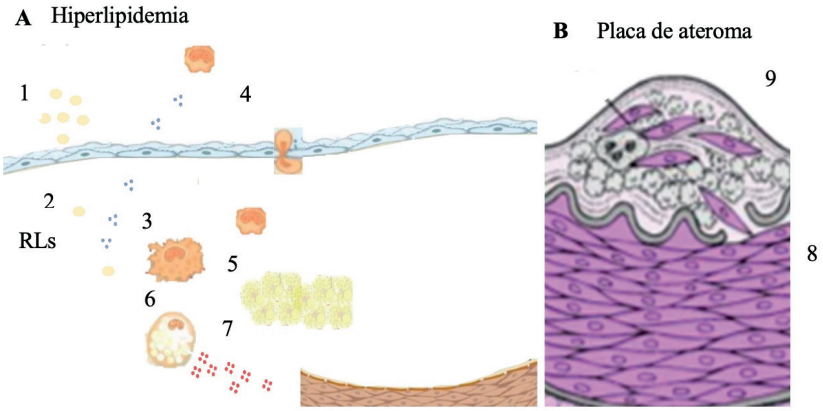


DCNTs: doenças crônicas não transmissíveis; DCVs: doenças cardiovasculares; UV: ultravioleta.

Fonte: Baseado nos trabalhos de Pisoschi e Pop (2015); Porsh, Simas e Granzoti (2019).

Esse processo oxidativo está intimamente ligado à gênese da aterosclerose (Figura 4), pois a oxidação de LDL-colesterol, na túnica íntima (espaço subendotelial), promove modificações em sua estrutura. Desse modo, ocorrem respostas imunológicas e inflamatórias, promoção de apoptose e alteração nas funções da lipoproteína de alta densidade – HDL. Consequentemente, há infiltração de monócitos e sua maturação em macrófagos, levando à formação de células espumosas, progressão de células musculares lisas em direção à lesão, produção de componentes de matriz extracelular e formação de placa de ateroma. Tudo ocorre por meio de um *feedback* positivo, no qual as respostas induzidas pelos produtos da lipoperoxidação da LDL estimulam o estresse oxidativo e promovem um ambiente favorável para o avanço da placa de ateroma (AFONSO; SPICKETT, 2019; GIANAZZA et al., 2019; KAJAL et al., 2016; PISOSCHI; POP, 2015; SITI; YUSOF; KAMSIAH, 2015).

Figura 4. Processo aterosclerótico originado por hiperlipidemia e lipoperoxidação.



1: Condição de hiperlipidemia, excesso de lipoproteína de baixa densidade (LDL); 2: Lipoperoxidação de LDL por excesso de radicais livres; 3: Liberação de substâncias pró-inflamatórias e quimitáticas pelas LDL-modificadas; 4: Quimiotaxia dos monócitos; 5: Maturação de monócitos em macrófagos; 6: Formação das células espumosas e liberação de interleucina-8; 7: Apoptose das células espumosas; 8: Avanço das células musculares lisas do vaso em direção à lesão; 9: Formação da placa de ateroma. RLs: Radicais livres.

Fonte: Baseado nas figuras de (B) Carapeto, Montanari e Pinela (2017); (A) Silva A. O. et al. (2016).

A condição de hiperlipidemia (1) permite um ambiente favorável para adesão das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) às células endoteliais das artérias. Após a infiltração das LDL na Túnica íntima (2), o excedente de radicais livres promove a lipoperoxidação das LDL retidas, gerando as LDL-modificadas. As LDL-modificadas liberam substâncias pró-inflamatórias e quimiotáticas (3), estas chegam aos monócitos presentes na circulação sanguínea adjacente. Dessa forma, os monócitos se direcionam para as células endoteliais e aderem-se a elas (4), e migram para a Túnica íntima. Assim, ocorre a maturação dos monócitos em macrófagos (5). Os macrófagos se direcionam para as LDL-modificadas e as englobam (6), formando, assim, as células espumosas, que induzem inflamação do espaço subendotelial por meio da liberação de Interleucina-8 (IL-8). As LDL-modificadas no interior da célula espumosa promove a apoptose desta, a qual extravasa lipídios (7). Concomitantemente, as células musculares lisas do vaso, sinalizadas pela IL-8, avançam em direção à lesão (8), liberando macromoléculas de matriz extracelular, como elastina, colágeno, proteoglicanos, entre outros. As macromoléculas formam uma placa de ateroma (9), a qual isola os produtos de apoptose das células espumosas. Com a progressão da lesão, essa placa avança até romper ou provocar trombose.

A alimentação na prevenção de DCNTs

Diversos componentes alimentares, como vitaminas, minerais, ácidos graxos mono e poli-insaturados, fitoquímicos e fibras dietéticas, apresentam função essencial na prevenção de DCNTs. Pois, influenciam na disfunção endotelial, perfil lipídico, hipertensão, controle defrequência cardíaca, inflamação sistêmica, estresse oxidativo, metabolismo glicídico, entre outros. Sendo encontrados, principalmente, em grãos integrais, leguminosas, nozes, hortaliças, legumes, frutas inteiras e peixes, conforme apresentado no Quadro 1 (CATAPANO et al., 2019; FERREIRA; BARBOSA; VASCONCELOS, 2019; GIANAZZA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2020; PALLAZOLA et al., 2019).

Quadro 1. Alimentos, seus nutrientes e benefícios à saúde.

ALIMENTO	SUBSTÂNCIA BIOATIVA	COMPOSTOS ATIVOS	FUNCIONALIDADE
Frutas	Fitoquímicos, prebióticos e vitaminas antioxidantes	Compostos fenólicos, carotenoides, fitoesteróis, fibras, oligossacarídeos, vitamina C	Atividade antioxidante e anti-inflamatória, contribuem para equilíbrio e adequação do funcionamento intestinal, auxilia na redução da absorção de gordura e colesterol
Hortaliças	Fitoquímicos, prebióticos e vitaminas antioxidantes	Compostos fenólicos, alcaloides, carotenoides, fitoesteróis, fibras, oligossacarídeos, vitamina C	Atividade antioxidante e anti-inflamatória, contribuem para equilíbrio e adequação do funcionamento intestinal, auxilia na redução da absorção de gordura e colesterol
Legumes	Fitoquímicos	Compostos fenólicos, alcaloides, compostos organossulfurados e carotenoides	Atividade antioxidante e anti-inflamatória
Cereais	Prebióticos	Fibra e oligossacarídeos	Contribuem para equilíbrio e adequação do funcionamento intestinal, auxilia na redução da absorção de gordura e colesterol
Leguminosas	Prebióticos	Fibra e oligossacarídeos	Contribuem para equilíbrio e adequação do funcionamento intestinal, auxilia na redução da absorção de gordura e colesterol
Oleaginosas	Fitoquímicos, ácidos graxos poli-insaturados, vitaminas antioxidantes	Compostos organossulfurados, fitoesteróis, vitamina E	Atividade antioxidante e anti-inflamatória, auxilia na manutenção de níveis saudáveis de triglicerídeos
Legumes	Fitoquímicos	Compostos fenólicos, alcaloides, compostos organossulfurados e carotenoides	Atividade antioxidante e anti-inflamatória
Cereais	Prebióticos	Fibra e oligossacarídeos	Contribuem para equilíbrio e adequação do funcionamento intestinal, auxilia na redução da absorção de gordura e colesterol
Leguminosas	Prebióticos	Fibra e oligossacarídeos	Contribuem para equilíbrio e adequação do funcionamento intestinal, auxilia na redução da absorção de gordura e colesterol
Oleaginosas	Fitoquímicos, ácidos graxos poli-insaturados, vitaminas antioxidantes	Compostos organossulfurados, fitoesteróis, vitamina E	Atividade antioxidante e anti-inflamatória, auxilia na manutenção de níveis saudáveis de triglicerídeos
Legumes	Fitoquímicos	Compostos fenólicos, alcaloides, compostos organossulfurados e carotenoides	Atividade antioxidante e anti-inflamatória
Cereais	Prebióticos	Fibra e oligossacarídeos	Contribuem para equilíbrio e adequação do funcionamento intestinal, auxilia na redução da absorção de gordura e colesterol
Leguminosas	Prebióticos	Fibra e oligossacarídeos	Contribuem para equilíbrio e adequação do funcionamento intestinal, auxilia na redução da absorção de gordura e colesterol
Oleaginosas	Fitoquímicos, ácidos graxos poli-insaturados, vitaminas antioxidantes	Compostos organossulfurados, fitoesteróis, vitamina E	Atividade antioxidante e anti-inflamatória, auxilia na manutenção de níveis saudáveis de triglicerídeos
Óleos vegetais	Fitoquímicos, ácidos graxos poli-insaturados e vitaminas antioxidantes	Fitoesteróis, ômega-3, ômega-6, vitamina E	Atividade antioxidante e anti-inflamatória, auxilia na manutenção de níveis saudáveis de triglicerídeos
Produtos lácteos fermentados	Probióticos	Bifidobactérias e Lactobacilos	Melhoram o equilíbrio microbiano intestinal, produzindo efeitos benéficos à saúde
Alimentos de origem animal	Vitaminas antioxidantes	Vitamina A e E	Atividade antioxidante

ALIMENTO	SUBSTÂNCIA BIOATIVA	COMPOSTOS ATIVOS	FUNCIONALIDADE
Peixe (principalmente de águas profundas)	Ácidos graxos poli-insaturados	Ômega-3	Atividade anti-inflamatória e auxilia na manutenção de níveis adequados de triglicerídeos
Soja	Fitoquímicos, proteína de soja	Fitoesteróis e peptídeos bioativos	Atividade antioxidante, redução do colesterol e regulação hormonal

Fonte: Alves Henrique et al. (2018) e Pallazola et al. (2019).

Os alimentos que apresentam esses componentes em sua constituição, naturais ou fabricados, e que atuam positivamente na saúde, no desempenho físico ou no estado mental, capazes de executar benefícios de saúde clinicamente comprovados ou documentados para a prevenção, manejo ou tratamento de doenças crônicas, além da nutrição básica, são denominados “alimentos funcionais” (ALVES HENRIQUE et al., 2018; SANCHO; PASTORE, 2016; XIE; LIANG; CHEN, 2019).

Assim, os alimentos funcionais são responsáveis por auxiliar na promoção da saúde, na prevenção e tratamento de doenças, principalmente as desenvolvidas cronicamente, necessitando de ser a base da dieta diária, pois seus benefícios estão presentes apenas após um longo e sustentado período de ingestão, que estão intrinsecamente relacionados à sua composição básica: substâncias biologicamente ativas com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antibacterianas, anticarcinogênicas, estrogênicas, antialérgicas e imunomodulatórias (ALVES HENRIQUE et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2020; SANCHO; PASTORE, 2016; XIE; LIANG; CHEN, 2019).

Dentre essas substâncias biologicamente ativas, destacam-se os compostos bioativos ou fitoquímicos, os quais são elementos não nutrientes que estão entre os principais constituintes ou ingredientes dos alimentos funcionais, pois são indispensáveis para promoção da saúde, assim como para prevenção e tratamentos das DCNTs, haja vista que são os responsáveis por promover a funcionalidade nesses alimentos. Apresentam efeitos pleiotrópicos (efeito de um gene sobre mais de um fenótipo), incluindo funções antioxidantes, anti-inflamatórias, imuno-inflamatórias, hipolipidêmicas, hipoglicêmicas, citoprotetoras e neuroprotetoras (ALVES HENRIQUE et al., 2018; CUNHA et al., 2016; GIACONIA et al., 2020; RIBEIRO et al., 2019; XIE; LIANG; CHEN, 2019).

Os compostos bioativos de maior destaque, por seus efeitos benéficos à saúde humana, são os compostos fenólicos e terpenos. Encontrados, principalmente, em frutas, verduras e legumes, os quais promovem uma redução aproximada de 20% no risco do desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas quando introduzidos na alimentação habitual, decorrente, em grande parte, do seu potencial antioxidante (BANŽIĆ; BABIĆ; JOKIĆ, 2020; CUNHA et al., 2016; RIBEIRO et al., 2019; SILVA, A. O. et al., 2016; SOUSA; SOUSA, 2017).

Os compostos fenólicos, fenóis ou polifenóis são caracterizados por conter, em sua estrutura química, anel aromático com um ou mais grupos hidroxila funcionais, são hidrofílicos e quimicamente heterogêneos, com aproximadamente 10.000 compostos. São amplamente encontrados nos vegetais e mais de 500 polifenóis já foram descritos em alimentos comumente consumidos, como frutas, hortaliças e legumes (CHANDRASEKARA; SHAHIDI, 2018; GIACONIA et al., 2020; CUNHA et al., 2016; SILVA, A. O. et al., 2016; SOUSA; SOUSA, 2017).

Além disso, são os antioxidantes alimentares mais amplamente encontrados na natureza, apresentando, também, efeitos anti-inflamatórios e antimicrobianos. Nesse sentido, pesquisas sugerem que, em longo prazo, o consumo de dietas ricas em polifenóis pode contribuir na prevenção de doenças crônico-degenerativas relacionadas ao estresse oxidativo, como diabetes, osteoporose, câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (COLIZZI, 2019; GUO et al., 2020; LINDON; NICHOLSON; HOLMES, 2019; PAZZINATO; CARDOSO, 2019).

Ademais, entre as substâncias desse grupo, enfatiza-se os flavonoides, que são a maior classe de compostos fenólicos, a mais estudada e conhecida. Relacionam-se a efeitos anti-inflamatório, antiplaquetário, antitrombótico, cardioprotetor e antioxidante. Atuam na inativação de radicais livres; prevenção do acúmulo de dano oxidativo ao DNA, componentes celulares, lipídios e proteínas; inibição da resposta inflamatória, modulando a atividade de diferentes enzimas; exercem efeitos nas vias de sinalização intracelular e expressão gênica. Assim, previnem e auxiliam no tratamento de obesidade, diabetes, osteoporose, degeneração hepática e renal, cardiopatias, doenças geriátricas, entre outras (COLIZZI, 2019; PAZZINATO; CARDOSO, 2019; RIBEIRO et al., 2019).

Em relação aos terpenos, destacam-se os carotenoides ou tetraterpenos, considerados os pigmentos mais difundidos na natureza, responsáveis pelas cores amarelo, laranja e vermelho dos alimentos; apresentam característica lipofílica e atividade provitamina-A; têm ação essencial no desenvolvimento cerebral; protegem os olhos contra radiação ultravioleta, contra o declínio da força muscular em idosos e contra o estresse oxidativo. Por conseguinte, previnem o envelhecimento prematuro, reduzem o risco de degeneração macular, catarata e doenças crônicas (ALVES HENRIQUE et al., 2018; BECERRA et al., 2020; CHANDRASEKARA; SHAHIDI, 2018; GIACONIA et al., 2020; KHALID et al., 2019; PORSH; SIMAS; GRANZOTI, 2019; SANCHO; PASTORE, 2016; SILVA, A. O. et al., 2016).

Outrossim, os carotenoides podem ser classificados em dois grupos: as xantofilas, como luteína, zeaxantina, criptoxantina, astaxantina e fucoxantina, que apresentam átomos de oxigênio em sua estrutura; e carotenos, como alfa-caroteno, beta-caroteno e licopeno; os quais possuem em sua estrutura apenas hidrocarbonetos. Desses, os de maior atividade

provitamina-A são beta-caroteno, alfa-caroteno e criptoxantina. Juntamente com esses, o licopeno, luteína e zeaxantina são considerados carotenoides funcionais, pois apresentam atividade antioxidante, efeitos positivos na saúde cardiovascular, na acuidade visual e prevenção contra determinados tipos de câncer (BECERRA et al., 2020; CHANDRASEKARA; SHAHIDI, 2018; SANCHO; PASTORE, 2016).

Em decorrência do elevado poder antioxidante, o licopeno apresenta um potencial efeito na proteção contra câncer, doenças cardiovasculares, neurológicas e algumas doenças inflamatórias (MILANI et al., 2017; PRZYBYLSKA, 2019; SANCHO; PASTORE, 2016). No tocante aos benefícios cardiovasculares, estudos sugerem alguns mecanismos relacionados às ações antioxidante, anti-inflamatória, anti-aterogênica e antiplaquetária, os quais são a inibição da atividade pró-inflamatória, lesão endotelial, síntese de colesterol, oxidação de LDL, formação de células espumosas, proliferação de células musculares lisas; restauração da funcionalidade da HDL; e aumento do efluxo de colesterol (MOZOS et al., 2018; SAINI et al., 2020).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos dados apresentados nas mais diversas fontes é possível constatar que há uma estreita relação tanto negativa, quanto positiva do consumo alimentar com a manutenção saudável da vida ou a etiologia de agravos à saúde.

As escolhas de consumo dietético diário interferem em duas vertentes, ora na manutenção da saúde, quando envolvem em seu contexto o consumo de fontes bioativas, funcionais de ação preventiva e potencializadora do sistema de defesa imunológico ou na desregulação de diversos sistemas oxidativos pelas praticas alimentares equivocadas e consumos exagerados de fontes alimentares de reduzido aporte bioativos funcionais, geradores de diferentes etiologias, com destaque as DCNT'S.

Assim, infere-se nesta pesquisa que essas doenças têm fatores de risco modificáveis. Por outro lado, o consumo habitual de carboidratos complexos (grãos e leguminosas), hortaliças, legumes, frutas e oleaginosas atuam como fator um fator protetivo contra DCNTs, pois reduzem o risco do desenvolvimento de hipertensão, dislipidemia, obesidade, diabetes mellitus tipo 2, câncer e DCVs. O consumo e/ou as modificações dietéticas ricas em compostos bioativos funcionais têm função protetiva por serem excelentes fontes de fibras, vitaminas, minerais, ácidos graxos essenciais, fitonutrientes e compostos bioativos, atuando como alimentos funcionais na prevenção e redução de agravos nas DCNT'S e DCV'S.

REFERÊNCIAS

1. AFONSO, C. B.; SPICKETT, C. M. Lipoproteins as targets and markers of lipoxidation. **Redox Biology**, v. 23, n. 101066, [16] p., 2019. Disponível em: 10.1016/j.redox.2018.101066. Acesso em: 21 mar. 2020.

2. AIRES, I. O.; SOUSA, L. L. C.; SOUSA, D. J. M.; ARAÚJO, D. S. C.; OLIVEIRA, I. K. F.; ALENCAR, M. S. S. Consumo alimentar, estilo de vida e sua influência no processo de envelhecimento. **Research, Society and Development**, v. 8, n. 11, p. 1-19, 2019. Disponível em: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v8i11.1437. Acesso em: 22 jan. 2020.

3. ALVES HENRIQUE, V.; NUNES, C. R.; AZEVEDO, F. T.; PEREIRA, S. M. F.; BARBOSA, J. B.; TALMA, S. V. **Alimentos funcionais**: aspectos nutricionais na qualidade de vida. Aracaju: EdIFS, 2018, 57 p. il. Disponível em: https://repositorio.ifs.edu.br/biblioteca/handle/123456789/852. Acesso em: 11 jan. 2020.

4. BANOŽIĆ, M.; BABIĆ, J.; JOKIĆ, S. Recent advances in extraction of bioactive compounds from tobacco industrial waste – a review. **Industrial Crops & Products**, v. 144, n. 112009, [11] p., 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112009. Acesso em: 13 maio 2020.

5. BECERRA, M. O.; CONTERAS, L. M.; LO, M. H.; DÍAZ, J. M; HERRERA, G. C. Lutein as a functional food ingredient: stability and bioavailability. **Journal of Functional Foods**, v. 66, n. 103771, [12] p., 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103771. Acesso em: 20 abr. 2020.

6. BRASIL. DATASUS. Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM). Painel de Monitoramento da Mortalidade Prematura (30 a 69 anos) por DCNT. Maio de 2020. Disponível em: http://svs.aids.gov.br/dantps/centrais-de-conteudos/paineis-de-monitoramento/mortalidade/dcnt/. Acesso em: 26 maio 2020.

7. BRASIL. DATASUS. Secretaria de Vigilância em Saúde. Análise de Saúde e Vigilância de Doenças não Transmissíveis. Painéis Saúde Brasil: mortalidade geral – Causas de óbito. Estimativas de mortalidade do estudo “Global Burden of Desease Study 2016 (GBD 2016)”. 2016. Disponível em: http://svs.aids.gov.br/dantps/centrais-de-conteudos/paineis-de-monitoramento/saude-brasil/mortalidade-geral/. Acesso em: 26 maio 2020.

8. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Alimentos regionais brasileiros**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 484 p. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/alimentos_regionais_brasileiros_2ed.pdf. Acesso em: 29 nov. 2019.

9. CANUTO, R.; FANTON, M.; LIRA, P. I. C. Iniquidades sociais no consumo alimentar no Brasil: uma revisão crítica dos inquéritos nacionais. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 24, n. 9, p. 3193-3212, 2019. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/1413-81232018249.26202017. Acesso em: 20 jan. 2020.

10. CARAPETO, C.; MONTANARI, F.; PINELA, L. M. Alimentação e aterosclerose: um artigo informativo. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 2 (sup. 2), n. 69, p. 755-763, 2017. Disponível em: http://www.rbone.com.br/index.php/rbone/article/view/633. Acesso em: 10 fev. 2020.

11. CATAPANO, A. L.; BARRIOS, V.; CICERO, A. F. G.; PIRRO, M. Lifestyle interventions and nutraceuticals: guideline-based a cardiovascular disease prevention. **Atherosclerosis: X**, v. 1, N. 100003, p. 1-5, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.athx.2019.100003. Acesso em: 11 mar. 2020.

12. CHANDRASEKARA, A.; SHAHIDI, F. Herbal beverages: bioactive compounds and their role in disease risk reduction – a review. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v.8, n.4, p. 451-458, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.08.006. Acesso em: 18 maio 2020.

13. COLIZZI, C. The protective effects of polyphenols on Alzheimer's disease: a systematic review. **Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions**, v. 5, p. 184-196, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.trci.2018.09.002. Acesso em: 18 maio 2020.

14. CONFORTIN, S. C.; ANDRADE, S. R.; DRAEGE, V. M.; MENEGHINI, V.; SCHNEIDER, I. J. C.; BARBOSA, A. R. Mortalidade prematura pelas principais doenças crônicas não transmissíveis nos estados do Brasil. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 72, n.6, p. 1588-1594, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1590/0034-7167-2018-0701. Acesso em: 20 jan. 2020.

15. CUNHA, A. L.; MOURA, K. S.; BARBOSA, J. C.; SANTOS, A. F. Fundamentos químicos da ação dos radicais no organismo. **Diversitas Journal**, v. 1, n. 1, p. 08-13, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v1i1.450. Acesso em: 22 abr. 2020.

16. ECHEVERRIA, C.; ELTIT, F.; SANTIBANEZ, J. F.; GATICA, S.; CABELLO-VERRUGIO, C.; SIMON, F. Endothelial dysfunction in pregnancy metabolic disorders. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1866, n. 2, p. 398-406, 2020. Disponível em: 10.1016/j.bbadis.2019.02.009. Acesso em: 20 maio. 2020.

17. FERREIRA, R. C.; BARBOSA, L. B.; VASCONCELOS, S. M. L. Estudos de avaliação do consumo alimentar segundo método dos escores: uma revisão sistemática. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 24, n. 5, p. 1777-1792, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1413-81232018245.12362017. Acesso em: 14 dez. 2019.

18. GIACONIA, M. A.; RAMOS, S. P.; PEREIRA, C. F.; LEMES, A. C.; DE ROSSO, V. V.; BRAGA, R. C. Overcoming restrictions of bioactive compounds biological effects in food using nanometer-size structures. **Food Hydrocolloids**, v. 107, n. 105939, 49 p., 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105939. Acesso em: 01 abr. 2020.

19. GIANAZZA, E.; BRIOSCHI, M.; FERNANDEZ, A. M.; BANFI, C. Lipoxidation in cardiovascular diseases. **Redox Biology**, v. 23, n. 101119, p. 1-22, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101119. Acesso em: 16 mar. 2020.

20. GUO, Y.; ZHANG, P.; LIU, Y.; ZHA, L.; LING, W.; GUO, H. A dose-response evaluation of purified anthocyanins on inflammatory and oxidative biomarkers and metabolic risk factors in healthy young adults: A randomized controlled trial. **Nutrition**, v. 74, n. 110745, [22] p., 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.110745. Acesso em: 03 maio 2020.

21. HAINES, J.; HAYCRAFT, E.; LYTLE, L.; NIKLAUS, S.; KOK, F. J.; MERDJI, M.; FISBERG, M.; MORENO, L. A.; GOULET, O.; HUGHES, S. O. Nurturing children's healthy eating: position statement. **Appetite**, v. 137, p. 124-133, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.appet.2019.02.007. Acesso em: 08 abr. 2020.

22. KAJAL, A.; KISHORE, L.; KAUR, N.; GOLLEN, R.; SINGH, R. Therapeutic agents for the management of atherosclerosis from herbal sources. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, n. 2, p. 156-169, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2016.02.004. Acesso em: 23 mar. 2020.

23. KHAKPOURI, S.; SAFARI, M.; GHAZIZADEH, H.; PARIZADEH, S. M. R.; NEMATY, M.; TAYEFI, M.; FERNS, G. A.; SABERI-KARIMIAN, M. The relationship between the healthy eating index and an alternate healthy eating index with the risk factors for cardiovascular disease in a population from northeastern Iran. **Translational Metabolic Syndrome Research**, v. 2, n. 1, p. 1-6, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.tmsr.2019.05.001. Acesso em: 21 mar. 2020.

24. KHALID, M.; SAEED-UR-RAHMAN; BILAL, M.; IQBAL, H. M. N.; HUANG, D. Biosynthesis and biomedical perspectives of carotenoids with special reference to human health-related applications. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, V. 17, p. 399-407, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.027. Acesso em: 12 abr. 2020.

25. LINDON, J. C.; NICHOLSON, J. K.; HOLMES, E. **The Handbook of Metabolic Phenotyping**. Elsevier, 2019, 619 p. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/book/9780128122938/the-handbook-of-metabolic-phenotyping. Acesso em: 19 maio 2020.

26. MALTA, D. C.; ANDRADE, S. S. C. A.; OLIVEIRA, T. P.; MOURA, L.; PRADO, R. R.; SOUZA, M. F. M. Probabilidade de morte prematura por doenças crônicas não transmissíveis, Brasil e regiões, projeções para 2025. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.22, p. 1-13, 2019. Disponívem em: https://doi.org/10.1590/1980-549720190030. Acesso em: 20 jan. 2020.

27. MILANI, A.; BASIRNEJAD, M.; SHAHBAZI, S.; BOLHASSANI, A. Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 11, p. 1290–1324, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1111/bph.13625. Acesso em: 14 abr. 2020.

28. MOZOS, I.; STOIAN, D.; CARABA, A.; MALAINER, C.; HORBAŃCZUK, J. O.; ATANASOU, A. G. Lycopene and vascular health. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, n. 521, 16 p., 2018. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00521. Acesso em: 27 mar. 2020.

29. OLIVEIRA, C. B. C.; BRITO, L. A.; FREITAS, M. A.; SOUZA, M. P. A.; RÊGO, J. M. C.; MACHADO, R. J. A. Obesidade: inflamação e compostos bioativos. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 8, n. 1, p. 1-5, 2020. Disponível em: http://dx.doi.org/10.12662/2317-3076jhbs.v8i1.2785.p1-5.2020. Acesso em: 16 abr. 2020.

30. PALLAZOLA, V. A.; DAVIS, D. M.; WHELTON, S. P.; CARDOSO, R.; LATINA, J. M.; MICHOS, E. D.; SARKAR, S.; BLUMENTHAL, R. S.; AMETT, D. K.; STONE, N. J.; WELTY, F. K. A clinician's guide to healthy eating for cardiovascular disease prevention. **MAYO CLINIC PROCEEDINGS: INNOVATIONS, QUALITY & OUTCOMES**, v.3, n.3, p. 251-267, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.mayocpiqo.2019.05.001. Acesso em: 11 abr. 2020.

31. PAZZINATO, K.; CARDOSO, C. K. S. Efeitos dos flavonoides do cacau na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares: uma revisão de literatura. **Revista de Ciências Médicas**, v. 28, n. 2, p. 85-98, 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.24220%2F2318-0897v28n2a4457. Acesso em: 22 mar. 2020.

32. PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants chemistry of oxidative stress: a review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55-74, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040. Acesso em: 10 mar. 2020.

33. PORSCH, L.; SIMAS, L. A. W.; GRANZOTI, R. O. C. Estresse oxidativo e o seu impacto no envelhecimento: uma revisão bibliográfica. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 2, n.2, p. 80-85, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.31415/bjns.v2i2.53. Acesso em: 03 mar. 2020.

34. PRZYBYLSKA, S. Lycopene – a biactive carotenoid offering multiple health benefits: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 11-32, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1111/ijfs.14260. Acesso em: 24 mar. 2020.

35. RIBEIRO, V. R.; FERNANDES, I. A. A.; MARI, I. P.; STAFUSSA, A. P.; ROSSETO, R.; MACIEL, G. M.; HAMINIUK, C. W. I. Bringing together *Saccharomyces cerevisiae* and bioactive compounds from plants: A new function for well-know biosorbent. **Journal of Functional Foods**, v. 60, n. 103433, 9 p., 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.1016%-2Fj.jff.2019.103433. Acesso em: 05 mar. 2020.

36. SANCHES-SILVA, A.; TESTAI, L.; NABAVI, S. F.; BATTINO, M.; DEVI, K. P.; TEJADA, S.; SUREDA, A.; XU, S.; YOUSEFI, B.; MAJIDINIA, M.; LUIGI RUSSO, G.; EFFERTH, T.; NABAVI, S. M.; FARZAEI, M. H. Therapeutic potential of polyphenols in cardiovascular diseases: regulation of mTOR signaling pathway. **Pharmacological Research**, v. 152, n. 104626, 49 p., 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104626. Acesso em: 07 abr. 2020.

37. SANCHO, R. A. S.; PASTORE, G. M. Alimentos funcionais: a revolução silenciosa na alimentação. **Revista Processos Químicos**, v. 10, n. 9, p. 13-24, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.19142/rpq.v10i19.343. Acesso em: 17 mar. 2020.

38. SAINI, R. K.; RENGASAMY, K. R. R.; MAHOMOODALLY, F. M.; KEUM, Y. Protective effects of lycopene in cancer, cardiovascular, and neurodegenerative diseases: An update on epidemiological and mechanistic perspectives. **Pharmacological Research**, v. 155, n. 104730, 70 p., 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104730. Acesso em: 23 mar. 2020.

39. SILVA, A. C. C.; SILVA, N. A.; PEREIRA, M. C. S.; VASSIMON, H. S. Alimentos contendo ingredientes funcionais em sua formulação: revisão de artigos publicados em revistas brasileiras. **Revista Conexão Ciência**, v. 11, n. 2, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.24862/cco.v11i2.429. Acesso em: 17 mar. 2020.

40. SILVA, A. O.; SAMPAIO, F. A.; QUEIROZ, I. P. C. S.; CONCEIÇÃO, K. N.; SILVA, V. F. Antioxidant power of carotenoids, flavonoids and vitamin E in preventing arteriosclerosis. **Revista Online Facema**, v. 2, n. 4, p. 320-324, 2016. Disponível em: http://www.facema.edu.br/ojs/index.php/ReOnFacema/article/view/162/71. Acesso em: 20 mar. 2020.

41. SITI, H. N.; YUSOF, K.; KAMSIAH, J. The role of oxidative stress, antioxidants, and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). **Vascular Pharmacology**, v. 71, p. 40-56, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.vph.2015.03.005. Acesso em: 14 mar. 2020.

42. SOUSA, R. F.; SOUSA, J. A. Metabólitos secundários associados a estresse hídrico e suas funções nos tecidos vegetais. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2017. Disponível em: https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RBGA/article/view/5008. Acesso em: 13 mar. 2020.

43. WHO. World Health Organization. Noncommunicable diseases: Key facts. 2018. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases. Acesso em: 29 de fevereiro de 2020.

44. WHO. World Health Organization. Ten threats to global health in 2019. 2019. Disponível em: https://www.who.int/emergencies/ten-threats-to-global-health-in-2019. Acesso em: 01 mar 2020.

45. XIE, J.; LIANG, J.; CHEN, N. Autophagy-associated signal pathways of functional foods for chronic diseases. **Food Science and Human Wellness**, v.8, p. 25-33, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.03.002. Acesso em: 15 fev. 2020.

18

Inovações e tendências na utilização do fruto de buriti (*Mauritia Flexuosa* L.) e seus subprodutos

- Callebe **Camelo-Silva**
  UFSC
- Eulália Lopes da Silva **Barros**
  UFSC
- Marcio Augusto Ribeiro **Sanches**
  UNESP
- Noádia Genuario **Barroso**
  Unicamp
- Silvani **Verruck**
  UFSC
- Loyse **Tussolini**
  UFMT

doi 10.37885/201102159

RESUMO

O buriti, também conhecido como miriti é uma palmeira encontrada em vários países da América Latina, inclusive no Brasil. No Brasil, essa palmeira é nativa nos biomas cerrado e amazônico, a qual apresenta várias aplicabilidades nas comunidades regionais, com maior destaque na culinária. A composição físico-química da polpa do fruto é rica em ácido oleico, ácido palmítico e vitaminas A, B, C e E. Em virtude da presença de substâncias bioativas em sua composição, pesquisadores tem dado uma maior atenção para esse fruto, desenvolvendo trabalhos nas áreas médica, farmacêutica, química, alimentos e veterinária. Vale enfatizar, que já se encontra na literatura trabalhos que utilizaram o óleo de buriti no tratamento para o combate do agente causador de Covid-19. Desta forma, este capítulo de revisão descreve sobre os aspectos gerais do buriti (*Mauritia flexuosa* L.) como, definição, distribuição geográfica, características físicas e químicas, e as principais utilizações no âmbito regional. Além disso, é abordado sobre as inovações e tendências no uso dessa fruta nos últimos anos.

Palavras-chave: Superfruta, Fruta Nativa, Covid-19, Alimento Funcional.

INTRODUÇÃO

As frutas tropicais brasileiras representam um grande mercado potencial que vem crescendo em um ritmo considerável e a cada dia novos mercados são conquistados. A atração por essas frutas é devido a sua aparência e o sabor exótico que as detêm. Dentre esse grupo, destaca-se o buritizeiro, botanicamente classificado como *Mauritia flexuosa* L. (CÂNDIDO; SILVA; AGOSTINI-COSTA, 2015). Segundo Souza (2008), o buriti possui um grande potencial de comercialização e, no entanto, é pouco explorado em nosso país. Todavia, o interesse econômico por esse fruto vem sendo despertado, em virtude das possibilidades de utilização do fruto desde a culinária até a área médica.

O buriti é considerado a palmeira mais abundante no Brasil, com ampla distribuição no bioma amazônico e cerrado. O fruto é revestido por uma fina camada de polpa amarela, consumida na forma de sucos, doces, sorvetes, picolés, geleias e vinhos (PEZOTI *et al.,* 2014; RESENDE *et al.,* 2019; RUDKE *et al.,* 2019). A polpa do fruto é conhecida por ser rica em carotenoides, vitaminas, ácidos graxos insaturados e fibras (CÂNDIDO *et al.,* 2015; MILANEZ *et al.,* 2018; CRUZ *et al.,* 2020). Devido a essas particularidades, pesquisadores tem estudado a possibilidade de utilização do fruto em outros estudos, muitas vezes relacionados à capacidade antioxidante da polpa de buriti (SCHIASSI *et al.,* 2018; MILANEZ *et al.,* 2018) como por exemplo o efeito antimicrobiano contra a *Escherichia Coli* (CRUZ *et al.,* 2020), atividade antimicrobiana (NOBRE *et al.,* 2018), atividade biológica tônica, atividade anti-helmíntica e cicatrizante (NERI-NUMA *et al.,* 2018) e aplicações cosméticas (FORERO-DORIA *et al.,* 2016).

Tendo em vista os relevantes estudos com a utilização do buriti, este capítulo de revisão tem como objetivo discutir sobre os principais aspectos gerais do buriti, incluindo suas características botânicas, aplicações regionais e propriedades físico-químicas. Além disso, objetiva abordar as inovações e tendências sobre a utilização do fruto e seus subprodutos.

BURITI (MA*URITIA FLEXUOSA L.*): CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS, APLICAÇÕES REGIONAIS E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Dentre as várias palmeiras nativas com potencialidade econômica, destaca-se na América Latina, o buriti, não só por ser a mais alta, mas pela sua grande utilidade. Seu nome é derivado do tupi-guarani e significa “o que contém água”, daí um de seus nomes populares ser palmeira-dos-brejos (CARNEIRO; CARNEIRO, 2011). Está inclusa no pequeno grupo de palmeiras chamadas de “árvores da vida”, das quais tudo se aproveita (TAVARES *et al*., 2003).

O buritizeiro (*Mauritia flexuosa* L.) é uma palmeira nativa da região amazônica e do cerrado, e pode ser encontrada no Brasil, Colômbia, Peru, Equador, Bolívia, Venezuela e Guianas. No Brasil está presente nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste (EMBRAPA, 2005). A palmeira pertence à família *Arecaceae*, de tronco reto e cilíndrico, a qual pode alcançar até 35 m de altura, conforme mostrado na Figura 1. O seu fruto é denominado buriti ou miriti, coberto por uma polpa amarelada que recobre uma amêndoa comestível. A época de frutificação varia de uma região para outra, mas geralmente ocorre entre os meses de dezembro a junho (PEZOTI *et al.,* 2014; RESENDE; FRANÇA; OLIVEIRA, 2019; CÂNDIDO; SILVA; AGOSTINI-COSTA, 2015).

Figura 1. Buritizeiro da região do cerrado brasileiro.

Fonte: Os autores.

A palmeira ainda apresenta inflorescências interfoliares grandes, com 2 a 3 m de comprimento, sendo as masculinas e as femininas com aparência semelhante (PROENÇA; OLIVEIRA; SILVA, 2006). Conforme Cymerys, Fernandes e Rigamonte-Azevedo (2005) o buriti é uma espécie dioica, sendo que os indivíduos masculinos e femininos florescem nos mesmos meses, porém os masculinos nunca produzem frutos.

Um fruto de buriti (Figura 2) contém aproximadamente 9 g de polpa fresca, 12 g de escamas, 21 g de amêndoas e 10 g de endocarpo. Estima-se que a palmeira feminina do buriti produza de 1 a 9 cachos e cada cacho pode conter de 600 a 1200 frutos (CYMERES; FERNANDES; RIGAMONTE-AZEVEDO, 2005).

Figura 2. (a) Fruto do buriti (*Mauritia flexuosa* L.) e **(b)** cacho do fruto de buriti (*Mauritia flexuosa* L.).

(a) **(b)**

Fonte: Adaptado de LABCONSS (2020).

Como foi relatado anteriormente, a palmeira do buriti é conhecida como a "árvore da vida", em que tudo se aproveita. Sendo assim, existem várias funções associadas a cada elemento do buriti, o que o torna uma fonte de utilidades em diferentes áreas específicas, desde a médica até a ornamental, e além disso, possui grande participação na culinária regional. Na Tabela 1, está descrito algumas utilizações da palmeira.

Tabela 1. Utilização do buriti.

Elemento da planta	Utilização
Palha	Cobertura de telhado, artesanatos, vassouras e paredes
Fruto	Doces, sucos e vinhos
Óleo	Hidratante para a pele e biodiesel
Estipe	Produção de açúcar a partir da seiva de seu interior
Tronco	Construções, adubo e vinho não fermentado
Semente	Artesanato, café e ração para animais
Seda	Fio de costura, tecidos, redes e artesanatos
Embira	Esteira, tapete e artesanatos
Raízes	Tratamento do reumatismo e fonte de água
Fibra	Artesanato e uso em compósitos

Fonte: SALGADO, BETIM e PACIORNIK **(**2014)

O consumo da polpa do buriti pode ocorrer de diferentes formas, tanto em sua forma *in natura* como processada. Na culinária brasileira, é utilizada em sucos, geleias, sorvetes, picolés, cremes e doces. Desse fruto também é extraído um óleo comestível (composto basicamente de tocoferol, carotenoides (β-caroteno), ácido graxos com predominância do oleico e palmítico e antioxidantes), e têm-se, ainda, as raspas de buriti (obtidas a partir da secagem solar da polpa raspada do fruto) e a paçoca de buriti, quando se misturam, às raspas, com um pouco de farinha de mandioca e de rapadura. Dessa forma, o consumo desse

fruto, bem como de seus derivados, pode aumentar a biodisponibilidade de vários nutrientes à população, elevando a qualidade de vida do indivíduo (SOUSA *et al*., 2010).

Além disso, o fruto do buriti é rico em vitamina A, B, C e E, fibras, proteínas e minerais como o cálcio conforme mostrado na Tabela 2. O óleo extraído da polpa do fruto é rico em carotenoides (precursor da vitamina A) e tocoferóis que protegem a pele dos efeitos nocivos da radiação ultravioleta, potencializando assim o fator de proteção solar (FPS) em protetores solares. A polpa ainda contém ácidos graxos que podem auxiliar na regeneração dos lipídeos da camada córnea, reestruturando a camada lipídica protetora, deixando a pele mais hidratada e com aspecto saudável (MILANEZ *et al.,* 2018; CRUZ *et al.,* 2020).

Tabela 2. Composição físico-química da polpa de buriti (*Mauritia flexuosa* L.).

Polpa de buriti	
Energia (kcal/100g)	145,00
Proteína (g/100g)	1,80
Lipídeo (g/100g)	8,10
Carboidrato (g/100g)	10,20
Fibra (g/100g)	9,60
Cálcio (mg/100g)	156,00
Fósforo (mg/100g)	54,00
Ferro (mg/100g)	5,00
Retinol (µg/100g)	4104,00
Vitamina B1 (mg/100g)	0,03
Vitamina B2 (mg/100g)	0,23
Niacina B3 (mg/100g)	0,70
Vitamina C (mg/100g)	26,00

Fonte: Ministério da Saúde/Brasil, 2012.

INOVAÇÕES E TENDÊNCIAS

Tendo em vista a relevante composição do fruto de buriti e suas possíveis aplicações, pesquisadores tem estudado a possibilidade de utilização do fruto e seus subprodutos em alguns estudos. No Quadro 1, é apresentado alguns estudos recentes sobre a utilização do buriti, bem como os principais resultados encontrados nesses por estes pesquisadores.

Quadro 1. Inovações e tendências com o uso do buriti e seus subprodutos.

Objetivo	Resultados	Referência
Investigar o efeito do óleo de buriti sobre o vírus SARS-Coronavírus	As análises de interações de Docking Molecular e Dinâmica Molecular revelaram que os compostos 13-cis-β-caroteno, 9-cis-β-caroteno e α-caroteno exibiram interações favoráveis contra a 2GTB peptidase, e que essas moléculas são candidatas promissoras para o planejamento de novos medicamentos para combater o Covid-19	COSTA *et al.* (2020)
Estudar o efeito do gel de quitosana com o óleo de buriti como agente cicatrizante	O gel compósito de quitosana e óleo de buriti promoveu uma retração mais rápida e completa cicatrização da lesão cutânea	FERREIRA *et al.* (2020)
Investigar o efeito antidiabético do óleo de buriti	Em baixas concentrações (15 a 30 mg/mL), o óleo de buriti, promoveu a inibição da atividade da α-amilase, indicando o seu efeito antidiabético	OLIVEIRA *et al.* (2020)
Avaliar o efeito imunomodulador do óleo de buriti sobre a *Escherichia coli* enteropatogência	O alto teor de ácidos graxos e a elevada capacidade antioxidante do óleo de buriti, proporcionaram propriedade bactericida sobre a cepa de *Escherichia coli*	CRUZ *et al.* (2020)
Avaliar o efeito da adição de óleo de buriti na dieta de cordeiros	Aumento da gordura intramuscular e dos ácidos graxos na gordura subcutânea	PARENTE *et al*. (2020)
Estudar o efeito fotoprotetor de nanoemulsões contendo o óleo de buriti	Formulações contendo o óleo de buriti foram mais estáveis, e exibiriam maior fotoproteção	MANSUR *et al.* (2020)
Investigar o efeito anti-inflamatório intestinal da farinha da polpa de buriti	A farinha de buriti obteve maior efeito anti-inflamatório que o cupuaçu e o açaí	CURIMBABA *et al.* (2020)
Avaliar as propriedades tecnológicas da farinha do buriti	A farinha de buriti apresentou alto teor de fibras, carotenoides, compostos fenólicos e elevada capacidade antioxidante	RESENDE *et al.* (2019)
Estudar o efeito antimicrobiano do óleo de buriti sobre as cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 12692, *Staphylococcus aureus* Sa 358, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Escherichia coli* Ec 27	Os altos teores de ácido oleico e ácidos graxos livres exibiram propriedades antimicrobianas sobre as cepas testadas	NOBRE *et al.* (2018)
Investigar o uso de óleo de buriti na produção de biodiesel	A partir dos resultados das propriedades físico-químicas, foi constatado que óleo de buriti atende às especificações RANP 45/14, ASTM D6751 e EN 14214, e além disso demonstrou ser uma fonte alternativa potencial para a produção de biodiesel	LIMA *et al.* (2017)
Avaliar o uso de buriti para a produção de carvão ativado	O pecíolo da palmeira do buriti demonstrou ser uma fonte renovável para a produção de carvão ativado	ANDRADE *et al.* (2015)
Avaliar os parâmetros bioquímicos em ratos alimentados com dietas suplementadas com óleo de buriti bruto e refinado	A suplementação com óleo de buriti refinado apresentou redução do colesterol total (até 60,27%), LDL (64,75%), triglicerídeos (55,47%) e a enzima aspartato transaminase (21,57%)	AQUINO *et al.* (2015)

Fonte: Os autores.

Ao observar o Quadro 1, percebe-se que o buriti tem sido utilizado em diferentes estudos, com o objetivo de encontrar soluções e alternativas para as questões emergentes. O buriti e

seus subprodutos tem mostrado resultados promissores no combate do causador da covid-19, tratamento de diabetes e colesterol, cicatrizante, agente fotoprotetor e anti-inflamatório, produção de biodiesel e carvão ativado, e além disso, mostrou ser um agente bactericida sobre algumas bactérias patogênicas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A palmeira do buriti possui uma ampla distribuição em várias regiões da América do Sul, e com várias utilizações no âmbito regional. Devido a sua composição físico-química, o buriti e seus subprodutos tem se tornado uma fonte de estudos em diferentes áreas, com resultados muito promissores e com vistas à expansão da sua utilização como alimento com potencial funcional.

REFERÊNCIAS

1. ANDRADE, R. C. *et al.* Buriti palm stem as a potential renewable source for activated carbon production. **Environmental Technology and Innovation**, v. 3, p. 28-34, 2015. DOI: 10.1016/j.eti.2015.02.002

2. AQUINO, J. *et al*. Effects of dietary brazilian palm oil (*Mauritia flexuosa* L.) on Cholesterol profile and Vitamin A and e status of rats. **Molecules**, v. 20, p. 9054-9070, 2015. DOI: 10.3390/molecules20059054

3. CÂNDIDO, T. L. N.; SILVA, M. R.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food Chemistry**, v. 177, p. 313-319, 2015. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.01.041

4. CARNEIRO, T. B.; CARNEIRO, J. G. M. Frutos e polpa desidratada buriti (*Mauritia flexuosa* L.): aspectos físicos, químicos e tecnológicos. **Revista Verde**, v. 6, p. 105-111, 2011.

5. COSTA, A. N. *et al*. Constituents of buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.) like inhibitors of the SARS--Coronavirus main peptidase: an investigation by docking and molecular dynamics. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, p. 1-8, 2020. DOI: 10.1080/07391102.2020.1778538

6. CRUZ, M. B. *et al.* Buriti (*Mauritia Flexuosa* L.) pulp oil as an immunomodulator against enteropathogenic *Escherichia coli*. **Industrial Crops and Products**, v. 149, p. 112330, 2020. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112330

7. CURIMBABA, T. F. S. *et al.* Prebiotic, antioxidant and anti-inflammatory properties of edible Amazon fruits. **Food Bioscience**, v. 36, p. 100599, 2020. DOI: 10.1016/j.fbio.2020.100599

8. CYMERYS, M.; FERNANDES, N. M. P.; RIGAMONTE-AZEVEDO. **Buriti: *Maurita flexuosa*.** In: SHANLEY, P. e MEDINA, G. Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica. Centro para Pesquisa Florestal Internacional (CIFOR) e Instituto Homem e Meio Ambiente da Amazônia (IMAZON), Belém 300 p, 2005. Disponível em: <http://www.cifor.org/publications/pdf_files/Books/BShanley0501.pdf>. Acesso em 20 de out. 2020.

9. EMBRAPA. **Buriti (*Mauritia flexuosa* L.).** Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia. Porto Velho, 2005. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/24785/1/folder-buriti.pdf>. Acesso em 20 de out. 2020.

10. FERREIRA, M. O. G. *et al.* Biocompatible gels of chitosan-buriti oil for potential wound healing applications. **Materials**, v. 13, p. 1-17, 2020. DOI: 10.3390/MA13081977

11. FORERO-DORIA, O. *et al.* Relationship between oxidative stability and antioxidant activity of oil extracted from the peel of *Mauritia flexuosa* fruits. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 123, p. 2173-2178, 2016. DOI: 10.1007/s10973-015-4822-7

12. LABCONSS. **Buriti um fruto em potencial de proteção à saúde**. Bromatologia em saúde, Rio de Janeiro. Disponível em: <http://bromatopesquisas-ufrj.blogspot.com.br/2012/04/buriti--um-fruto-em-potencial.html>. Acesso em: 19 de out. 2020.

13. LIMA, R. *et al.* Murumuru (*Astrocaryum murumuru* Mart.) butter and oils of buriti (*Mauritia flexuosa* Mart.) and pracaxi (*Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze) can be used for biodiesel production: Physico-chemical properties and thermal and kinetic studies. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 536-544, 2017. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.12.052

14. MANSUR, M. C. P. P. R. *et al.* Photoprotective nanoemulsions containing microbial carotenoids and buriti oil: Efficacy and safety study. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, p. 6741-6752, 2020. DOI: 10.1016/j.arabjc.2020.06.028

15. MILANEZ, J. T. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant activity of buriti fruits, during the postharvest, harvested at different ripening stages. **Scientia Horticulturae**, v. 227, p. 10-21, 2018. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.08.045

16. NERI-NUMA, I. A. *et al.* Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, v. 103, p. 345-360, 2018. DOI: 10.1016/j.foodres.2017.10.053

17. NOBRE, C. B. *et al.* Chemical composition and antibacterial activity of fixed oils of *Mauritia flexuosa* and *Orbignya speciosa* associated with aminoglycosides. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 23, p. 84-89, 2018. DOI: 10.1016/j.eujim.2018.09.009

18. OLIVEIRA, R. M. M. *et al.* Buriti oil: Nutritional quality index and antioxidant and antidiabetic effect. **Revista Virtual de Quimica**, v. 12, p. 2-12, 2020. DOI: 10.21577/1984-6835.20200002

19. PARENTE, M. O. M. *et al.* Effects of the dietary inclusion of babassu oil or buriti oil on lamb performance, meat quality and fatty acid composition. **Meat Science**, v. 160, p. 107971, 2020. DOI: 10.1016/j.meatsci.2019.107971

20. PEZOTI, O. *et al.* Adsorption studies of methylene blue onto ZnCl2-activated carbon produced from buriti shells (*Mauritia flexuosa* L.). **Journal of industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, p. 4401-4407. DOI: 10.1016/j.jiec.2014.02.007

21. PROENÇA, C. C.; OLIVEIRA, R. S.; SILVA, A. P. **Flores e frutos do Cerrado**. 2. ed. Brasília, DF: Rede de Sementes do Cerrado, 2006.

22. RESENDE, L. M., FRANCA, A. S., OLIVEIRA, L. S. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) fruit by-products flours: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants. **Food Chemistry**, v. 270, p. 53-60, 2019. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.07.079

23. RUDKE, A. R. *et al.* Optimization of green PLE method applied for the recovery of antioxidant compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L.) shell. **Food Chemistry**, v. 298, p. 125061, 2019. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125061

24. SALGADO, I. P.; BETIM, F.; PACIORNIK, S. **Caracterização do Buriti**. Rio de Janeiro: PUC, 2014. Relatório do programa institucional de bolsas de iniciação à docência. Disponível em: <https://docplayer.com.br/13034645-Caracterizacao-do-buriti.html>. Acessao em: 22 de out. 2020.

25. SCHIASSI, M. C. E. V. *et al.* Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. **Food Chemistry**, v. 245, p. 305-311, 2018. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.10.104

26. SOUZA, D. **Estudo das propriedades físicas de polpas e néctares de pequenos frutos.** 2008. 171 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2008.

27. SOUSA, P. B. *et al.* **Fenólicos totais, carotenóides e capacidade antioxidante de raspas de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) *in natura* comercializadas em Teresina-Piauí.** Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí. Teresina, 2010. Disponível em: <http://congressos.ifal.edu.br/index.php/connepi/CONNEPI2010/paper/viewFile/1537/41>. Acesso em: 20 de out. 2020.

28. TAVARES, M. *et al.* Composição química e estudo anatômico dos frutos de buriti do Município de Buritizal. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 62, p. 227-232, 2003.

19

Kefir: quais os benefícios na saúde humana do probiótico mais antigo já descoberto?

- Diego Lisboa **Rios**
  UFMG
- Silvia de Siqueira **Costa**
  UNIFENAS
- Thiago Araújo **Andrade**
  UFMG
- Paula Margarita Salazar **Torres**
  UFSJ
- Lucas Roberto da **Silva**
  UFSJ
- Pedro Gontijo **Carneiro**
  UFMG
- Cássio Siqueira Souza **Cassiano**
  UFSJ
- Welington Ribeiro Aquino **Marques**
  UFOP
- João Batista **Matos Júnior**
  IFAC
- Fabyola Antunes Gonçalves **Souza**
  UFOP

doi 10.37885/201001939

RESUMO

Objetivo: Comparar e concatenar o estado da arte sobre a composição microbiana do kefir e como esta desempenha um papel nos benefícios para a saúde humana associados ao consumo do kefir. **Resultados:** O kefir é um produto lácteo fermentado complexo criado por meio da fermentação simbiótica do leite por bactérias do ácido láctico e leveduras contidas em uma matriz complexa de exopolissacarídeo e proteína denominado Grão de kefir. Como outros produtos lácteos fermentados, o kefir foi associado a uma série de benefícios para a saúde, como metabolismo do colesterol e inibição da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA), atividade antimicrobiana, supressão de tumor, aumento da velocidade de cicatrização de feridas e modulação do sistema imunológico, incluindo ainda o alívio de alergias e asma. **Considerações finais:** Ao revisar estes estudos com ênfase na composição microbiana e nos benefícios comprovados associados à saúde indicamos o latente interesse pelo kefir como foco de pesquisa e como um produto de excelente potencial probiótico.

Palavras-chave: Kefir, Probiótico, Saúde Humana, Bactérias Ácido Láticas, Leveduras.

INTRODUÇÃO

Os produtos lácteos fermentados são há muito tempo associados à capacidade de conferir benefícios à saúde daqueles que os consomem regularmente. Foi a pesquisadora Ellie Metchnikoff quem teorizou pela primeira vez o impacto desses produtos na microbiota bacteriana do intestino (Metchnikoff, 1908). De fato, muitos alimentos que contêm probióticos normalmente são ingeridos através de produtos lácteos fermentados consumidos por centenas de anos, como iogurte, koumiss e kefir (Correa Franco et al., 2013). Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO)/Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002). Alimentos probióticos devem ser consumidos com quantidade de microrganismos suficientes para passar com segurança ao trato gastrointestinal, podendo também vir na forma de suplementos, como pílulas.

Existem vestígios do consumo de leite fermentado por kefir no Oriente Médio, desde antes da era Fenícia (3000 a.C.). Embora não seja tão popular como outros produtos lácteos fermentados, como iogurte e queijo, o kefir foi originalmente consumido por comunidades nas montanhas do Cáucaso e associado à benefícios à saúde por centenas de anos. A bebida em si normalmente tem uma textura levemente viscosa com sabor ácido, baixos níveis de álcool e, em alguns casos, leve carbonatação. Tradicionalmente, o kefir é feito com leite de vaca, mas pode ser feito com leite de outras fontes, como leite de cabra, ovelha, búfalo ou soja (Liu et al., 2006). Uma das características que distinguem o kefir de muitos outros produtos lácteos fermentados é a exigência da presença de um grão de kefir na fermentação (Carasi et al., 2015). Os grãos de kefir são matrizes compostas de proteínas e polissacarídeos de origem microbiana, juntamente com comunidades de espécies bacterianas e fúngicas essenciais para a fermentação da bebida (Iraporda et al., 2014). Tradicionalmente a fermentação era iniciada pela adição de grãos de kefir ao leite ainda não fermentado em bolsas de pele de ovelha ou cabra (Liu et al., 2006). A produção comercial em escala industrial raramente utiliza grãos de kefir para fermentação, mas usa culturas iniciais de microrganismos que foram isolados de grãos de kefir, ou kefir para fornecer outros produtos como queijo (Hong et al., 2011). Embora esse kefir produzido industrialmente possa ter seus próprios benefícios à saúde, pesquisas que examinam esses benefícios ainda não foram publicadas.

Assim, qualquer kefir referido nesta revisão foi produzido de maneira tradicional, ou seja, usando os grãos de kefir. Além da população microbiana presente no kefir, estas bebidas também contêm produtos de fermentação em abundância, como ácidos orgânicos e vários compostos aromatizantes voláteis, incluindo etanol, acetaldeído e diacetil (Güzel-Seydim et al., 2000). O kefirano, um importante exopolissacarídeo produzido como parte do processo

de fermentação, é exclusivo do kefir. O kefirano compõe uma grande porção do próprio grão de kefir e também é encontrado dissolvido na fase líquida, onde contribui para a reologia, cremosidade e textura do produto acabado (Tsai et al. 2012).

REVISÃO DE LITERATURA IMUNOMODULADORES

Uma das principais maneiras pelas quais os produtos probióticos, como o kefir, são capazes de produzir benefícios à saúde é através da modulação do sistema imunológico gastrointestinal. Quando camundongos jovens inoculados intraduodenalmente com toxina da cólera (CT) foram alimentados com kefir, os níveis de IgA anti-CT no soro aumentaram, assim como os níveis de secreção de anti-CT IgA nos adesivos de Peyer, nos linfonodos mesentéricos, no baço. e a lâmina própria intestinal em comparação com a TC (Carasi et al., 2015). Esse mesmo efeito, no entanto, não foi observado em camundongos mais velhos submetidos ao mesmo tratamento, sugerindo que qualquer mecanismo responsável pela mudança observada nos camundongos jovens não está mais presente nos camundongos senescentes ou requer uma dose muito maior de kefir em camundongos para ativá-lo. Estudos adicionais sobre o mecanismo, bem como investigações com camundongos de meia idade, são necessários para fornecer mais informações sobre esse fenômeno. Ainda assim, diversos trabalhos investigaram o efeito imunomodulatório do kefir (Tabela 1).

Tabela 1. Relação das pesquisas realizadas demonstrando o efeito imunomodulatório do Kefir.

Modelo/ hospedeiro	Probiótico/ Porção do Kefir	Patógeno	Resultado	Autor
Camundongos C57BL/6	Bebida de Kefir.	*Giardia intestinalis*	Mitigou a capacidade do patógeno *de* suprimir a resposta inflamatória. Aumentos nos níveis de expressão de TNF-α, IFN-γ, e níveis mais altos de células positivas para IgA e positivas para RcFc.	(Correa Franco et al., 2013)
Camundongos	Bebida de Kefir.	-	Aumento nas células IgA, IgG, e nos níveis de IL-4, IL-10, IL-6 e IL- 2 que promovem uma resposta Th2.	(Vinderola et al., 2005) *
Camundongos	Grão de Kefir.	-	Aumento nos níveis de IFN-γ, TNF-α, IL-6 , e nos níveis de IL -1α, IL-10 e IL-6 em células.	(Vinderola et al. 2006) **
in vitro	*Lactobacillus* spp. isolados do Kefir.	-	Induzem níveis mais altos de secreção de IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-10, IL-8, IL-12 e diminuem a resposta de *ccl20* em células Caco-2, agonistas de receptores Toll-like (TLR).	(Carasi et al., 2015) ***
Camundongos	*Lactobacillus kefiranofaciens* isolados do Kefir.	-	Diminuiu os níveis de citocinas pró-inflamatórias IL-1β e IL-12, enquanto aumenta simultaneamente o nível da citocina anti-inflamatória IL-10, inibindo a produção de IL-12 e IL-1β.	(Hong et al., 2009)
Camundongos	*L. kefiranofaciens* isolados do Kefir.	-	Melhora da colite induzido por DSS e das respostas Th1 a agonistas de TLR em camundongos livres de germes, aumentando a produção de IFN-γ e IL-12 após estimulação.	(Chen et al., 2013)
Camundongos	*L. kefiranofaciens* isolados do Kefir.	-	Diminuiu a produção de citocinas pró-inflamatórias IL--1β e TNF-α, enquanto aumentava a produção de IL-10.	(Chen et al., 2012) ****
in vitro Caco-2-c-cl20: luc	Fração livre de células do kefir.	Proteína flagelar FliC de Salmonella.	Modulou respostas imunes inatas, diminuindo a ativação das células Caco-2-ccl20: luc que foram estimuladas pelo patógeno.	(Iraporda et al., 2014) *****

Modelo/ hospedeiro	Probiótico/ Porção do Kefir	Patógeno	Resultado	Autor
in vitro ou *in vivo*	Kefir inteiro, frações de kefir ou organismos isolados.	-	Mudança da resposta imune Th1 para uma resposta Th2, além de aumentos nos níveis de IgA.	(Carasi et al., 2015)
Camundongos *germfree* (GF)	Bebida de Kefir.	-	Único estudo que indica resposta Th1 aumentada.	(Chen et al., 2013) ******

* Curiosamente, aumentos em IFN-γ, TNFα e IL-12 (todos pró-inflamatórios que promovem resposta Th1) foram observados apenas em camundongos alimentados com kefir pasteurizado. O aumento de citocinas pró-inflamatórias nos grupos de kefir pasteurizado foi provavelmente devido à integridade da parede celular reduzida das células mortas pelo calor, expondo mais produtos microbianos inflamatórios. O fato de o kefir pasteurizado ter sido capaz de provocar um efeito mostra que os mecanismos por trás dessa modulação imune não são totalmente dependentes das células vivas e podem ser devidos aos metabólitos presentes no kefir (Iraporda et al., 2014). No entanto, deve-se notar que, neste estudo, as células vivas tiveram um impacto geralmente mais substancial, pois o kefir foi capaz de conferir um efeito semelhante a 1/10 da concentração e sem provocar uma resposta imune pró-inflamatória (Vinderola et al., 2005)
** Quando alimentados com camundongos por mais de 2 a 7 dias, IFN-γ e TNF-α aumentaram precocemente na alimentação, no entanto, diminuíram rapidamente de volta aos níveis de controle no dia 7, juntamente com IL-1α, enquanto os níveis de IL-6 e IL-10 permaneceram altos durante os 7 dias de período de alimentação (Vinderola et al. 2006).
*** Em geral, linhagens de *L. kefiri* que induziram menores taxas de TNF-α/IL-10 e maiores de IL-10/IL-12 mostraram uma diminuição muito maior na resposta pró-inflamatória da ccl20 à estimulação com flagelos bacterianos, indicando a importância de IL-10 na promoção de uma resposta Th2 enquanto inibe simultaneamente a resposta pró-inflamatória Th1.camundongos alimentados com *L. kefiri* por um período de 21 dias mostrou perfis alterados de expressão gênica no íleo, cólon, adesivos de Peyer e linfonodos mesentéricos, com citocinas pró-inflamatórias como IFN-γ e IL-23 sendo sub-reguladas e IL-10 sendo sub -regulada (Carasi et al., 2015). Isto indica ainda que os lactobacilos isolados do kefir têm a capacidade de suprimir a produção de citocinas pró-inflamatórias enquanto promovem a produção de citocinas anti-inflamatórias.
**** Esse efeito também foi dependente do TLR-2, pois *L. kefiranofaciens* M1 foi incapaz de melhorar a colite por DSS em camundongos *knockout* para TLR-2 (Chen et al., 2012).
***** Um dos mecanismos prováveis foi revelado quando se descobriu que uma solução de ácido lático 100 mM à pH 7, era capaz de provocar um nível comparável de modulação imune em células estimuladas por FliC, quando pré-incubadas com a solução. Verificou-se também que a solução de ácido lático diminui o nível de ativação de NFκ-B nas células Caco-2 estimuladas com FliC e foi capaz de regular a expressão das citocinas pró-inflamatórias ccl20, IL-8, CXCL 2 e CXCL 10 sem afetar os genes envolvidos na função normal dos enterócitos. Estes resultados indicam quão importantes são os metabólitos produzidos durante a fermentação para a capacidade do kefir de provocar respostas ou efeitos benéficos no hospedeiro (Iraporda et al., 2014).
****** Isso pode explicar a diferença nos achados, pois é bem possível que as observações dos camundongos *germfree* (GF) tenham mais a ver com a introdução de uma população bacteriana no intestino do que com as espécies bacterianas específicas que compunham essa população. O fato de a maioria dos estudos também observarem aumentos em algumas citocinas pró-inflamatórias, como TNF-α, IFN-γ ou IL-12, pode ser explicado por uma reação inicial do sistema imunológico a agonistas comuns de TLR presentes, que foram ao final suprimidos após uma maior interação com as células imunes do trato GI (Chen et al., 2013).

ANTIALÉRGICOS

Doenças alérgicas, como asma e alergia alimentar, estão há décadas em ascensão em países desenvolvido (Sjogren et al., 2009). Muitas alergias, especialmente aquelas relacionadas à alimentação, são desenvolvidas precocemente, durante os primeiros 2 anos de vida (Tsai et al., 2012). Embora a maioria das alergias alimentares desenvolvidas no início da vida não persistam, algumas podem se tornar condições permanentes ao longo da vida (Tsai et al., 2012). Trabalhos recentes mostraram que um fator cada vez mais importante na determinação de uma criança propensa a desenvolver doenças alérgicas, seja alergia alimentar ou asma, é o nível de complexidade dos organismos presentes na microbiota intestinal (Hong et al., 2011). A Tabela 2 compila alguns trabalhos relacionando o uso de probiótico, ou alguma porção do kefir, com a modulação de alergias.

TABELA 2. Ensaios que mostram ação antialérgica de probióticos, kefir.

Ensaio	Probiótico/ Porção do Kefir	Modelo	Resultado	Autor
Humanos (1 semana - 5 anos)	*Bifidobacterium* ssp. e *Lactobacillus* do grupo 1	-	Crianças que desenvolveram alergias tinham menores colônias de organismos citados em sua microbiota intestinal durante os primeiros 2 meses de vida.	(Sjogren et al., 2009)
Humanos (0 - 1 ano)	*Bifidobacterium* ssp.	-	Suplementação do organismo na alimentação parece diminuir a inflamação intestinal em crianças com alergias pela redução de bacteroides.	(Kirjavainen et al., 2002)
in vivo Camundongos BALB/c	Kefir tradicional e de leite de soja	Modelo de alergia alimentar, sensibilizados pela ovoalbumina (OVA)	Administração oral do kefir reduziu alergia alimentar pelo aumento da colonização de bifidobactérias e lactobacilos, além de suprimir a resposta IgE e IgG1 anti-OVA.	(Liu et al., 2006)*
in vitro Células mononucleares do sangue periférico (CMSPs)	Bactérias ácido láticas (BALs)	-	A adição de BALs em culturas de CMSPs resultou na redução de IL-4, indutor de resposta Th2, e no aumento de IFN-γ, repressor de resposta TH2.	(Tsai et al. 2012)**
in vivo Camundongos BALB/c	Bactérias ácido láticas (BALs)	Modelo de alergia alimentar, sensibilizados pela OVA	A alimentação contendo BALs reduziu, tanto a IgE total, quanto IgE específica para OVA, em comparação ao grupo que não recebeu o probiótico.	(Tsai et al. 2012)**
in vivo Camundongos BALB/c	Kefir	Modelo de asma, vias aéreas sensibilizadas pela OVA	A administração do kefir mostrou redução da hiper-responsividade das vias aéreas, do número de células inflamatórias, das citocinas da resposta Th2 e dos níveis de IgE total.	(Lee et al., 2007)
in vitro Esplenócitos de BALB/c	L. *kefiranofaciens* e L. *kefiri* isolados de Kefir e inativados por calor.	-	Mesmo após a inativação, a administração resultou na aumento de citocinas da resposta Th1, como IFN-γ e TNF-α, IL- 12 e IL-1β.	(Hong et al., 2010)
in vivo Camundongos BALB/c	L. *kefiranofaciens* e L. *kefiri* isolados de Kefir e inativados por calor.	Modelo de alergia alimentar, sensibilizados pela OVA	Além da modulação da resposta Th1/Th2, o grupo tratado reduziu os níveis de IgE anti-OVA no soro. Houve também um aumento na detecção das células T reguladoras no baço.	(Hong et al., 2010)
in vivo Camundongos BALB/c	L. *kefiranofaciens* e L. *kefiri* isolados de Kefir e inativados por calor.	Modelo de asma, vias aéreas sensibilizadas pela OVA	A administração foi capaz de reduzir os níveis de citocinas pró-inflamatórias, de citocinas da resposta Th2, como IL-4, IL-6, IL13. e ccl20 nos esplenócitos, de IgE anti-OVA no soro, da citocina associada à resposta Th17, IL-17, além dos níveis de células T reguladoras presentes no baço.	(Hong et al., 2011)

* Liu e colaboradores (2006), apresentaram um modelo de alergia alimentar em camundongos BALB/c através da injeção intraperitonial de ovoalbumina (OVA). OVA, principal proteína encontrada no ovo.
** Um dos principais mecanismos por trás da alergia alimentar é um desequilíbrio na proporção de células Th1/Th2, levando a uma resposta IgE aumentada (Tsai et al. 2012).

Embora todos esses estudos revelem um padrão consistente, é interessante notar que muitos dos perfis de citocinas estão em forte contraste com os encontrados em estudos sem sensibilização ou desafio ao antígeno. Isso destaca a complexidade do sistema imunológico e a necessidade de um equilíbrio entre as diferentes reações possíveis, como as respostas Th1 e Th2. O fato do kefir poder induzir mudanças no sistema imunológico em ambas as direções é promissor, pois pode significar que os diversos organismos no kefir são capazes de regular esse equilíbrio no sistema imunológico. Isso pode ser em parte devido ao aumento do número de células T reguladoras observadas em alguns desses estudos, já que essas células desempenham um papel importante na manutenção da tolerância e na supressão de respostas imunes inflamatórias desnecessárias (Chen et al., 2013).

METABOLISMO DO COLESTEROL E INIBIÇÃO DA ECA

Devido à microbiota altamente complexa do kefir, há uma infinidade de organismos e produtos metabólicos presentes no leite fermentado. Essa combinação de organismos microbianos e metabólitos vivos contribui para uma ampla gama de efeitos atribuídos ao kefir, muitos dos quais são benefícios à saúde. A doença cardiovascular (DCV) é uma das principais causas de morte no ocidente, com altos níveis de colesterol sérico sendo um importante fator de risco para a doença (Tabela 3). A dieta pode desempenhar um papel importante no gerenciamento dos níveis séricos de colesterol e, portanto, os riscos de contrair DCV (FAO/WHO, 2002).

TABELA 3. Resultados de pesquisas que corroboram para efeito redutor de níveis séricos de colesterol e inibição da ECA causados pelo Kefir.

Ensaio	Probiótico/ Porção do Kefir	Resultado	Autor
Método colorimétrico de o-ftalaldeído	Grãos de Kefir do tipo A, B, C e P originados da Iugoslávia, tipo M da Hungria e tipo K do Cáucaso inoculados com leite integral instantâneo.	Reduziu os níveis de colesterol presentes entre 41 e 84% após 24 horas de fermentação e mais 48 horas de armazenamento.	(Vujičić et al,. 1992)*
In vivo Camundongos albinos	Iogurte contendo soro de leite condensado hidrolisado com lactose e iogurte com *Bifidobacterium bifidum 2715*	Após 30 dias, a alimentação reduziu os níveis de colesterol sérico significativamente.	(Serafini et al., 2014).
Método colorimétrico de o-ftalaldeído	*Kluyveromyces marxianus linhagem K1 e linhagem* M3 fermentado em meio de lactose de batata.	Após 20 horas, os níveis de colesterol diminuíram de 70 a 99% com um aumento proporcional significativo da atividade de hidrólise do sal biliar (BSH).	(Liu et al., 2012)**
In vivo Hamsters sírios dourados machos	Leite desnatado reconstituído e leite de soja inoculado com 5% de grãos de kefir	Reduziram o triacilglicerol sérico e o colesterol total após 8 semanas, melhorando o índice aterogênico. Níveis de secreção de ácido biliar fecal e colesterol aumentaram significativamente.	(Liu et al., 2006)***
In vivo Camundongos machos *Sprague-Dawley (SD)* e homens voluntários adultos saudáveis	Leite de fermentado com o probiótico *B. longum linhagem* BL1 (Moringa Milk Industry Co.) e iniciadores comuns de iogurte.	Após 4 semanas, a concentração de colesterol no fígado foi reduzida e os níveis de secreção de ácido biliar fecal e colesterol aumentaram significativamente nos dois grupos.	(Xiao et al., 2003).****
In vivo Camundongos machos SD	Pó liofilizado de *Lactobacillus plantarum* MA2, isolado de grãos de kefir de Taiwan (chamados Hsinchu, Mongólia e Ilan).	Redução significativa após 5 semanas de níveis séricos de colesterol total, LDL-colesterol, triglicerídeos, colesterol hepático e triglicerídeos, em conjunto com a secreção aumentada de colesterol fecal.	(Wang et al., 2009).
In vivo Camundongos machos SD	L. *plantarum Lp09 e Lp45* isolados de grãos de Kefir.	Redução significativa após 4 semanas dos níveis séricos de colesterol total, LDL-colesterol, triglicerídeos, colesterol hepático e triglicerídeos, juntamente com uma maior secreção de colesterol nas fezes.	(Huang et al., 2013)
In vivo Camundongos SD	L. *plantarum* Lp27 isolado de grãos de kefir tibetano.	Reduziu significativamente as concentrações de colesterol total sérico, colesterol de lipoproteína de baixa densidade e triglicerídeos.	Huang et al. (2013)
In vitro Células Caco-2	L. *plantarum* Lp27 isolado de grãos de kefir tibetano.	Inibiu a absorção de colesterol através da regulação negativa da expressão de Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) em células Caco-2.	Huang et al. (2013)
In vivo Camundongos SD	*L. acidophilus LA15, L. plantarum B23 e L. kefiri.* isoladas de grãos de kefir tibetano.	Os níveis de colesterol total, triglicerídeos e lipoproteína de baixa densidade no soro foram significativamente diminuídos após 4 semanas, junto com o aumento da secreção de colesterol fecal e ácido biliar.	Zheng et al. (2013)
In vitro Células Caco-2	*Lactobacillus acidophilus LA15, L. plantarum B23 e L. kefiri D17*	As linhagens expressaram alta aderência em células Caco-2 e mostraram atividade potencial de hidrólise do sal biliar (BSH), assimilação e capacidade de co-precipitação do colesterol.	Zheng et al. (2013)

Ensaio	Probiótico/ Porção do Kefir	Resultado	Autor
In vivo Camundongos Wistar machos	KM-WC (Células Inteiras de levedura inoculadas com *K. marxianus* YIT 8292) e KM-W (frações de parede celular enriquecida de *K. marxianus* YIT 8292).	Após 14 dias, os níveis de colesterol no plasma e no fígado foram reduzidos, além de aumentar a excreção fecal de esteróis e ácidos biliares, e a concentração de ácidos graxos de cadeia curta no ceco.	(Yoshida et al., 2005)*****
In vivo Camundongos espontaneamente hipertensos e propensos a derrame (SHRSP/Hos)	K-R, kefirano isolado da cultura de *L. kefiranofaciens* em meio RH.	O kerifano reduziu significativamente após 30 dias os níveis de colesterol total sérico, LDL-colesterol sérico, triglicerídeos séricos, colesterol hepático e triglicerídeos hepáticos, além de ter efeitos significativos sobre a pressão arterial, glicose sanguínea e constipação.	(Maeda et al., 2004)
Ensaio espectrofotométrico de Cushman e Cheung	Leite enriquecido com caseína fermentado por *Lactobacillus helveticus* CP790 cultivado com grãos de Kefir comercial (Torula) que continham bactérias ácido lácticas (LAB)	Dois pequenos peptídeos com sequencia "PYVRYL" e "LVYPFTGPIPN" liberados da caseína durante o processo de fermentação mostraram uma potente atividade inibitória da ECA com valores de IC50 de 2,4 e 27,9 μM, respectivamente.	(Quiros et al., 2005)
Homens adultos levemente hipercolesterolêmicos	Dietas auto-selecionadas, suplementadas com 500 mL / d de kefir (Liberty Co, Candiac, Quebec) ou leite.	Sem alterações significativas nas concentrações séricas totais de colesterol, após 4 semanas.	St-Onge et al. (2002)******
In vivo Camundongos Wistar fêmeas	Grãos de kefir obtidos de uma residência particular em Navarra, Espanha, inoculados em gordura total de leite de vaca processada.	Não encontrou diferenças significativas no colesterol sérico após 22 dias	(Urdaneta et al., 2007)******

* Método o-ftalaldeído: Originalmente descrito para a medição do colesterol do plasma sanguíneo humano; saponificação de lipídios plasmáticos por KOH alcoólico obtido por extração de material insaponificável em hexano, secagem do extrato sob nitrogênio e desenvolvimento de cor com reagente o-ftalaldeído em meio ácido.
** O BSH desconjuga os ácidos biliares e, como os sais biliares desconjugados são menos solúveis e reabsorvidos com menos eficiência do lúmen intestinal, isso leva ao aumento da excreção de sal biliar nas faces.
*** Aterogênico: Proporção entre colesterol não HDL e colesterol HDL. O efeito de redução do colesterol foi independente de os hamsters terem sido alimentados com dieta livre de colesterol ou enriquecida com colesterol indicando que a alimentação com kefir alterou o metabolismo endógeno do colesterol.
**** Iniciadores de iogurte: *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*
**** Este efeito mostrou-se específico para α-manano e β-glucano presentes na parede celular de *K. marxianus.*
***** Embora os dois últimos estudos pareçam conflitar com outros achados, isto pode ser em grande parte devido ao fato de que diferentes grãos de kefir foram usados para cada um desses estudos. Além disso, Liu e colaboradores (2006) revelaram em estudo com duração de 8 semanas, enquanto St-Onge e colaboradores (2002) e Urdaneta e colaboradores (2007) tiveram prazos de 4 semanas e 22 dias, respectivamente. Pode ser significativo que, no estudo de pacientes hipercolesterolêmicos, tenha sido observado um aumento no ácido propiônico fecal. Demonstrou-se que o ácido propiônico inibe a incorporação de acetato no triacilglicerol e colesterol plasmático (Zheng et al., 2013). Assim, um efeito hipocolesterolêmico poderia ter sido observado se o estudo continuasse por um período mais longo.

EXCLUSÃO DE PATÓGENOS

Uma das principais maneiras pelas quais produtos alimentares contendo probióticos podem exercer efeitos benéficos é alterar a microbiota intestinal. Isso pode ser feito através da introdução de novas espécies ou linhagens no trato gastrointestinal ou promovendo o crescimento de microrganismos benéficos que já estão presentes (prebióticos). Alguns exemplos são apresentados na Tabela 4.

Em vários estudos, o consumo de kefir ou kefirano em um modelo animal tem sido associado a um aumento de microrganismos considerados benéficos, como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, ao mesmo tempo em que diminui espécies microbianas nocivas, como *Clostridium perfringens* (Liu et al., 2006).

TABELA 4. Efeito antagônico do kefir e seus derivados sobre patógenos.

Modelo/ hospedeiro	Probiótico/ Porção do Kefir	Patógeno	Resultado	Autor
Camundongos C57BL/6	Bebida de Kefir.	*G. intestinalis*	Capaz de reduzir a gravidade da infecção por *Giardia intestinalis*, com o mecanismo relatado sendo através da modulação do sistema imunológico.	(Correa Franco et al., 2013)
Camundongos	*Lactobacillus* isoladas de kefir.	*Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* O157: H7	Foi demonstrado que linhagens específicas aderem às células Caco-2 e inibem a aderência dos patógenos.	(Huang et al. 2013)*
Camundongos BALB/c	*L. kefiranofaciens* M1	*E. coli* O157: H7	Mostraram sintomas reduzidos de infecção, incluindo danos intestinais e renais, translocação bacteriana e penetração da toxina Shiga, bem como aumento das respostas *IgA* da mucosa específicas para EHEC.	(Chen et al., 2013)
in vitro	Bebida de Kefir.	*E. coli* O157: H7	Observaram que os isolados do kefir têm a capacidade de proteger as células Vero da toxina Shiga tipo II produzida pelo patógeno, levando a níveis mais baixos de morte celular.	(Kakisu et al., 2013)
in vitro	Bebida de Kefir.	*Bacillus cereus*	Inibiu a capacidade dos fatores extracelulares do patógeno de causar danos às células Caco-2.	(Kakisu et al., 2007)
in vitro	Bebida de Kefir.	-	Além de regular a composição microbiana, o kefir pode alterar a atividade da microbiota. Foi demonstrado que certas linhagens de *Bifidobacterium* exibem aumentos na taxa de crescimento quando cultivadas em kefir e mudanças na expressão gênica também foram observadas.	(Serafini et al., 2014)**

* A capacidade dessas espécies de *Lactobacillus* se ligarem às células Caco-2 ilustra um provável mecanismo para o aumento de espécies de *Lactobacillus* observadas na microbiota fecal de camundongos alimentados com kefir (Liu et al., 2006; Carasi et al., 2015).
** Essas alterações na expressão gênica resultaram em níveis aumentados de expressão de múltiplos genes associados ao *pil3*, um pilus dependente de Sortase que demonstrou ser extremamente importante para a interação com as células endoteliais do hospedeiro e é também especialmente importante para a adesão e modulação da resposta inflamatória do hospedeiro. Embora este exemplo específico mostre os potenciais efeitos positivos que o kefir pode ter sobre os organismos existentes na microbiota intestinal, ainda não está claro como isso se traduz na complexa população de todo o microbioma (Serafini et al., 2014).

PROPRIEDADES ANTIBACTERIANAS E ANTIFÚNGICAS

O kefir e linhagens de microrganismos associadas ao kefir mostraram uma infinidade de atividades antibacterianas e antifúngicas (Tabela 5). O leite fermentado com kefir foi testado em experimentos de difusão em disco contra uma ampla variedade de espécies bacterianas e fúngicas patogênicas, e se constatou ter atividade antimicrobiana igual a ampicilina, azitromicina, ceftriaxona, amoxicilina e cetoconazol contra muitas dessas espécies (Zanirati et al., 2015). Além dos efeitos antimicrobianos do leite fermentado com kefir, também existem microrganismos específicos que exercem propriedades antimicrobianas por conta própria.

TABELA 5. Correlação da atividade antimicrobiana isoladas a partir do Kefir.

Probiótico/ Porção do Kefir	Substância produzida	Patógeno	Resultado	Autor
L. plantarum ST8KF	Bacteriocina ST8KF.	*Enterococcus mundtii* e *Listeria innocua*	Exibe atividade bacteriostática, e não é produzida em níveis elevados durante as fases iniciais de produção do Kefir.	(Powell et al., 2007)
L. acidophilus, *L. kefiranofaciens e S. thermophilus*,	-	*E. coli, L. monocytogenes, S. aureus, S. typhimurium, S. enteritidis, S. flexneri, P. aeruginosa* e *Y. enterocolitica*	Mostraram atividade antimicrobiana contra uma gama de patógenos quando submetidos ao teste de ponto de ágar.	(Golowczyc et al., 2008)*
Lactobacilos derivados do Kefir	-	*S. typhimurium* e *E. coli*.	Indicaram atividade antimicrobiana em testes *in vitro.*	(Golowczyc et al., 2008)*
L. lactis	Lacticina 3147	*B. cereus, B. subtilis, C. sporogenes, C. tyrobutyricum, E. faecium, E. faecalis, L. innocua, L. monocytogenes, S. aureus* e *C. difficile*	A lacticina 3147 é produzida por uma linhagem de *L. lactis* isolada do kefir e possui ampla atividade antimicrobiana.	(Rea et al. 2007)
Lactobacillus paracasei subsp. tolerans estirpe fonte FX-6	Bacteriocina F1	*S. aureus, Shigella dysenteriae* e *Aspergillus niger*	Primeira linhagem produtora de bacteriocina com amplo espectro antimicrobiano para inibir fungos e bactérias.	(Miao et al., 2014)
L. kefiri B6	-	*L. monocytogenes*	Exibe atividade antimicrobiana na presença de galactooligossacarídeo *in vitro*, no entanto, esse efeito não foi observado com *E. coli* e, nesse caso, uma investigação mais aprofundada do mecanismo dessa inativação é necessário	(Likotrafiti et al., 2015)*
L. lactis e *Lb. paracasei*	Substância semelhante a bacteriocina	*E. coli, S. enterica, S. aureus* e *L. monocytogenes*	Faz-se necessário mais trabalhos para melhor caracterizar essas substâncias e determinar o alcance de seus antimicrobianos. atividade, bem como sua novidade.	(Leite et al. 2015)
L. kefiranofaciens 8U	BAL	*P. aeruginosa, L. monocytogenes* e *E. faecalis in vitro*	Pesquisas posteriores se fazem necessária para elucidar o mecanismo de inibição.	(Zanirati et al., 2015)

* É provável que a capacidade do meio seja aumentada com hidróxido de sódio, sais e ácidos orgânicos presentes no filtrado, ao ponto que a cultura *L. monocytogenes* seja inibida pelos seus próprios resíduos produzidos no metabolismo ácido.

EFEITOS ANTITUMORAIS

O Kefir também possui atividade antitumoral significativa contra vários tipos de células cancerígenas (Tabela 6).

TABELA 6. Resultados de pesquisas que corroboram para efeito do kefir contra diversos tipos de câncer.

Modelo/ hospedeiro	Probiótico/ Porção do Kefir	Tipo de câncer	Resultado	Autor
in vitro	*L. kefiri*	Leucemia mielóide	Foi demonstrado que o probiótico aumenta a apoptose de várias células de leucemia mielóide resistentes a medicamentos, através da ativação em doses adequadas de Caspase 3.	(Ghoneum et al., 2014)
in vitro	Bebida de Kefir.	Câncer gástrico	A fração isenta de células do kefir mostrou atividade antitumoral in vitro, se observou um efeito anti-proliferativo na linha de células de câncer gástrico SGC7901.	(Gao et al., 2013)*
in vitro	Bebida de Kefir.	Câncer gástrico	Além de promover a morte celular em células cancerígenas, efeitos antimutagênicos foram demonstrados em estudos com agentes cancerígenos conhecidos, como metilmetanossulfato, metilazoximetanol, azida sódica, aflatoxina B1 e 2-aminoantraceno, conforme indicado pelo teste de Ames.	(Guzel-Seydim et al., 2006)
Camundongos	Bebida de Kefir.	Sarcomas	Os camundongos com sarcomas de células fusiformes que receberam kefir intraperitoneal reduziram o tamanho do tumor, sendo que em alguns tumores desaparecendo completamente durante um período de tratamento de 20 dias.	(Liu et al., 2012)**
Camundongos	Bebida de Kefir.	Câncer de mama	Mostrou que a alimentação com kefir antes da provocação do tumor, resultou em diminuição do tamanho e aumento da apoptose do tumor, e que os níveis de células IgA + e células T CD4 + também foram aumentados. Também apresentaram níveis séricos aumentados de Il-10 e IL-4.	(De Moreno de LeBlanc et al., 2007)***

* Este estudo demonstrou ainda que a bebida de kefir foi capaz de induzir apoptose em células SGC7901 através da regulação positiva do gene *bax,* do promotor de apoptose e anti-oncogene, e da regulação negativa do gene *bcl-2*, que é um conhecido oncogene inibidor da apoptose (Gao et al., 2013).
** Embora isso seja impressionante, ainda não foi determinado se esses achados podem ser replicados no caso do consumo oral.

Esses estudos mostraram aumentos nas contagens de células imunes e no recrutamento, apontando para um possível mecanismo para a redução do tamanho do tumor. Tais achados são consistentes com outros estudos que mostraram que o kefir é capaz de modular o sistema imunológico no intestino e mostram que as habilidades imunomoduladoras do kefir podem não estar limitadas ao Camundongo gastrointestinal (Hong et al., 2009; Correa Franco et al., 2013).

CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

As propriedades antimicrobianas do kefir podem levar ao seu uso em aplicações não tradicionais. De fato, quando camundongos com feridas abertas inoculadas com *S. aureus* foram tratados com um gel feito de grãos de kefir, verificou-se que as feridas cicatrizavam a uma taxa muito mais rápida do que a observada em camundongos controle que não receberam tratamento, ou em camundongos que receberam tratamento tradicional (tratamento de 5 mg/kg de emulsão de neomicina-clostebol) (Ghoneum et al., 2014). Verificou-se que os géis feitos com grãos e bebida de kefir são mais eficazes na redução do tamanho da ferida em queimaduras de terceiro grau contaminadas por *P. aeruginosa,* do que o tratamento tradicional com sulfadiazina de prata em um modelo de camundongo com feridas de queimadura (Hong et al., 2011; Zheng et al., 2013). Ainda, um estudo usando como modelo coelhos com ferida aberta contaminada, também se observou que o gel produzido a partir

de grãos de kefir resultou em tempos de cicatrização mais rápidos e eliminação mais rápida de infecções (Hong et al., 2011).

Tais reduções no tempo de cura provavelmente são devidos a vários fatores. Um destes é a capacidade do kefir de inibir o crescimento de bactérias e fungos, levando a uma ferida mais limpa, como demonstrado em alguns estudos (Hong et al., 2011; Tsai et al. 2012). Outro fator possível é a capacidade de modular o sistema imunológico e recrutar células imunológicas para ajudar no processo de cicatrização.

BENEFÍCIOS DE SAÚDE DO FERMENTO DE KEFIR

Uma característica única do kefir, tradicionalmente produzido em relação a muitos outros produtos lácteos fermentados produzidos comercialmente, é a presença de uma grande população de leveduras nos grãos de kefir e no leite fermentado por este (Carasi et al., 2015). Embora a maioria dos microrganismos probióticos comercializados sejam bactérias como lactobacillus e bifidobactérias, existem algumas espécies e linhagens de leveduras que são reconhecidas por possuir propriedades probióticas, como *Saccharomyces boulardii* (Rea et al., 2007). *S. boulardii* demonstrou melhorar os sintomas de *Clostridium difficile,* diarréia associada, bem como reduzir a inflamação, alterar o estado imunológico e as reações no intestino, levando à sua adoção como tratamento para a diarréia por *C. difficile* (Rea et al., 2007).

Algumas leveduras do kefir também mostraram atividades imunomoduladoras. Por exemplo a levedura *Kluyveromyces marxianus* B0399 demonstrou ter a capacidade de aderir às células Caco-2 (De Moreno de LeBlanc et al., 2007). Quando co-incubadas com células Caco-2 estimuladas por lipopolissacarídeo (LPS), foi observada uma diminuição significativa na secreção de IL-10, IL-12, IL-8 e IFN-γ (De Moreno de LeBlanc et al., 2007). Além disso, *K. marxianus* B0399 provocou uma diminuição na secreção de citocinas pró-inflamatórias TNF-α, IL-6 e MIP-1α quando co-incubadas com PBMCs estimuladas com LPS (De Moreno de LeBlanc et al., 2007). Este mesmo estudo mostrou que, em um sistema de modelo colônico *in vitro*, *K. marxianus* foi capaz de formar estável população, enquanto simultaneamente aumentava os níveis de *Bifidobacterium*. Também foram observados aumentos nos níveis de acetato e propionato de ácidos graxos de cadeia curta. Utilizando a linha celular Caco-2, com um gene repórter *ccl20*, Iraporda e colaboradores (2014) foram capazes de mostrar que várias linhagens de levedura de *Saccharomyces cerevisiae*, *K. marxianus* e *Issatchenkia* spp. foram capazes de inibir a expressão do gene repórter *ccl20* quando incubados com as células antes da estimulação utilizando a proteína flagelar FliC de *Salmonella*. A partir dessas leveduras, *K. marxianus* CIDCA 8154 foi selecionada para testes adicionais, demonstrado possuir a capacidade de inibir os níveis de expressão de *ccl20* nas células Caco-2,

independentemente da estimulação por FliC, IL-1β ou TNF-α. A linhagem também inibiu a expressão de IL-8 e MIP-2α em células HT-29 e inibiu a expressão de *ccl20* em um modelo intestinal de camundongos, quando administrada antes da estimulação com FliC (Iraporda et al., 2014). Leveduras isoladas de kefir também demonstraram a capacidade de melhorar as propriedades probióticas de espécies bacterianas, melhorando a viabilidade dessas linhagens bacterianas ao longo do tempo em suco gástrico e intestinal simulado, melhorando ainda a adesão de BALs às células Caco-2 *in vitro*. Esse efeito provavelmente ocorre devido à protocooperação de bactérias e levedura do kefir (Zheng et al., 2013).

CONCLUSÕES FINAIS

Kefir é um produto lácteo fermentado dinâmico com muitos fatores diferentes que afetam os benefícios associados ao seu consumo. Embora o kefir tenha sido associado a benefícios para a saúde por centenas de anos, a forma exata desses benefícios, até recentemente, não tinha sido estudada. O uso de modelos animais e análises *in vitro* permitiram a elucidação de como o kefir impacta positivamente a saúde do hospedeiro. Kefir inteiro, bem como frações específicas e organismos individuais isolados do kefir, fornecem uma infinidade de efeitos positivos quando consumidos. Estes variam desde a melhoria do metabolismo do colesterol e cicatrização de feridas, até a modulação do sistema imunológico e microbioma e até mesmo o alívio potencial de alergias e câncer. Estudos adicionais sobre os mecanismos por trás desses efeitos permitirão aos cientistas entender melhor exatamente como o kefir e outros produtos lácteos fermentados conferem esses benefícios, bem como maneiras mais eficientes de aproveitar essas características fora do próprio kefir. A necessidade de pesquisas adicionais não se aplica apenas aos mecanismos pelos quais o consumo de kefir exerce esses efeitos, mas também a quais organismos ou partes do kefir são responsáveis por cada benefício. A capacidade de combinar as melhores linhagens possíveis, dos melhores organismos de várias fontes de kefir, cria o potencial para maiores benefícios do que os analisados até então.

REFERÊNCIAS

1. Carasi P., Racedo S., Jacquot C., Romanin D., Serradell M., Urdaci M. (2015). Impact of Kefir Derived Lactobacillus kefiri on the mucosal immune response and gut microbiota. J. Immunol. Res. 2015 361604 10.1155/2015/361604 [PMC free article]

2. Chen Y., Hsiao P., Hong W., Dai T., Chen M. (2012). Lactobacillus kefiranofaciens M1 isolated from milk kefir grains ameliorates experimental colitis in vitro and in vivo. J. Dairy Sci. 95 63–74. 10.3168/jds.2011-4696

3. Chen Y., Lee T., Hong W., Hsieh H., Chen M. (2013). Effects of Lactobacillus kefiranofaciens M1 isolated from kefir grains on enterohemorrhagic Escherichia coli infection using mouse and intestinal cell models. J. Dairy Sci. 96 7467–7477. 10.3168/jds.2013-7015

4. Correa Franco M., Golowczyc M. A., De Antoni G. L., Pérez P. F., Humen M., de los Angeles Serradell M. (2013). Administration of kefir-fermented milk protects mice against Giardia intestinalis infection. J. Med. Microbiol 62 1815–1822. 10.1099/jmm.0.068064-0

5. de Moreno de LeBlanc A., Matar C., Farnworth E., Perdigon G. (2007). Study of immune cells involved in the antitumor effect of kefir in a murine breast cancer model. J. Dairy Sci. 90 1920–1928. 10.3168/jds.2006-079

6. Gao J., Gu F., Ruan H., Chen Q., He J., He G. (2013). Induction of apoptosis of gastric cancer cells SGC7901 in vitro by a cell-free fraction of Tibetan kefir. Int. Dairy J. 30 14–18. 10.1016/j.idairyj.2012.11.011

7. Ghoneum M., Gimzewski J. (2014). Apoptotic effect of a novel kefir product, PFT, on multidrug-resistant myeloid leukemia cells via a hole-piercing mechanism. Int. J. Oncol. 44 830–837. 10.3892/ijo.2014.2258 [PMC free article]

8. Golowczyc M. A., Gugliada M. J., Hollmann A., Delfederico L., Garrote G. L., Abraham A. G., et al. (2008). Characterization of homofermentative Lactobacilli isolated from kefir grains: potential use as probiotic. J. Dairy Res. 75 211–217. 10.1017/S0022029908003117

9. Guzel-Seydim Z., Seydim A., Greene A., Taş T. (2006). Determination of antimutagenic properties of acetone extracted fermented milks and changes in their total fatty acid profiles including conjugated linoleic acids. Int. J. Dairy Technol. 59 209–215. 10.1111/j.1471-0307.2006.00265.x

10. Hong W.-S., Chen H.-C., Chen Y.-P., Chen M.-J. (2009). Effects of kefir supernatant and lactic acid bacteria isolated from kefir grain on cytokine production by macrophage. Int. Dairy J. 19 244–251. 10.1016/j.idairyj.2008.10.010

11. Hong W.-S., Chen Y.-P., Chen M.-J. (2010). The antiallergic effect of kefir Lactobacilli. J. Food Sci. 75 H244–H253. 10.1111/j.1750-3841.2010.01787.x

12. Hong W.-S., Chen Y.-P., Dai T.-Y., Huang I.-N., Chen M.-J. (2011). Effect of heat-inactivated kefir-isolated Lactobacillus kefiranofaciens M1 on preventing an allergic airway response in mice. J. Agric. Food Chem. 59 9022–9031. 10.1021/jf201913x

13. Huang Y., Wang X., Wang J., Wu F., Sui Y., Yang L., et al. (2013). Lactobacillus plantarum strains as potential probiotic cultures with cholesterol-lowering activity. J. Dairy Sci. 96 2746–2753. 10.3168/jds.2012-6123

14. Iraporda C., Romanin D. E., Rumbo M., Garrote G. L., Abraham A. G. (2014). The role of lactate on the immunomodulatory properties of the nonbacterial fraction of kefir. Food Res. Int. 62 247–253. 10.1016/j.foodres.2014.03.003

15. Kakisu E., Abraham A. G., Tironi Farinati C., Ibarra C., De Antoni G. L. (2013). Lactobacillus plantarum isolated from kefir protects vero cells from cytotoxicity by type-II shiga toxin from Escherichia coli O157: H7. J. Dairy Res. 80 64–71. 10.1017/S0022029912000659

16. Kakisu E. J., Abraham A. G., Perez P. F., De Antoni G. L. (2007). Inhibition of Bacillus cereus in milk fermented with kefir grains. J. Food Protect. 70 2613–2616.

17. Kirjavainen P., Arvola T., Salminen S., Isolauri E. (2002). Aberrant composition of gut microbiota of allergic infants: a target of bifidobacterial therapy at weaning? Gut 51 51–55. 10.1136/gut.51.1.51 [PMC free article]

18. Leite A., Miguel M., Peixoto R., Ruas-Madiedo P., Paschoalin V., Mayo B., et al. (2015). Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian kefir grains. J. Dairy Sci. 98 3622–3632. 10.3168/jds.2014-9265

19. Likotrafiti E., Valavani P., Argiriou A., Rhoades J. (2015). In vitro evaluation of potential antimicrobial synbiotics using Lactobacillus kefiri isolated from kefir grains. Int. Dairy J. 45 23–30. 10.1016/j.idairyj.2015.01.013

20. Liu H., Xie Y. H., Xiong L. X., Dong R. T., Pan C. L., Teng G. X., et al. (2012). Effect and (Mechanism) of Cholesterol-Lowering by Kluyveromyces from Tibetan Kefir. Adv. Mater. Res. 343–344, 1290–1298.

21. Maeda H., Zhu X., Suzuki S., Suzuki K., Kitamura S. (2004). Structural characterization and biological activities of an exopolysaccharide kefiran produced by Lactobacillus kefiranofaciens WT-2BT. J. Agric. Food Chem. 52 5533–5538. 10.1021/jf049617g

22. Metchnikoff E. (1908). The Prolongation of Life. New York, NY: Putnam.

23. Miao J., Guo H., Ou Y., Liu G., Fang X., Liao Z., et al. (2014). Purification and characterization of bacteriocin F1, a novel bacteriocin produced by Lactobacillus paracasei subsp. tolerans FX-6 from Tibetan kefir, a traditional fermented milk from Tibet, China. Food Control 42 48–53. 10.1016/j.foodcont.2014.01.041

24. Powell J. E., Witthuhn R. C., Todorov S. D., Dicks L. M. T. (2007). Characterization of bacteriocin ST8KF produced by a kefir isolate Lactobacillus plantarum ST8KF. Int. Dairy J. 17 190–198. 10.1016/j.idairyj.2006.02.012

25. Quiros A., Hernandez-Ledesma B., Ramos M., Amigo L., Recio I. (2005). Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from caprine kefir. J. Dairy Sci 88 3480–3487. 10.3168/jds.S0022-0302(05)73032-0

26. Rea M. C., Clayton E., O'Connor P. M., Shanahan F., Kiely B., Ross R. P., et al. (2007). Antimicrobial activity of lacticin 3,147 against clinical Clostridium difficile strains. J. Med. Microbiol. 56 940–946. 10.1099/jmm.0.47085-0

27. Serafini F., Turroni F., Ruas-Madiedo P., Lugli G. A., Milani C., Duranti S., et al. (2014). Kefir fermented milk and kefiran promote growth of Bifidobacterium bifidum PRL2010 and modulate its gene expression. Int. J. Food Microbiol. 178 50–59. 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.024

28. Sjogren Y. M., Jenmalm M. C., Bottcher M. F., Bjorksten B., Sverremark-Ekstrom E. (2009). Altered early infant gut microbiota in children developing allergy up to 5 years of age. Clin. Exp. Allergy 39 518–526. 10.1111/j.1365-2222.2008.03156.x

29. St-Onge M. P., Farnworth E. R., Savard T., Chabot D., Mafu A., Jones P. J. (2002). Kefir consumption does not alter plasma lipid levels or cholesterol fractional synthesis rates relative to milk in hyperlipidemic men: a randomized controlled trial [ISRCTN10820810]. BMC Complement. Altern. Med. 2:1 10.1186/1472-6882-2-1 [PMC free article]

30. Tsai C.-C., Ke P.-C., Hsu T.-K., Hsieh Y.-M. (2012). Oral administration of multiple lactic acid bacteria strains suppressed allergic responses IgE in an ovalbumin-induced allergy BALB/c mouse model. Afr. J. Microbiol. Res. 6 1206–1212.

31. Urdaneta E., Barrenetxe J., Aranguren P., Irigoyen A., Marzo F., Ibáñez F. C. (2007). Intestinal beneficial effects of kefir-supplemented diet in rats. Nutr. Res. 27 653–658. 10.1016/j.nutres.2007.08.002

32. Vinderola C. G., Duarte J., Thangavel D., Perdigón G., Farnworth E., Matar C. (2005). Immunomodulating capacity of kefir. J. Dairy Res. 72 195–202. 10.1017/S0022029905000828

33. Vinderola G., Perdigon G., Duarte J., Thangavel D., Farnworth E., Matar C. (2006). Effects of kefir fractions on innate immunity. Immunobiology 211 149–156. 10.1016/j.imbio.2005.08.005

34. Vujičić, I.F., Vulić, M. & Könyves, T. Assimilation of cholesterol in milk by kefir cultures. Biotechnol Lett14, 847–850 (1992).

35. Wang Y., Xu N., Xi A., Ahmed Z., Zhang B., Bai X. (2009). Effects of Lactobacillus plantarum MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high--cholesterol diet. Appl. Microbiol. Biotechnol. 84 341–347. 10.1007/s00253-009-2012-x

36. WHO (1982). Prevention of coronary heart disease. World Health Organ. Tech. Rep. Ser. 678 1–53.

37. Xiao J., Kondo S., Takahashi N., Miyaji K., Oshida K., Hiramatsu A., et al. (2003). Effects of milk products fermented by Bifidobacterium longum on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers. J. Dairy Sci. 86 2452–2461. 10.3168/jds.S0022-0302(03)73839-9

38. Yoshida Y., Yokoi W., Ohishi K., Ito M., Naito E., Sawada H. (2005). Effects of the cell wall of Kluyveromyces marxianus YIT 8292 on the plasma cholesterol and fecal sterol excretion in rats fed on a high-cholesterol diet. Biosci. Biotechnol. Biochem. 69 714–723. 10.1271/bbb.69.714

39. Zanirati D. F., Abatemarco M., de Cicco Sandes S. H., Nicoli J. R., Nunes ÁC., Neumann E. (2015). Selection of lactic acid bacteria from Brazilian kefir grains for potential use as starter or probiotic cultures. Anaerobe 32 70–76. 10.1016/j.anaerobe.2014.12.007

40. Zheng Y., Lu Y., Wang J., Yang L., Pan C., Huang Y. (2013). Probiotic properties of Lactobacillus strains isolated from Tibetan kefir grains. PLoS ONE 8:e69868 10.1371/journal.pone.0069868 [PMC free article]

20

Maracuja-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) jelly developed with pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) peel pectin and commercial pectin: a comparative study

- Warley Bandeira da **Silva**
  IFNMG
- João Paulo Rodrigues de **Sousa**
  IFNMG
- Clara Mariana Gonçalves **Lima**
  IFNMG
- Josiane Ferreira da **Silva**
  IFNMG
- Silvani **Verruck**
  UFSC
- Daniela **Caetano**
  IFNMG
- Edilene Alves **Barbosa**
  IFNMG

10.37885/201001803

ABSTRACT

The pequi peel corresponds to approximately 80% of the fruit's weight and is often discarded. However, it is possible to extract pectin from this co-product. In this sense, the purpose of this study was to promote the extraction of pectin from the peel of the pequi using citric acid, evaluating its yield and degree of esterification, as well as comparing it with the commercial pectin in the formulation of maracuja-do-mato jelly. A yield of 29.9% was obtained in the extraction of the gelling agent, which was characterized as low-esterification pectin (36.3%). The maracuja-do-mato jelly developed from pectin extracted from the peel of the pequi was accepted by the tasters, reaching average grades above 7.0 for four of the five attributes evaluated, however, it differed statistically from the jelly produced with commercial pectin in appearance, color, and taste. Thus, pequi peel can be considered a viable alternative for pectin extraction.

Keywords: Alternative pectin, Extraction, Fruit jelly, Sensorial analysis.

INTRODUCTION

Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) is a Brazilian fruit native from the Cerrado region with economic relevance for the local producers. The state of Minas Gerais is the largest producer, corresponding to about 73% of the total production (LEÃO et al., 2018). Pequi fruit is composed of peels (exocarp and external mesocarp) that represent around 80% of its total mass, and the 20% remained (internal mesocarp and almond) correspond to the edible parts. Mainly the edible portions of pequi fruits are used in many food preparations, but its peels are commonly discarded (SIQUEIRA et al., 2012; TORRES et al., 2018). Pequi peel has high levels of dietary fibers, carbohydrates, minerals, as well as pectic polysaccharides, showing its technological potential. But its use is still little investigated (LEÃO et al., 2018; SIQUEIRA et al., 2012).

Pectins compose the cell wall of plants and have an important function in cell-to-cell adhesion (GÜZEL; AKPINAR, 2019; MARIĆ et al., 2018). The main component of pectin is the homogalacturonan, a linear polymer of α-1,4-linked-D-galacturonic acid with distinct degrees of methyl esterification. This degree of esterification directly influences the functional proprieties of pectin, especially its gel-forming propriety. Besides being a gelling agent, pectin is a food ingredient with other functions such as emulsifier, stabilizer, fat replacer, and thicker, being used in the production of jams, jellies, preserves, marmalades, ice creams, among others (ABBOUD et al., 2020; LEÃO et al., 2018; MARIĆ et al., 2018). Also, health-promoting proprieties of pectins have been described in the literature, such as their activities in the microbiota modulation, positive effects in the intestine, a decrease of cholesterol level, prevention of cardiovascular diseases, among others (GÜZEL; AKPINAR, 2019; MARIĆ et al., 2018; MOURA et al., 2020).

The extraction of pectins from the plant source involves the use of suitable methods that allow the maximum extraction yield with the maximum quality. These processes promote the hydrolysis of insoluble into soluble pectins and its solubilization from the vegetable tissues and are influenced by many factors such as temperature, pH, type and concentration of the acid agent, time of extraction, extraction technique used, among others (LEÃO et al., 2018; MARIĆ et al., 2018).

Despite pectin is found in a large number of vegetables, the main sources used in the food industry are apple and citrus wastes. But new vegetable sources, such as passion fruit, melon, and pomegranate peels, are being studied and show very promising results (ABBOUD et al., 2020; GÜZEL; AKPINAR, 2019; MARIĆ et al., 2018; MOURA et al., 2020). The search for new sources of pectins can stimulate the use of other plant wastes, decreasing their impact in the environment; diversify the type of pectins available, showing distinct chemical properties, yielding, and applications; decrease the production cost, among others (ABBOUD

et al., 2020; GÜZEL; AKPINAR, 2019). In this context, the pequi peel, which represents a large portion of this fruit and is discarded, can be a potential source of pectin.

Therefore, this study aimed to (i) extract pectin from the pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) peel (external mesocarp) flour and characterize it in terms of yield and degree of esterification, as well as (ii) comparing this pectin with the commercial citrus pectin through the production of maracuja-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) jelly.

MATERIAL AND METHODS

Samples

Pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruits and maracuja-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) frozen pulp were acquired from the local market of Salinas, in the state of Minas Gerais, Brazil.

Pequi peel flour

Pequi fruits were washed with potable water and selected according to their size uniformity, color, firmness, and absence of any damage. Pequi peel flour was obtained according to the procedure recommended by Soares-Júnior et al. (2009), with some modifications. The select fruits were manually peeled. The external mesocarp portion, which will be called in this studied as peels, was separated and bleached in boiling water for 6 min. In the sequence, the peels were dehydrated in an oven with forced air circulation (Q317M, QUIMIS, Brazil) at 60 °C for 36 h. After cooled, the dehydrated peels were ground in a processor (Multichef FP15, Arno, Brazil) and stored in polyethylene bags in the dark.

Pectin extraction

Pectin extraction from the pequi peel flour was carried out according to Munhoz et al. (2010), with some modifications. Pequi peel flour (8 g) was dissolved in 400 mL of 8% citric acid solution. The extraction was conducted in a water bath at 74 °C for 60 min.

After extraction, the samples were cooled at 4 °C for 2 h and filtrated in nylon fabric. In the filtrate, containing pectin, was added 95% ethanol solution in the proportion of 1:2 (filtrate: ethanol). The precipitated pectin was recovered by filtration and dried in an oven at 55 °C until constant weight. The yield of pectin was quantified as follows (Equation 1).

$$\text{Yield}(\%) = \frac{\text{Pectin extracted and dried}(g)}{\text{Peel flour}(g \text{ in dry weight})} x100 \quad (1)$$

Pectin quantification

The quantification of pectins was performed by titrimetry according to Munhoz et al. (2010). Pectins (0.25 g) were dissolved with ethanol (2 mL) and deionized water (25 mL) for 30 min in a magnetic stirrer.

The free carboxylic groups of anhydrogalacturonic acids were neutralized with 0.1 N NaOH solution. For esterified carboxylic groups determination, carboxylic groups were first submitted to saponification with 10 mL of 0.25 N NaOH solution for 30 min at room temperature and then neutralized with 10 mL of 0.25 N HCl solution. After that, the solution was neutralized with 0.1 N NaOH solution.

The determination of the amount of milliEquivalent (mEq) of free (mEq1) and esterified carboxylic groups (mEq2) was calculated according to the Equation 2 and used to determine the degree of esterification (Equation 3).

$$mEq(miliEquivalent) = NaOH\,normality(N)\,x\,NaOH\,volume\,spent(L) \quad (2)$$

$$Degree\,of\,esterification = \frac{mEq2}{mEq1 + mEq2} \quad (3)$$

Development of jelly formulations

The production of maracuja-do-mato jellies was performed in the Experimental Unit for Processing Fruits and Vegetables according to the methodology described by Soler (1991). Two formulations were used for the development of the jelly: (F1) jelly with commercial citrus pectin; and (F2) jelly with pectin extracted from the pequi peel. All practices were carried out following Good Manufacturing Practices.

The maracuja-do-mato pulp was diluted in potable water in the proportion of 1:1 (1 mL of water / 1 g of pulp). The pH of the pulp was determined using a pH meter (Q-400 AS, QUIMIS, Brazil) and the acidity correction to up to 3.2 with bicarbonate of sodium was carried out based on acidification calculations.

A pre-dissolution of both pectin types (pequi peel and commercial) was carried out before their addition into the concentrator. But initially, a dry mixture of one part of pectin and four parts of sugar was performed, requiring 1 g of pectin to 100 g of sucrose. This mixture was slowly added to the boiling maracuja-do-mato pulp under mechanical stirring until the formation of a homogeneous solution, without the presence of lumps. Then, sucrose was added in a 1:1 ratio (1 g of sugar / 1 g of pulp).

Sanitized glass bottles were filled with the jelly at a temperature of about 90 °C and then immediately closed and inverted for about 3 minutes to promote the heat treatment of the inside of the lids. The jellies were then kept at room temperature and under dark.

Physicochemical analyses

The pH and total soluble solids were determined according to AOAC (2019).

Sensorial analysis

For the acceptance and purchase intention sensory tests of maracuja-do-mato jellies, the samples were coded with a three-digit number, using the experimental model of randomized blocks. The tests were applied in individual booths, using white light, and the samples were served in properly identified disposable cups. The tests were applied to 50 untrained panelists with a minimum age of 14 years and familiarized with the testing procedures. It is worth mentioning that they had at their disposal a glass of water for cleaning the taste buds (MININ, 2018).

The attributes of appearance, color, texture, aroma, flavor, and overall impression were evaluated in the acceptance test using a 9-point structured hedonic scale ranging from "1 – disliked extremely" to "9 – like extremely". To identify the purchase intention, a 5-point structured hedonic scale from "1 – certainly would not buy" to "5 – certainly would buy" was used, according to Meilgaard, Civille e Carr (1998). The obtained data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test ($p \leq 0.05$) for means comparison using Excel software version 2010.

RESULTS AND DISCUSSION

Characterization of pectin from pequi peel flour

Extraction yield of pectin

The acid extraction of pectin from pequi peel flour resulted in a yield of 29.9%. This data agrees with those reported by Siqueira et al. (2012), in which a range from 15.9 to 47.5% of yield was obtained in the extraction of pectin from pequi peel flour when similar extraction conditions were employed (60 – 84 min/ 74 – 92 °C/ 2 – 8% citric acid). Similar yield values (up to 20.8%) were also found for pectins extracted from pequi peel flours under microwave heating (52 – 108 °C/ 317 – 883 W/ 3 – 9 min) (LEÃO et al., 2018). Therefore, the yield of pectin obtained from pequi peel flour can be considered satisfactory and agrees with the values found for other fruits such as guava pulp+peel (up to 13.2%) and passion fruit peel (20%) (ABBOUD et al., 2020; MUNHOZ; SANJINEZ-ARGANDOÑA; SOARES-JÚNIOR, 2010).

During the conventional extraction of pectin, the efficiency of this process is mainly influenced by the concentration of the acid solution, time of extraction, and temperature of

extraction (ABBOUD et al., 2020; LEÃO et al., 2018; SIQUEIRA et al., 2012). The use of the acid solution, resulting in pH ranging from 1 to 3, favors the hydrolysis of insoluble into soluble pectins, increasing the yield of pectin. Also, it can reduce the molecular weight of pectins, facilitating their solubilization from the vegetable tissues and reducing their precipitation, which facilitates its release from the tissues (LEÃO et al., 2018). The increase in the temperature and time of extraction also commonly increases the yield of pectins extracted because they facilitate the release reactions of the soluble polymers in the acidic medium (SIQUEIRA et al., 2012). However, the use of strong acids and/or high temperature and time of extraction can also promote the degradation of these polymers causing alterations in their structure, besides strong acids may produce hazardous contaminants. Therefore, an equilibrium among all the variables ensures a satisfactory yield of pectin with the desirable quality (ABBOUD et al., 2020; SIQUEIRA et al., 2012).

Degree of esterification of pectin

The degree of esterification is an important criterion used in the pectin classification. It measures the amount of methylated galacturonic acid groups in relation to the total galacturonic acid groups, classifying pectins as high-methoxyl (degree of esterification > 50%) or low-methoxyl (degree of esterification < 50%). This information indicates its functional proprieties since the degree of esterification of pectin directly affects the characteristics of pectin gel formation (ABBOUD et al., 2020; GÜZEL; AKPINAR, 2019; LEÃO et al., 2018).

The pectins extracted from the pequi peel flour in the present study were of low degree of esterification, corresponding to a degree of esterification of 36.3%. This data agrees with those found by Siqueira et al. (2012), in which a range from 13.2 to 46.2% of degree of esterification was found in the pectin extracted from pequi peel flour in similar extraction conditions (60 – 84 min/ 74 – 92 °C/ 2 – 8% citric acid). However, in another study, the degree of esterification of pequi peel flours was higher than 50% using microwave heating extraction (52 – 108 °C/ 317 – 883 W/ 3 – 9 min) (LEÃO et al., 2018).

The differences observed in the degree of esterification of pectins extracted from pequi peel flour directly reflects the extraction conditions applied as well as the composition of each sample. It is expected that more severe extraction conditions, such as the high concentration of acids, high temperature, and high times of extraction used isolated or in combination, will result in the increased of pectin yield, but also increase the degree of degradation of the pectin. This can cause possible de-esterification, transforming pectin with a high degree of methylation into pectin with a low degree of methylation, among other undesirable compounds (MOURA et al., 2020; SIQUEIRA et al., 2012). These effects were clearly observed in the study conducted by Siqueira et al. (2012) in pequi peel flour, in which the experiments that

resulted in the lowest pectin yields were those that showed the highest degree of esterification. Therefore, the extraction conditions used will determine the type of pectin extracted (ABBOUD et al., 2020; SIQUEIRA et al., 2012).

Other factors that impact in the degree of esterification of pectins are related to the fruit, including the fruit species, the part of the fruit used, as well as the intrinsic composition of each sample that can vary for the same species and part of fruit due to the influence of different edaphoclimatic conditions. The effect of the part of fruit used can be observed in the study of Leão et al. (2018) with pequi peel flour produced from the whole peel (exocarp+mesocarp) and from mesocarp portion, in which higher yield of pectin and a lower degree of esterification was found in the whole peel compared to the mesocarp portion. The influence of fruit species in the yield of pectin and degree of esterification was showed in the study of Güzel e Akpınar (2019), in which pectin yield ranged from 6.1 to 13.3% and the degree of esterification ranged from 56.7 to 84.7% according to the fruits species (kiwifruit, melon, apple, pomegranate, and orange).

Low-methoxyl pectins, as the obtained in this study from the pequi peel flour, can form stable gels in the absence of sugars and a wide range of pH (2 – 6), but the presence of bivalents ions, such as calcium, is required (ABBOUD et al., 2020; SIQUEIRA et al., 2012). Therefore, this type of pectin becomes highly interesting in the elaboration of light products, especially jellies (SIQUEIRA et al., 2012), besides regular products.

Physicochemical characteristics of maracuja-do-mato jellies

Total soluble solids and pH are important parameters related to the characteristics of the jelly and affect its shelf life (LEMOS et al., 2019; VIEIRA et al., 2017).

In the maracuja-do-mato jellies, the final pH values were 3.2 and 3.3 for the formulation with pequi peel pectin and commercial pectin, respectively. These values agree with the study conducted by Viana et al. (2012) with papaya jam and different concentrations of araça-boi, in which the pH values ranged from 3.1 and 3.5. The jellies pH around 3.4 is suggested to be adequate since pH values below 3.0 can favor the syneresis occurrence (JACKIX, 1988). Besides that, this pH range found in jellies characterizes the product as acid, which contributes to the prevention of *Clostridium botulinum* growth, an important pathogenic bacterium (VIANA et al., 2012).

According to the Brazilian National Health Surveillance Agency, the content of total soluble solids in jellies must be between 62 and 65 °Brix (BRASIL, 1978). In the present study, the average value was 65 °Brix, which ensures the correct characterization of the product. Similar total soluble solids were found in other jellies such as mango (69 °Brix) (LAGO-VANZELA et al., 2011) and açai mixed with cocoa honey (65.2 °Brix) (MELO NETO

et al., 2013). The small differences in the total soluble solids among jellies can be attributed to the characteristics inherent to the raw materials.

Sensorial analysis

Acceptance test

In Table 1 are shown the average scores of sensorial attributes assessed by the acceptance test of maracuja-do-mato jellies.

Table 1. Average scores of sensorial attributes assessed by the acceptance test of maracuja-do-mato jellies made with commercial pectin (F1) and pectin extracted from pequi peel (F2).

Attribute	F1	F2	MSD[2]
Appearance	7.90±1.07[a]	7.46±1.34[b]	0.44
Aroma	7.24±1.81[a]	6.86±1.90[a]	0.44
Color	8.02±1.12[a]	7.56±1.36[b]	0.45
Flavor	7.86±1.20[a]	7.24±1.57[b]	0.53
Texture	7.62±1.14[a]	7.34±1.52[a]	0.48

Means ± standard deviation followed by the same letter do not differ significantly by the Tukey test at the 5% level of significance. MSD[2] = Minimum Significant Difference.

Significant differences were found between F1 and F2 jellies for the attributes of appearance, color, and flavor (Table 1). Pectin was the only ingredient that varied between the formulations. Then, the pectin of pequi peel seems to darken the maracuja-do-mato jelly and, consequently, interferes negatively in the appearance and color attributes of the product. The influence of pectin of pequi peel in the color of jelly was previously reported by Siqueira et al. (2012), in which the dark coloring of light mango jelly was associated with the insoluble characteristic of this pectin, resulting in its incomplete dissolution and, consequently, causing dark marks in the product. In agreement with these data, Licodiedoff et al. (2010) also reported color alterations according to the type of pectin employed in the formulation of pineapple jam.

Despite this, the appearance and color characteristics of F2 jelly obtained good acceptance by the panelists, reaching average scores between 7 (liked regularly) and 8 (liked a lot). These results agree with those reported for the pulp of acerola juice jelly (7.36) about appearance (CAETANO et al., 2012), and for umbu-caja jellies (between 7 and 8) for appearance and color attributes (OLIVEIRA et al., 2013).

Concerning the flavor, the difference between the two jelly formulations, despite significant, corresponded to only 7.9%, and it is probably associated with the compounds, such as aromatics, carried out with the pectin from the pequi peel to the jelly. For both maracuja-do-mato jellies, the average scores were between 7 (liked regularly) and 8 (liked a lot).

Similar scores were reported for this attribute in passion fruit jelly with carrots (7.5) studied by Gomes et al. (2013), as well as in pulp and peel passion fruit jellies (7,62 and 7,94, respectively) reported by Amaral et al. (2012). Therefore, maracuja-do-mato jellies can also be considered well accepted concerning this attribute.

For the aroma attribute, there was no statistical difference between the two jellies, and scores between 7 (liked regularly) and 8 (liked a lot) were found for both formulations. In light mango jelly made with pectin of pequi peel, Siqueira et al. (2012) also found average scores for aroma between 7 and 8 for the product elaborated.

Regarding the texture, both maracuja-do-mato jellies showed good gel formation, obtaining scores between 7 (liked regularly) and 8 (liked a lot). These results agree with those found for the texture attribute in jambolana jelly (7.0) (LAGO, GOMES e SILVA, 2006) and different formulations of blackberry with acerola jellies (6 to 7) (SANTOS et al 2009). Therefore, texture and the other attributes, as well as the physicochemical characteristics and composition of the jellies, together have a great influence on the acceptability of a product by consumers.

In this context, the Acceptability Index (A.I.) is considered an important indicator of the acceptance of a product, in terms of its sensorial properties. Thus, A.I. values of at least 70% are considered necessary to a product be considered with good acceptance (TEIXEIRA; MEINERT; BARBETTA, 1987). In Table 2 are shown the A.I. of the sensorial attributes and overall impression of the two maracuja-do-mato jellies.

Table 2. Acceptability index (%) of maracuja-do-mato jellies made with commercial pectin (F1) and pectin extracted from pequi peel (F2).

Attribute	F1 (%)	F2 (5)
Appearance	87.8	82.9
Aroma	80.4	76.2
Color	89.1	84.0
Flavor	87.3	80.4
Texture	84.7	81.6
Overall impression	87.8	83.3

As shown in Table 2, all the sensorial attributes of maracuja-do-mato jellies presented A.I. values higher than 70%, in which only the aroma for the F2 jelly showed A.I. below 80%. Therefore, these results allow us to suggest the possibility of commercial insertion of maracuja-do-mato jelly produced with pectin from the pequi peel. In agreement with the results found in the present study, A.I. varying from 74.1 to 86.6% were verified in peppermint jelly produced with pectin from the pequi peel (LIMA et al., 2017), while A.I. varying between 80 and 97% were found in jellies of guava with passion fruit (ZOTARELLI; ZANATTA; CLEMENTE, 2008). In both studies, the developed jellies were also well accepted.

Following the same tendency observed for the specific sensorial attributes evaluated, the A.I. for the overall impression for both jellies were below 80%, indicating good acceptance of both maracuja-do-mato jellies by the panelists. In the overall impression, no panelists gave the scores 1 (dislike extremely), 2 (dislike a lot), or 3 (dislike regularly) for any of the maracuja-do-mato jellies. Also, score 9 (like extremely) was attributed by 32 and 30% of the panelists for the F2 and F1 jelly, respectively. In pepper with pineapple jellies, the percentage of score 9 was only 24% (ARAÚJO et al., 2012). Therefore, these results reinforce the good acceptance of the maracuja-do-mato jelly produced with pectin from pequi peel.

Purchase intention test

The sensorial analysis is an important and effective means to better understand the consumer's opinion and its intention to buy concerning a new product. In this sense, assess the purchase intention of a product by panelists brings important information about this issue (MINIM, 2018).

According to the purchase intention test, the highest frequency of scores attributed by the panelists for the F2 jelly was 4 (probably would buy) and 5 (certainly would buy). It means that 61.2%, considering the sum of these two categories, have a strong intention to buy the formulation from sample F2. Similar results were reported for Japanese quince jelly (66%) (PEREIRA et al., 2011) and araça-boi jellies (74%), also indicating the high intention of panelists to buy the products (VIANA et al., 2012). Besides that, it is also important to highlight that no panelists gave the scores 1 (certainly would not by) or 2 (probably would not by) for the F2 jelly, while 2% of the panelists attributed the score 1 for the F1 jelly.

CONCLUSION

In this study, the yield (29.9%) as well as the degree of esterification of the pectin (36.3%) obtained from the pequi peel were satisfactory in the established extraction conditions (8% citric acid, 74 °C, and 60 min). Regarding the sensorial analysis, maracuja-do-mato jelly with pequi peel pectin has great consumption potential, since all sensory quality attributes evaluated presented acceptability indexes above 70%, which is considered a good indicator of acceptance in the consumer market. Thus, the extraction of pectin from the pequi peel is a way of using this co-product, being an alternative to avoid environmental pollution resulting from disposal in an inappropriate place.

REFERÊNCIAS

1. ABBOUD, K. Y. et al. High methoxyl pectin from the soluble dietary fiber of passion fruit peel forms weak gel without the requirement of sugar addition. **Carbohydrate Polymers**, v. 246, n. June, p. 116616, out. 2020.

2. AMARAL, D. A; PEREIRA, M. L. S.; FERREIRA, C. C.; GREGÓRIO E. L. Análise sensorial de geleia de polpa e de casca de maracujá. **HU Revista**, v. 38, n. 3, p. 181–186, 2012.

3. ARAÚJO, E. R. et al. Elaboração e análise sensorial de geléia de pimenta com abacaxi. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 14, n. 3, p. 233–238, 2012.

4. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada n°12, de 24 de Julho de 1978. Normas Técnicas Relativas a Alimentos e Bebidas. Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil, Brasília, DF, 1978.

5. CAETANO, P. K.; DAIUTO, É. R.; VIEITES, R. L. Característica físico-química e sensorial de geleia elaborada com polpa e suco de acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 3, p. 191–197, 2012.

6. GOMES, R. B.; SANTOS, M. B.; CARDOSO R. L.; TAVARES J. T. Q.; CUNHA, D. S. Elaboração e avaliação físico-química e sensorial de geleia de maracujá com cenoura. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 2765–2770, 2013.

7. GÜZEL, M.; AKPINAR, Ö. Valorisation of fruit by-products: Production characterization of pectins from fruit peels. **Food and Bioproducts Processing**, v. 115, p. 126–133, maio 2019.

8. JACKIX, M. H. **Doces, Geléias e Frutas em Caldas: Teórico e Prático**. Campinas: Editora UNICAMP, 1988.

9. LAGO-VANZELA, E. S. et al. Chemical and sensory characteristics of pulp and peel “cajá-manga” (Spondias cytherea Sonn.) jelly. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 398–405, 2011.

10. LAGO, E. S.; GOMES, E.; DA SILVA, R. Production of jambolan (Syzygium cumini Lamarck) jelly: Processing, physical-chemical properties and sensory evaluation. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 847–852, 2006.

11. LEÃO, D. P. et al. Potential of pequi (Caryocar brasiliense Camb.) peels as sources of highly esterified pectins obtained by microwave assisted extraction. **LWT**, v. 87, p. 575–580, jan. 2018.

12. LEMOS, D. M. et al. Elaboração e caracterização de geleia prebiótica mista de jabuticaba e acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, p. 1–13, 2019.

13. LICODIEDOFF S, GODOY RCB, AQUINO AD, V. E. Geleia de Abacaxi: influência do tipo de pectina nas alterações físico-químicas durante o armazenamento. **Comunicado Técnico 143, EMBRAPA**, 2010.

14. LIMA, C. M. G.; SANTOS, J. J.; MIRANDA R. F.; VIANA, R. B. B.; SANTOS, M. S.; BARBOSA, E. A. Aceitabilidade de geleia de pimenta dedo-de-moça com pectina da casca do pequi. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 03, n. 6, p. 786–791, 2017.

15. MARIĆ, M. et al. An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. **Trends in Food Science and Technology**, v. 76, n. March, p. 28–37, 2018.

16. MEILGAARD, M.; CIVILLE, & V.; CARR, B. T. (1988). **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton: CRC Press.

17. MELO NETO, B. A. et al. Chemical, physico-chemical and sensory characterization of mixed açai (Euterpe oleracea) and cocoa´s honey (Theobroma cacao) jellies. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 587–593, 2013.

18. MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa: Editora UFV, 2018.

19. MOURA, F. A. et al. Partially hydrolyzed pectin extracted from passion fruit peel: Molar mass and physicochemical properties. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 21, p. 100206, jan. 2020.

20. MUNHOZ, C. L.; SANJINEZ-ARGANDOÑA, E. J.; SOARES-JÚNIOR, M. S. Extração de pectina de goiaba desidratada. **Food Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 119–125, mar. 2010.

21. OLIVEIRA, D. F. et al. Alternativas para um produto cárneo mais saudável: uma revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 3, p. 163–174, 2013.

22. PEREIRA, G. G., ALVARENGA A. A., ABRAHÃO, E., PINHEIRO A. C. M., OLIVEIRA, A. F., PIO, R. Avaliação sensorial de geleia de marmelo 'Japonês' em diferentes concentrações de sólidos solúveis totais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 03, p. 226–231, 2011.

23. SANTOS M. S., CARNEIRO P. I. B., WOSIACKI G., PETKOWICZ C. L. O., C. E. B. B. Physicochemical characterization, extraction and analysis of pectins from fruit of campomanesia xanthocarpa B. (Gabiroba). **Semina:Ciencias Agrarias**, v. 30, n. 1, p. 101–106, 2009.

24. SIQUEIRA, B. S. et al. Pectina extraída de casca de pequi e aplicação em geleia light de manga. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 560–567, jun. 2012.

25. SOARES-JÚNIOR, M. S. et al. Qualidade de biscoitos formulados com diferentes teores de farinha de casca de pequi. **Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)**, v. 39, n. 2, p. 98–104, 2009.

26. SOLER, M. P. Processamento industrial. In: SOLER, M. P. (coord). **Industrialização de geléias.** Campinas: ITAL, 1991.

27. TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. **Análise sensorial de alimentos.** Florianópolis: Editora UFSC, 1987.

28. TORRES, L. R. O. et al. Bioactive compounds and functional potential of pequi (Caryocar spp.), a native Brazilian fruit: a review. **Grasas y Aceites**, v. 69, n. 2, p. 257, jun. 2018.

29. VIANA, E. S; JESUS, J. L.; REIS, R. C.; FONSECA, M. D.; SACRAMENTO, C. K. Caracterização fisico-química e sensorial de geleia de mamão com araçá-boi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, p. 1154–1164, 2012.

30. VIEIRA, A. F. et al. Avaliação físico-química e de textura instrumental de geleia mista de jabuticaba e pitanga. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 7, n. 2, p. 407–410, 2017.

31. ZOTARELLI M. F, ZANATTA C. L. CLEMENTE, E. Avaliação de geléias mistas de goiaba e maracujá. **Revista Ceres**, v. 55, n. 6, p. 562–567, 2008.

21

Metatranscriptoma em alimentos: o impacto da a expressão gênica do microbioma na saúde humana

- Diego Lisboa **Rios**
  UFMG
- Silvia de Siqueira **Costa**
  UNIFENAS
- Thiago Araújo **Andrade**
  UFMG
- Paula Margarita Salazar **Torres**
  UFSJ
- Lucas Roberto da **Silva**
  UFSJ
- Pedro Gontijo **Carneiro**
  UFMG
- Cássio Siqueira Souza **Cassiano**
  UFSJ
- Welington Ribeiro Aquino **Marques**
  UFOP
- João Batista **Matos Júnior**
  IFAC
- Fabyola Antunes Gonçalves **Souza**
  UFOP

doi 10.37885/201001889

RESUMO

Objetivo: Comparar e concatenar o estado da arte em metatranscriptômica, discutindo todos os estudos de metatranscriptoma em alimentos disponíveis até então, e seus impactos na saúde humana. **Resultados:** Mesmo sendo uma tecnologia nova, hoje existem 1.357 resultados para a pesquisa usando o termo "*metatranscriptome*" no site de buscas NCBI PUBMED. Apesar disto, existem apenas 36 resultados para pesquisa deste termo relacionado a alimentos. Alimentos fermentados estão associados a benefícios para a saúde humana, para além da nutrição. O metatranscriptoma aplicado à alimentos é vital para busca de marcadores moleculares de metabolitos em probióticos e patógenos que impactam diretamente a saúde e bem estar humano. Relatamos os achados da metatranscriptômica em alimentos fermentados a carne, leite, queijo, bebidas, frutas e vegetais, kimchi, bebidas alcoólicas e a biossegurança nos alimentos. **Considerações finais:** Nesta revisão apresentamos estudos recentes que focaram no metatranscriptoma do microbioma de alimentos, sendo o ponto de partida para a identificação de sinais metabólicos críticos que têm o potencial de impactar na saúde humana.

Palavras-chave: Alimentos Fermentados, Probióticos, Patógenos, Metatranscriptoma, Saúde Humana.

INTRODUÇÃO

O estudo da ecologia microbiana dos alimentos é relevante para a indústria biotecnológica, pois é a base não apenas para o desenvolvimento de processos de fermentações, mas também para a compreensão das interações microbianas que conduzem a um processo de qualidade superior. A relação entre os alimentos e seu microbioma é fundamental para sua qualidade e segurança. Comunidades microbianas benéficas podem ser responsáveis por características reológicas e organolépticas dos alimentos fermentados. No entanto, microrganismos indesejáveis também podem estar presentes e seu crescimento pode afetar a qualidade dos alimentos, levando a deterioração ou outros problemas de segurança alimentar, impactando a saúde do consumidor. Tradicionalmente, a identificação da microbiologia nos alimentos depende de técnicas baseadas no cultivo dos microrganismos. No entanto, além de sua baixa sensibilidade, essas técnicas podem exigir fatores e condições de crescimento desconhecidos presentes em habitats naturais, mas que não são fáceis de reproduzir em meios de cultura laboratoriais. Tais limitações podem levar a uma subestimação da diversidade microbiana (Du et al., 2020).

Nas últimas décadas, houve avanços significativos nas tecnologias de sequenciamento que transformaram a condução de experimentos biológicos, particularmente em estudos de comunidades microbianas complexas. Técnicas independentes de cultivo ajudaram a mudar a maneira de estudar a ecologia microbiana dos alimentos, levando a considerar as populações microbianas como consórcios (Kim et al., 2020). A evolução adicional foi estimulada pelo advento das tecnologias de sequenciamento de alto rendimento (HTS) que, em meados dos anos 2000, se tornaram onipresentes nos estudos de ecologia microbiana. O uso da HTS implica na maior sensibilidade em comparação com os métodos tradicionais independentes de cultivo, além de ser um método quantitativo preciso.

A maior parte do HTS se concentrou no sequenciamento de DNA de comunidades inteiras, usando abordagens direcionadas, como sequenciamento de PCR-amplicon do gene 16S rRNA (ou outros genes marcadores) ou sequenciamento *shotgun* de todo o DNA disponível na amostra (metagenoma). Pesquisadores quantificaram a expressão gênica com o uso de RNAs por muito tempo, através de abordagens direcionadas, como RTqPCR. Ainda, antes do advento do sequenciamento de alto rendimento, as tecnologias de microarray também eram amplamente utilizadas para medir os níveis de expressão de transcritos conhecidos de organismos ou mesmo comunidades microbianas (Pangallo et al., 2019). Pelas diversas aplicações das tecnologias de Sequenciamento de nova geração (NGS) do RNA, agora é possível não apenas medir alvos de transcrição conhecidos, mas também descobrir transcritos e variantes de transcrição desconhecidas anteriormente através do metatranscriptoma.

Num curto espaço de tempo desde que foi introduzido pela primeira vez no início dos anos 2000, o número de projetos de metatranscriptômica aumentou significativamente. Em termos de aplicações, a técnica tem sido usada para caracterizar microrganismos ativos em uma comunidade (Dugat-Bony et al., 2019), descobrir novas interações microbianas (Ali et al., 2019), detectar RNA antisenso regulatório (Yi et al., 2019) e rastrear a expressão de genes, bem como determinar a relação entre vírus e seu hospedeiro (Huang et al., 2017). Apesar das diversas vantagens em se utilizar esse método, algumas desvantagens são observadas na maioria dos métodos metatranscriptômicos. O projeto experimental é crítico, a coleta de amostras é destrutiva, e é necessário material suficiente para o sequenciamento (ou experimentos robustos). Além disso, a metatranscriptômica nem sempre é capaz de capturar todo o metatranscriptoma devido em parte à complexidade (alta diversidade e proporções relativas de membros) de algumas comunidades microbianas, à grande faixa dinâmica de expressão da transcrição, à curta meia-vida do RNA e várias limitações específicas da tecnologia. No entanto, o conhecimento da expressão de microrganismos presentes nos alimentos tem impacto direto na saúde humana, uma vez que tais organismos produzem metabólitos, benéficos ou não, podendo ainda habitar o trato gastrointestinal de forma permanente (adesão ao lúmen) ou transitória (Mataragas, 2020).

Nesta revisão relatamos o estado da arte em metatranscriptômica, discutindo todos os estudos em alimentos disponíveis até então, e seus impactos na saúde humana.

REVISÃO DE LITERATURA

APLICAÇÃO DE METATRANSCRIPTÔMICA EM PRODUTOS FERMENTADOS

A metatranscriptômica tem sido aplicada a vários tipos diferentes de amostras, como ambientes aquáticos, ambientes terrestres, microrganismos humanos, interações adicionais entre animais e microrganismos, interações planta-microrganismo (Pangallo et al., 2019). Nesta seção, relatamos a metatranscriptômica na microbiologia de alimentos e seu impacto na saúde humana.

Mesmo sendo uma tecnologia nova, hoje existem 1.357 resultados para a pesquisa usando o termo “metatranscriptome” no site de buscas NCBI PUB MED. Apesar disto, existem apenas 36 resultados para pesquisa deste termo relacionado a alimentos.

METATRANSCRIPTOMA APLICADO À CARNE

A carne é considerada um excelente meio de cultura para os microrganismos devido a sua composição nutricional ideal para o crescimento de bactérias deteriorantes e organismos patogênicos (Höll et al., 2020). A avaliação do microbioma dos alimentos é um dos parâmetros mais importantes para se determinar a qualidade e a sanidade dos alimentos. Quando o crescimento microbiano não é controlado adequadamente, pode favorecer microrganismos contaminantes e potencialmente patogênicos, originários do próprio animal ou de fontes externas durante sua manipulação, armazenamento e transporte, causando prejuízos à saúde do consumidor (Duan et al., 2016).

Höll e colaboradores (2019) de forma pioneira, compararam a microbiota do peito de frango sem pele por metatranscriptoma em diferentes atmósferas contendo CO2/O2 (30/70%) e CO2/N2 (30/70%), sendo encontradas grandes quantidades de transcritos mapeados para *Photobacterium* spp. que eram alterados dependendo da atmosfera. Em contrapartida, com o metagenoma se manteve estável. Em trabalho subsequente, observaram distintas rotas metabólicas expressas *in situ* por *Brochothrix thermosphacta* e *Carnobacterium* spp. quando comparada a microbiota da carne de aves capoeiras por análise metatranscriptômica nas diferentes atmosferas (Höll et al., 2020).

Duan e colaboradores (2016) investigaram o estágio de formação de sabor durante a fermentação do molho de camarão. Os autores verificaram que o gênero *Tetragenococcus* dominou (95,1%) a amostra analisada, sendo a espécie *Tetragenococcus halophilus* identificada como responsável por 520 das 588 transcritos anotados no banco de dados NR. A ativação do ciclo do citrato e fosforilação oxidativa, juntamente com a ausência de expressão gênica da lactato desidrogenase, em *T. halophilus* sugere que provavelmente este sofreu metabolismo aeróbico durante a fermentação do molho de camarão.

METATRANSCRIPTOMA APLICADO À BEBIDAS FERMENTADAS NO LEITE

Os produtos lácteos fermentados estão há muito tempo associados à capacidade de conferir benefícios à saúde daqueles que os consomem regularmente devido seu impacto positivo na microbiota intestinal, o que contribui para a saúde e longevidade (Metchnikoff, 1908). Os benefícios à saúde humana estão associados a presença de bactérias benéficas, chamadas atualmente de probióticos, que podem ser encontradas em produtos lácteos como iogurte, queijos, koumiss e kefir, são consumidos há milhares de anos (Du et al., 2020). Conhecer o ecossistema da fermentação é vital para entender quais microrganismos e vias metabólicas são mais impactantes na qualidade, sabor, consistência e potencial probiótico dos produtos fermentados do leite.

McNulty e colaboradores (2011) verificaram que o impacto do consórcio de *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* e *Streptococcus thermophilus* no leite fermentado era mínimo quando analisada a composição do metagenoma da microbiota intestinal de camundongos. No entanto, observaram grandes mudanças quando analisaram o RNA-Seq, indicando alterações significativas na expressão de enzimas codificadas pelo microbioma e envolvidas em inúmeras vias metabólicas, com destaque àquelas relacionadas ao metabolismo de carboidratos. Outro estudo analisou a expressão gênica na produção de biofilmes em camundongos, identificando a ordem *Lactobacillales* como dos principais microrganismos habitantes dos biofilmes (62-82% das *reads* de rRNA), seguidos por *Clostridiales* (8-31% de *reads* rRNA). Com relação às vias metabólicas do biofilme da microbiota, foram identificados transcritos em alta abundância relacionados à produção glicose, consumo de maltose, degradação de peptídeos e transporte de aminoácidos, indicando serem as principais vias catabólicas e anabólicas (Schwab et al., 2014).

Sugahara e colaboradores (2015) observaram através do metatranscriptoma que o probiótico *Bifidobacterium longum* é capaz de alterar o metabolismo intestinal do hospedeiro através de modificação de toda a comunidade microbiana intestinal, modulando vías metabólicas específicas. Já Asnicar e colaboradores (2017) verificaram que a exposição precoce do bebê ao leite materno é importante na transmissão vertical e desenvolvimento final de um microbioma infantil saudável, reforçando a ideia de que o reservatório microbiano materno é uma via chave de transmissão de microbiota.

A digestão da caseína e outras proteínas do leite são um problema para algumas pessoas devido a deficiência no metabolismo da lactose. Em estudo de 2018, Hugenholtz e colaboradores identificaram bactérias probióticas que participam no catabolismo de proteínas não digeríveis como pertencentes às famílias *Lachnospiraceae, Erysipelotrichaceae e Clostridiaceae,* expressando ainda uma grande variedade de metabólitos, sendo predominantes os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no intestino.

METATRANSCRIPTOMA APLICADO AO QUEIJO

Queijos talvez sejam o alimento mais famoso e difundido no mundo, há evidências que restos de queijo feito a partir de kefir que datam de 1980-1450 A.C. (Yang et al., 2014). Características únicas da região de produção, como umidade, altitude, temperatura, e microrganismos iniciadores, bem como a composição do leite utilizado impactam diretamente na qualidade, sabor e propriedades probióticas dos queijos produzidos. Conhecer quais vias metabólicas e microrganismos estão relacionados à um queijo de melhor qualidade pode levar a produtos de excelência e livres de patógenos contaminantes. Sendo assim, pesquisas

com metatranscriptoma são de extrema importância para o crescimento do conhecimento na área (Tabela 1).

Tabela 1. Pesquisa e contribuição para o estado da arte do metatranscriptoma aplicado ao queijo

Pesquisa e contribuição para o estado da arte	Autor
Através do metatranscriptoma de queijo industrial do tipo Camembert canadense, foi analisado o metabolismo envolvido na maturação do queijo ao longo de 77 dias, que tem como principais fungos o bolor *Penicillium camemberti* e a levedura *Geotrichum candidum*. De acordo com a anotação funcional realizada, os processos predominantes durante o amadurecimento do Camembert incluem a expressão gênica das categorias C (metabolismo energético), G (metabolismo de carboidratos), E (metabolismo de aminoácidos) e I (metabolismo de lipídios) no banco de dados *euKaryotic Orthologous Groups* (KOG), que parecem participar tanto no metabolismo do bolor quanto da levedura. Além de serem os mais expressos, também podem ser considerados os mais relevantes em termos de propriedades sensoriais. Os dados de expressão relativa mostraram que essas funções ocorreram principalmente nas primeiras duas semanas do amadurecimento, sendo o período mais delicado. Foi observado ainda que o bolor, ao final do período de maturação, tem o aumento da expressão de 3-ketoacyl-coA thiolase, apontando o aumento da expressão do gene como um bom marcador para maturação ideal do queijo. Foi observado a expressão de thioesterases, decaborxilases e redutases que são responsáveis pela produção de álcoois, os quais são importantes componentes do aroma dos queijos tipo Cammembert. Posteriormente, novas análises de metatranscriptômica revelaram mudanças funcionais no microbioma causadas pela temperatura, que impactam a taxa de maturação do queijo. O aumento na temperatura de amadurecimento promoveu a expressão de genes relacionados à proteólise, lipólise e catabolismo de aminoácidos/lipídios e aumentando significativamente a taxa de maturação do queijo.	(Lessard et al., 2014ab)
Investigaram a atividade de microrganismos no queijo Reblochon por análise metatranscriptômica, observando perfis de expressão diferentes nos estágios de fermentação dos queijos.	Monnet e colaboradores (2016)
Usando dados de metatranscriptômica da comunidade microbiana durante o amadurecimento do queijo Maasdam do tipo suíço mostraram que, com exceção de *Lactococcus lactis*, o metabolismo central da microbiota foi desregulado durante o amadurecimento em câmara fria, sugerindo que menos compostos aromatizantes, como acetoína e propionato foram produzidos. Em contraste, genes de *L. lactis* relacionados ao metabolismo central, incluindo a biossíntese de vitaminas e a fermentação homolática, foram reguladas durante o amadurecimento na sala fria.	(Duru et al., 2018)
Com base nos dados metatranscriptômicos durante o amadurecimento do queijo Maasdam do tipo suíço nas temperaturas entre 20°C e 5°C, foi demonstrado que *Lactococcus lactis* subsp. lactis realiza fermentação ácida mista, produzindo lactato, formato, acetato, etanol e 2,3-butanodiol. A fermentação ácida mista foi mais pronunciada em altas temperaturas de maturação. Em baixas temperaturas de maturação, os genes envolvidos na fermentação ácida mista foram reprimidos enquanto a produção de lactato não foi afetada, semelhante a uma fermentação homolática.	(Mataragas, 2020)
Observaram a atividade transcricional de genes relacionados à proteólise bacteriana do ácido lático durante maturação de queijo, com ênfase em quatro genes (*prtP* , *pepX* , *pepN* e *bcaT*) responsáveis pela produção de compostos voláteis aroma-ativos a partir de proteínas do leite por bactérias ácido láticas (BALs). O gênero *Lactococcus*. foi o principal gênero do grupo das BALs associado à essa atividade metabólica, no entanto os resultados também forneceram informações sobre o papel e as propriedades dos membros do gênero *Lactobacillus*, como *L. ramhamusus, L. helveticus, L. pentosus, L. curvatus, L. parabuchneri, L. plantarum, L. brevis, L. delbrueckii, L. paracasei, L. fermentum e L. heilongjiangensis*, cujos os genes relacionados à proteólise estavam ativos durante o amadurecimento do queijo.	(Pangallo et al., 2019)
Observaram o efeito da substituição parcial de cloreto de sódio por cloreto de potássio nas características dos microrganismos, bioquímicas e sensoriais de queijos semiduros e macios.	(Dugat-Bony et al., 2019)

METATRANSCRIPTOMA APLICADO À BEBIDAS FERMENTADAS

O chá Oolong é uma bebida parcialmente fermentada tradicionalmente produzida em Taiwan. Muitos estudos demonstraram os benefícios do chá Oolong na inibição da obesidade, na redução da deposição da placa dentária, no antagonismo das respostas imunes alérgicas e no alívio dos efeitos do envelhecimento (Huang et al., 2017). Peptídeos antimicrobianos (AMPs), geralmente contendo de 12 à 100 aminoácidos são componentes cruciais do sistema imunológico inato e podem proteger o hospedeiro de várias bactérias e vírus patogênicos. Para compreender a relação entre quatro chás Oolong de Taiwan, suas comunidades bacterianas e seu possível efeito protetor, foi criado um *pipeline* em bioinformática para identificar os AMPs e seus tipos funcionais baseados em análises de metagenômica e metatranscriptômica. Os resultados da análise revelaram que o chá Oriental Beauty exibia maior diversidade

entre os chás, sendo que os resultados das análises metatranscriptômicas ainda revelaram que as espécies de bactérias mais ativas em todos os tipos de chá foram *Escherichia coli, Bacillus subtilis*, e *Chryseobacterium* sp. StRB126 (Huang et al., 2017).

METATRANSCRIPTOMA APLICADO À FRUTAS E VEGETAIS

A fermentação de alimentos, apesar de associada frequentemente com leite e carne, também ocorre em outros alimentos como cereais, vegetais, frutas, chás, bebidas alcoólicas, entre outros. No entanto, como no caso do leite e da carne, a avaliação dos microrganismos é importante para se determinar a qualidade do microbioma e a ausência de patógenos (Weckx et al., 2010).

Saminathan e colaboradores (2018) usaram análise metagenômica 16S e metatranscriptômica para a investigação da atividade de bactérias na decomposição de melancias vermelhas (PI459074, Congo e SDRose) e cultivares amarelas (PI227202, PI435990 e JBush). Dados metagenômicos mostraram que as proteobactérias eram abundantes em SDRose e PI227202, enquanto as cianobactérias eram mais abundantes no Congo e PI4559074. No entanto, nos dados de metatranscriptoma o filo Proteobacteria foi a mais expressa em todas cultivares.

Na fermentação espontânea de trigo, a expressão gênica de toda a comunidade microbiana durante a atividade metabólica foi analisada, revelando que a ativação de diferentes vias metabólicas chave, bem como a capacidade de usar outros carboidratos além da glicose (por exemplo, amido e maltose) contribuiu para geração redox de compostos de equilíbrio e sabor gerado pelas LABs durante a fermentação da massa (Weckx et al., 2011).

Weckx e colaboradores (2010) compararam os resultados combinados dependente e independentes de cultura com os dados do microarray revelando o papel funcional de *Lactococcus lactis* em estágio inicial no ecossistema, e na dominância de *Pediococcus pentosaceus* na maioria das fermentações, além de *L. plantarum* e *L. fermentum*.

METATRANSCRIPTOMA APLICADO AO KIMCHI

Kimchi são condimentos fermentados típicos da culinária da Coreia, com base em hortaliças. Nam e colaboradores (2009) analisaram sua fermentação através de metatranscriptoma das BALs revelando que as composições relativas das BALs principais permaneceram inalteradas (houve menos de 1,5% de diferença entre o valor máximo e mínimo) em análise de metagenoma, No entanto, a análise de metatranscriptoma revelou diferenças significativas na expressão gênica das principais BALs durante a fermentação (as composições relativas mudaram de 2,4% para 9,5%). Ainda foi relatado que microrganismos menos abundantes (inferiores a 5% na análise metagenômica) tiveram expressão gênica relativamente alta na fermentação do kimchi, reforçando a importância do metatranscriptoma.

Em outro trabalho, Jung e colaboradores (2013) extraíram o mRNA total de amostras de kimchi colhidas em cinco momentos durante uma fermentação de 29 dias. Os mRNA foram mapeadas contra os genomas das seis principais linhagens de BALs. Observaram que *L. mesenteroides* foi mais ativo durante o estágio inicial fermentação, enquanto a expressão gênica por *L. sakei* e *W. koreensis* foram altos durante as fases posteriores. Entretanto, verificaram que a expressão gênica por *L. sakei* diminui rapidamente durante os 25 dias de fermentação, possivelmente causada por infecção bacteriófago de *Lactobacillus* spp.

Kim e colaboradores (2014) identificaram com sucesso uma quantidade substancial de sequências de vírus de RNA de plantas em kimchi, colhidas em cinco momentos durante uma fermentação. Propuseram ainda que dados de metatranscriptoma podem servir como um recurso valioso para a detecção de RNA viral, e uma triagem sistemática dos ingredientes pode ajudar a impedir o uso de materiais de baixa qualidade infectados por vírus para produção de alimentos.

Em 2017, Chun e colaboradores realizaram o primeiro estudo que se propôs a investigar a genômica e características metabólicas de *L. mesenteroides* por meio de pan-genômica e análises metatranscriptômicas, a fim de fornecer informações sobre seu genoma, características metabólicas e uma melhor compreensão das fermentações kimchi por *L. mesenteroides.* Já em 2018, Jeong e colaboradores investigaram através de análise transcricional as características fermentativas de *W. koreensis* do kimchi. Identificaram que *W. koreensis* é o principal responsável pela fermentação do kimchi com a produção de vários metabólitos fermentativos durante a fermentação tardia, sendo o primeiro estudo a investigar os fatores genômicos e metabólicos característicos de *W. koreensis*.

Em análise metatranscriptômica verificaram que a expressão de *Lactobacillus sakei* estavam envolvidas no metabolismo dos carboidratos, que aumentou à medida que a fermentação do kimchi progredia, sugerindo que *L. sakei* é mais competitivo durante o estágio final da fermentação. A via de fermentação homolática foi altamente expressa e foi constante durante a fermentação do kimchi, enquanto a expressão da fermentação da via heterolática aumentou gradualmente à medida que a fermentação progrediu. L-lactato desidrogenase foi mais expressa que a d-lactato desidrogenase, sugerindo que L-lactato é o principal lactato metabolizado por *L. sakei* (Kim et al., 2020).

METATRANSCRIPTOMA APLICADO À FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Até o momento, os estudos sobre a comunidade microbiana de bebidas alcoólicas utilizando a metatranscriptoma como metodologia se concentraram na produção de licor. Licor é uma bebida alcoólica doce, composta por álcool misturado com frutas, ervas, temperos, flores, sementes, raízes, cascas de árvores, cremes e uma substância doce que pode ser

sacarose, mel ou glicose. Os licores não costumam ser envelhecidos por muito tempo, mas podem ficar algum tempo descansando até que atinjam o sabor ideal. O Jiang-flavor (JF) daqu é um iniciador de licor usado para a produção de JF baijiu, um licor destilado bem conhecido na China. Embora seja necessário um estágio de alta temperatura (70°C) para o qualificar, pouco se sabe sobre sua comunidade microbiana ativa e enzimas funcionais, além de seu papel na geração de precursores de sabor para o aroma de JF baijiu (Ali et al., 2019).

Em trabalho baseado em metatranscriptômica, foram identificados fungos como *Aspergillus* e *Penicillium* como os membros microbianos mais ativos, e 230 enzimas ativas relacionadas a carboidratos foram identificadas como potenciais enzimas sacarificantes à 70°C. Notavelmente, a maioria das enzimas nas vias de carboidratos e energia identificadas apresentaram menores níveis de expressão à 70°C (JF) quando comparada àquelas à 62°C (Nong-flavor), indicando menores capacidades de sacarificação e fermentação em estágios de alta temperatura (Yi et al., 2019).

Efeito sinérgico foi observado na microbiota associada ao metabolismo do enxofre na fermentação espontânea de licor chinês. Análise metatranscriptômica nos dias 3 e 10 revelaram um total de 354 microorganismos metabolicamente ativos, sendo *Saccharomyces* e *Lactobacillus* identificados como essenciais para a produção de enxofre com base nas abundâncias dos transcritos dos principais genes e frequências de distribuição de 31 enzimas envolvidas no metabolismo do enxofre (Liu et al., 2017). Song e colaboradores (2019) identificaram que *Schizosaccharomyces pombe* pode reduzir o ácido acético produzido por *Baijiu Spontaneous* presente na microbiota de fermentação alcoólica. Também utilizando o licor chinês como sistema modelo, Wu e colaboradores (2017) usaram análise de metatranscriptoma para investigar o metabolismo da uréia na fermentação espontânea, na qual identificaram *Saccharomyces cerevisiae* como dominante na transcrição de genes para biossíntese e degradação de uréia. Em novo estudo, o gênero *Lactobacillus* foi identificado como o principal produtor do sabor caracteristico no licor chinês, através do perfil quantitativo de microbioma combinado com estatística e análise multivariada (Du et al., 2020).

Huang e colaboradores (2017), usaram o metatranscriptoma para explorar de forma abrangente os membros ativos da comunidade microbiana e os principais transcritos com funções significativas no processo de produção do iniciador de bebidas, sendo os fungos considerados os membros da comunidade mais abundantes e ativos. Relataram que melhorias na qualidade do licor se devem às descobertas de microrganismos que produzem novas enzimas ou produtos de alto valor agregado. Com base neste trabalho de metatranscriptômica, um gene da endo-β-glucanase (*NFEg16A*), que mostrou alto nível de expressão em NF. Neste, se verificou que o gene *NFEg16A* exerce importante papel na estimulação e aquisição de mais enzimas da NF. A alta termoestabilidade do gene *NFEg16A* também pode fortalecer suas aplicações

potenciais na indústria de alimentos (Ali et al., 2019). Yi e colaboradores (2018) forneceram uma maneira direta de extrair enzimas ativas de um fungo termoestável em ambiente artificial, como o iniciador de licor NF (sabor chinês Nong), sendo obtida a-amilase (gene *NFAmy13A*).

Com o objetivo de identificar microrganismos específicos relacionados à formação de precursores de carbamato de etila na fermentação em estado sólido de licor de sabor Moutai, foi feito metatranscriptoma que verificou que *Lactobacillus* spp. degradam competitivamente com leveduras a arginina através da enzima arginina desiminase, sendo a maioria das espécies de *Lactobacillus* capaz de degradar ureia. Tais resultados indicaram que o precursor da carbamato de etila (CE) nos níveis na fermentação no estado sólido podem ser controlados usando ácido lático bactérias e leveduras não convencionais (Du et al., 2018).

METATRANSCRIPTOMA APLICADO À BIOSSEGURANÇA NOS ALIMENTOS

Apesar da importância na saúde humana, apenas um trabalho tratou da análise metatranscriptômica voltada a biossegurança e da presença e impacto de patógenos na fermentação de alimentos. Yang e colaboradores (2020) abordam uma inédita estratégia de seqüência direta de RNAs seq, multiplex RTqPCR, metatranscriptoma em Nanopore MinION para Identificação de patógenos e vias metabólicas nocivas a saúde humana em alimentos e sugere seu uso para identificação rápida e precisa de patógenos e seus metabólitos nos alimentos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta revisão apresentamos estudos recentes que focaram no metatranscriptoma do microbioma de alimentos. Esses estudos são o ponto de partida para a identificação de sinais metabólicos críticos que têm o potencial de impactar na saúde humana. Esses estudos fornecem ainda uma visão sobre como as comunidades microbianas se comportam, informações que eram inimagináveis há apenas uma década. Apesar de tudo exposto, o metatranscriptoma pode vir a não representar necessariamente os produtos metabólicos finais gerados pela comunidade microbiana, podendo alguns mecanismos pós traducionais interferir no resultado final, mesmo que estes sejam raro em procariotos como as bactérias. Sugerimos que o uso do metatranscriptoma integrado com melhorias na proteômica e metabolômica devem nos permitir determinar a origem das proteínas e metabólitos produzidos pelo microbioma em diferentes condições. Por fim, sugerimos que a associação do metatranscriptoma do alimento, com o transcriptoma humano para entender como o hospedeiro interage com o microbioma seja essencial para se ter um quadro completo da saúde e dos perfis de expressão do hospedeiro com os padrões do microbioma pode ser uma das direções a seguir.

REFERÊNCIAS

1. Ali B, Yi Z, Fang Y, Chen L, He K, Liu D, Luo H, Zhao D, Zheng J, He H, Jin Y, Zhao H. Characterization of a fungal thermostable endoglucanase from Chinese Nong-flavor daqu by metatranscriptomic method. Int J Biol Macromol. 2019 Jan;121:183-190. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.09.173. Epub 2018 Sep 27. PMID: 30268756.

2. Asnicar F, Manara S, Zolfo M, Truong DT, Scholz M, Armanini F, Ferretti P, Gorfer V, Pedrotti A, Tett A, Segata N. Studying Vertical Microbiome Transmission from Mothers to Infants by Strain-Level Metagenomic Profiling. mSystems. 2017 Jan 17;2(1):e00164-16. doi: 10.1128/mSystems.00164-16. PMID: 28144631; PMCID: PMC5264247.

3. Chun BH, Kim KH, Jeon HH, Lee SH, Jeon CO. Pan-genomic and transcriptomic analyses of Leuconostoc mesenteroides provide insights into its genomic and metabolic features and roles in kimchi fermentation. Sci Rep. 2017 Sep 14;7(1):11504. doi: 10.1038/s41598-017-12016-z. PMID: 28912444; PMCID: PMC5599536.

4. Du H, Song Z, Xu Y. Ethyl Carbamate Formation Regulated by Lactic Acid Bacteria and Non-conventional Yeasts in Solid-State Fermentation of Chinese Moutai-Flavor Liquor. J Agric Food Chem. 2018 Jan 10;66(1):387-392. doi: 10.1021/acs.jafc.7b05034. Epub 2017 Dec 21. PMID: 29232952.

5. Du R, Wu Q, Xu Y. Chinese Liquor Fermentation: Identification of Key Flavor-Producing Lactobacillus spp. by Quantitative Profiling with Indigenous Internal Standards. Appl Environ Microbiol. 2020 Jun 2;86(12):e00456-20. doi: 10.1128/AEM.00456-20. PMID: 32276974; PMCID: PMC7267201.

6. Duan S, Hu X, Li M, Miao J, Du J, Wu R. Composition and Metabolic Activities of the Bacterial Community in Shrimp Sauce at the Flavor-Forming Stage of Fermentation As Revealed by Metatranscriptome and 16S rRNA Gene Sequencings. J Agric Food Chem. 2016 Mar 30;64(12):2591-603. doi: 10.1021/acs.jafc.5b05826. Epub 2016 Mar 21. PMID: 26978261.

7. Dugat-Bony E, Bonnarme P, Fraud S, Catellote J, Sarthou AS, Loux V, Rué O, Bel N, Chuzeville S, Helinck S. Effect of sodium chloride reduction or partial substitution with potassium chloride on the microbiological, biochemical and sensory characteristics of semi-hard and soft cheeses. Food Res Int. 2019 Nov;125:108643. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108643. Epub 2019 Aug 23. PMID: 31554056.

8. Duru IC, Laine P, Andreevskaya M, Paulin L, Kananen S, Tynkkynen S, Auvinen P, Smolander OP. Metagenomic and metatranscriptomic analysis of the microbial community in Swiss-type Maasdam cheese during ripening. Int J Food Microbiol. 2018 Sep 20;281:10-22. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.017. Epub 2018 May 19. PMID: 29803134.

9. Höll L, Hilgarth M, Geissler AJ, Behr J, Vogel RF. Metatranscriptomic analysis of modified atmosphere packaged poultry meat enables prediction of Brochothrix thermosphacta and Carnobacterium divergens in situ metabolism. Arch Microbiol. 2020 May 27. doi: 10.1007/s00203-020-01914-y. Epub ahead of print. PMID: 32462213.

10. Höll L, Hilgarth M, Geissler AJ, Behr J, Vogel RF. Prediction of in situ metabolism of photobacteria in modified atmosphere packaged poultry meat using metatranscriptomic data. Microbiol Res. 2019 May;222:52-59. doi: 10.1016/j.micres.2019.03.002. Epub 2019 Mar 8. PMID: 30928030.

11. Huang Y, Yi Z, Jin Y, Huang M, He K, Liu D, Luo H, Zhao D, He H, Fang Y, Zhao H. Metatranscriptomics Reveals the Functions and Enzyme Profiles of the Microbial Community in Chinese Nong-Flavor Liquor Starter. Front Microbiol. 2017 Sep 12;8:1747. doi: 10.3389/fmicb.2017.01747. PMID: 28955318; PMCID: PMC5600954.

12. Huang Y, Yi Z, Jin Y, Huang M, He K, Liu D, Luo H, Zhao D, He H, Fang Y, Zhao H. Metatranscriptomics Reveals the Functions and Enzyme Profiles of the Microbial Community in Chinese Nong-Flavor Liquor Starter. Front Microbiol. 2017 Sep 12;8:1747. doi: 10.3389/fmicb.2017.01747. PMID: 28955318; PMCID: PMC5600954.

13. Hugenholtz F, Davids M, Schwarz J, Müller M, Tomé D, Schaap P, Hooiveld GJEJ, Smidt H, Kleerebezem M. Metatranscriptome analysis of the microbial fermentation of dietary milk proteins in the murine gut. PLoS One. 2018 Apr 17;13(4):e0194066. doi: 10.1371/journal.pone.0194066. PMID: 29664912; PMCID: PMC5903625.

14. Jeong SE, Chun BH, Kim KH, Park D, Roh SW, Lee SH, Jeon CO. Genomic and metatranscriptomic analyses of Weissella koreensis reveal its metabolic and fermentative features during kimchi fermentation. Food Microbiol. 2018 Dec;76:1-10. doi: 10.1016/j.fm.2018.04.003. Epub 2018 Apr 10. PMID: 30166128.

15. Jung JY, Lee SH, Jin HM, Hahn Y, Madsen EL, Jeon CO. Metatranscriptomic analysis of lactic acid bacterial gene expression during kimchi fermentation. Int J Food Microbiol. 2013 May 15;163(2-3):171-9. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.02.022. Epub 2013 Mar 6. PMID: 23558201.

16. Kim DS, Jung JY, Wang Y, Oh HJ, Choi D, Jeon CO, Hahn Y. Plant RNA virus sequences identified in kimchi by microbial metatranscriptome analysis. J Microbiol Biotechnol. 2014 Jul;24(7):979-86. doi: 10.4014/jmb.1404.04017. PMID: 24836186.

17. Kim KH, Chun BH, Baek JH, Roh SW, Lee SH, Jeon CO. Genomic and metabolic features of Lactobacillus sakei as revealed by its pan-genome and the metatranscriptome of kimchi fermentation. Food Microbiol. 2020 Apr;86:103341. doi: 10.1016/j.fm.2019.103341. Epub 2019 Sep 23. PMID: 31703875.

18. Lessard MH, Viel C, Boyle B, St-Gelais D, Labrie S. Metatranscriptome analysis of fungal strains Penicillium camemberti and Geotrichum candidum reveal cheese matrix breakdown and potential development of sensory properties of ripened Camembert-type cheese. BMC Genomics. 2014 Mar 26;15:235. doi: 10.1186/1471-2164-15-235. PMID: 24670012; PMCID: PMC3986886.

19. Liu Z, Klümper U, Liu Y, Yang Y, Wei Q, Lin JG, Gu JD, Li M. Metagenomic and metatranscriptomic analyses reveal activity and hosts of antibiotic resistance genes in activated sludge. Environ Int. 2019 Aug;129:208-220. doi: 10.1016/j.envint.2019.05.036. Epub 2019 May 23. PMID: 31129497.

20. Mataragas M. Investigation of genomic characteristics and carbohydrates' metabolic activity of Lactococcus lactis subsp. lactis during ripening of a Swiss-type cheese. Food Microbiol. 2020 May;87:103392. doi: 10.1016/j.fm.2019.103392. Epub 2019 Nov 26. PMID: 31948633.

21. McNulty NP, Yatsunenko T, Hsiao A, Faith JJ, Muegge BD, Goodman AL, Henrissat B, Oozeer R, Cools-Portier S, Gobert G, Chervaux C, Knights D, Lozupone CA, Knight R, Duncan AE, Bain JR, Muehlbauer MJ, Newgard CB, Heath AC, Gordon JI. The impact of a consortium of fermented milk strains on the gut microbiome of gnotobiotic mice and monozygotic twins. Sci Transl Med. 2011 Oct 26;3(106):106ra106. doi: 10.1126/scitranslmed.3002701. PMID: 22030749; PMCID: PMC3303609.

22. Metchnikoff E. (1908). The Prolongation of Life. New York, NY: Putnam. Monnet C, Dugat-Bony E, Swennen D, Beckerich JM, Irlinger F, Fraud S, Bonnarme P. Investigation of the Activity of the Microorganisms in a Reblochon-Style Cheese by Metatranscriptomic Analysis. Front Microbiol. 2016 Apr 20;7:536. doi: 10.3389/fmicb.2016.00536. PMID: 27148224; PMCID: PMC4837152.

23. Nam YD, Chang HW, Kim KH, Roh SW, Bae JW. Metatranscriptome analysis of lactic acid bacteria during kimchi fermentation with genome-probing microarrays. Int J Food Microbiol. 2009 Mar 31;130(2):140-6. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.01.007. Epub 2009 Jan 20. PMID: 19215993.

24. Pangallo D, Kraková L, Puškárová A, Šoltys K, Bučková M, Koreňová J, Budiš J, Kuchta T. Transcription activity of lactic acid bacterial proteolysis-related genes during cheese maturation. Food Microbiol. 2019 Sep;82:416-425. doi: 10.1016/j.fm.2019.03.015. Epub 2019 Mar 15. PMID: 31027801.

25. Saminathan T, García M, Ghimire B, Lopez C, Bodunrin A, Nimmakayala P, Abburi VL, Levi A, Balagurusamy N, Reddy UK. Metagenomic and Metatranscriptomic Analyses of Diverse Watermelon Cultivars Reveal the Role of Fruit Associated Microbiome in Carbohydrate Metabolism and Ripening of Mature Fruits. Front Plant Sci. 2018 Jan 19;9:4. doi: 10.3389/fpls.2018.00004. PMID: 29403516; PMCID: PMC5780703.

26. Schwab C, Tveit AT, Schleper C, Urich T. Gene expression of lactobacilli in murine forestomach biofilms. Microb Biotechnol. 2014 Jul;7(4):347-59. doi: 10.1111/1751-7915.12126. Epub 2014 Apr 4. PMID: 24702817; PMCID: PMC4241727.

27. Song Z, Du H, Zhang M, Nie Y, Xu Y. Schizosaccharomyces pombe can Reduce Acetic Acid Produced by Baijiu Spontaneous Fermentation Microbiota. Microorganisms. 2019 Nov 22;7(12):606. doi: 10.3390/microorganisms7120606. PMID: 31766775; PMCID: PMC6956116.

28. Sugahara H, Odamaki T, Fukuda S, Kato T, Xiao JZ, Abe F, Kikuchi J, Ohno H. Probiotic Bifidobacterium longum alters gut luminal metabolism through modification of the gut microbial community. Sci Rep. 2015 Aug 28;5:13548. doi: 10.1038/srep13548. PMID: 26315217; PMCID: PMC4552000.

29. Weckx S, Allemeersch J, Van der Meulen R, Vrancken G, Huys G, Vandamme P, Van Hummelen P, De Vuyst L. Metatranscriptome analysis for insight into whole-ecosystem gene expression during spontaneous wheat and spelt sourdough fermentations. Appl Environ Microbiol. 2011 Jan;77(2):618-26. doi: 10.1128/AEM.02028-10. Epub 2010 Nov 19. PMID: 21097589; PMCID: PMC3020550.

30. Weckx S, Van der Meulen R, Allemeersch J, Huys G, Vandamme P, Van Hummelen P, De Vuyst L. Community dynamics of bacteria in sourdough fermentations as revealed by their metatranscriptome. Appl Environ Microbiol. 2010 Aug;76(16):5402-8. doi: 10.1128/AEM.00570-10. Epub 2010 Jun 25. PMID: 20581179;PMCID: PMC2918950.

31. Wu Q, Lin J, Cui K, Du R, Zhu Y, Xu Y. Effect of Microbial Interaction on Urea Metabolism in Chinese Liquor Fermentation. J Agric Food Chem. 2017 Dec 20;65(50):11133-11139. doi: 10.1021/acs.jafc.7b04099. Epub 2017 Dec 11. PMID: 29172504.

32. Yang M, Cousineau A, Liu X, Luo Y, Sun D, Li S, Gu T, Sun L, Dillow H, Lepine J, Xu M, Zhang B. Direct Metatranscriptome RNA-seq and Multiplex RT-PCR Amplicon Sequencing on Nanopore MinION - Promising Strategies for Multiplex Identification of Viable Pathogens in Food. Front Microbiol. 2020 Apr 9;11:514. doi: 10.3389/fmicb.2020.00514. PMID: 32328039; PMCID: PMC7160302.

33. Yang Y., Anna Shevchenko, Andrea Knaust, Idelisi Abuduresule, Wenying Li, Xingjun Hu, Changsui Wang, Andrej Shevchenko. Proteomics evidence for kefir dairy in Early Bronze Age China. Journal of Archaeological Science. Volume 45. 2014. Pages 178-186, ISSN 0305-4403.

34. Yi Z, Fang Y, He K, Liu D, Luo H, Zhao D, He H, Jin Y, Zhao H. Directly mining a fungal thermostable α-amylase from Chinese Nong-flavor liquor starter. Microb Cell Fact. 2018 Feb 22;17(1):30. doi: 10.1186/s12934-018-0878-y. PMID: 29471820; PMCID: PMC5822527.

35. Yi Z, Jin Y, Xiao Y, Chen L, Tan L, Du A, He K, Liu D, Luo H, Fang Y, Zhao H. Unraveling the Contribution of High Temperature Stage to Jiang-Flavor Daqu, a Liquor Starter for Production of Chinese Jiang-Flavor Baijiu, With Special Reference to Metatranscriptomics. Front Microbiol. 2019 Mar 12;10:472. doi: 10.3389/fmicb.2019.00472. PMID: 30930875; PMCID: PMC6423406.

22

Percepção do consumidor sobre antioxidantes alimentares. sintético vs. natural

- Marina Leite **Mitterer-Daltoé**
  UTFPR
- Caroline **Marques**
  UTFPR
- Carla Cristina **Lise**
  UTFPR
- Jéssica **Bordim**
  UTFPR
- Leandra Schuatz **Breda**
  UTFPR
- Maira **Casagrande**
  UTFPR
- Vanderlei **Lima**
  UTFPR

10.37885/201102051

RESUMO

Os antioxidantes alimentares são tópico importante da ciência de alimentos, devido principalmente ao consumo de alimentos ultraprocessados, que não podem ser esquecidos e representam uma preocupação na sociedade moderna. Ao mesmo tempo, os antioxidantes naturais nos alimentos estão ganhando atenção em estudos devido aos seus aspectos de segurança alimentar, que comumente afetam as escolhas dos alimentos. Objetivo: Explorar a avaliação cognitiva dos consumidores sobre antioxidantes alimentares usando a técnica qualitativa Associação de Palavras (*Word Association*). Métodos: Dois estímulos foram fornecidos. Aos consumidores primeiro foi solicitado que escrevessem as quatro primeiras palavras que viessem à mente; descrições, associadas, pensamentos ou sentimentos ao ler “Antioxidantes alimentares”. Em um segundo momento, a palavra Natural foi adicionada e o estímulo foi “Antioxidantes alimentares naturais”. Resultados: A técnica de Associação de Palavras mostrou mais uma vez ser uma ferramenta importante para a avaliação cognitiva da percepção sobre ingredientes alimentícios. As dimensões, Saúde, Segurança Alimentar, Conservantes, Origem e Preferência que surgiram, diferenciaram os estímulos. Considerações finais: Os resultados revelaram algum conhecimento prévio sobre questões relacionadas aos antioxidantes alimentares, naturais ou não. Além disso, mostrou um claro potencial de uso dos antioxidantes naturais na indústria de alimentos, a julgar pela percepção do consumidor que os relacionaram principalmente com aspectos positivos de saúde e segurança alimentar.

Palavras-chave: Segurança Alimentar, Fontes Naturais, Percepção, Saúde, Conservantes, Associação de Palavras.

INTRODUÇÃO

Os antioxidantes alimentares são tópico de grande discussão dentro da ciência de alimentos (CÖMERT; GÖKMEN, 2018). Essa forte reivindicação deve-se principalmente ao crescente consumo de alimentos ultra processados, fato da vida moderna que não pode ser ignorado, pois eles são caracterizados pela conveniência, bem como pela longa vida útil (RIBEIRO et al., 2019), e representam uma demanda da sociedade atual (SHIM et al., 2011).

A longa vida útil para uma ampla gama de produtos é alcançada pela adição de antioxidantes. Eles previnem a rancidez causada pela oxidação de gorduras insaturadas e conservam o valor nutritivo dos alimentos evitando a oxidação de carotenos e várias vitaminas lipossolúveis. Além disso, os antioxidantes não são usados apenas como conservantes de alimentos, mas também como compostos que têm importante efeito na bioquímica do organismo humano, suprimindo processos de oxidação e prevenindo doenças crônicas relacionadas ao estresse oxidativo (CÖMERT; GÖKMEN, 2018). Nesse cenário, os antioxidantes naturais vêm ganhando grande destaque em diversos estudos nos últimos anos, como uma importante alternativa saudável para substituir os antioxidantes sintéticos que foram identificados como agentes toxicológicos e carcinogênicos em diversos estudos (KUMAR et al., 2015).

A importância dada pelos consumidores às questões de segurança alimentar (LAGERKVIST; AMUAKWA-MENSAH; TEI MENSAH, 2018; WONGPRAWMAS; CANAVARI, 2017) e alimentação saudável (CARRILLO et al., 2011; REMBISCHEVSKI; CALDAS, 2020) pode determinar o futuro potencial de qualquer ingrediente alimentar (VARELA; FISZMAN, 2013). Conforme mencionado por Grunert (2005), a percepção de qualidade e segurança pelos consumidores está fortemente relacionada à escolha de alimentos, demanda do consumidor e pode estar ligada à percepção de preço e disposição a pagá-lo (GIFFORD; BERNARD, 2011).

Estudos analisaram respostas a questões de segurança alimentar (LATORRES et al., 2016; MILES et al., 2004; RUBY et al., 2019), sobre produtos químicos em alimentos (DICKSON-SPILLMANN; SIEGRIST; KELLER, 2011) e ingredientes ou aditivos alimentares (AOKI; SHEN; SAIJO, 2010; SHIM et al., 2011; VARELA; FISZMAN, 2013). Conclusões comuns importantes foram observadas entre os estudos: Os consumidores demonstram pouco conhecimento sobre aditivos (VARELA; FISZMAN, 2013), mas têm consciência da falta de informação, dificultando o entendimento sobre aditivos alimentares (AOKI; SHEN; SAIJO, 2010; SHIM et al., 2011). Também pode ser mostrado que os consumidores estão muito preocupados com aditivos (SHIM et al., 2011; VARELA; FISZMAN, 2013) e produtos químicos em sua dieta (DICKSON-SPILLMANN; SIEGRIST; KELLER, 2011) e que a percepção de segurança alimentar dos aditivos é afetada pela consciência e conhecimento do consumidor (AOKI; SHEN; SAIJO, 2010; SHIM et al., 2011).

Outras conclusões importantes a serem destacadas são as perspectivas positivas para aditivos e ingredientes de origem natural (VARELA; FISZMAN, 2013), uma vez que a consciência do risco de produtos químicos em alimentos está positivamente correlacionada com uma preferência por aditivos naturais. Sendo assim, eles são percebidos de forma diferente de acordo com sua origem (sintético versus natural) (DICKSON-SPILLMANN; SIEGRIST; KELLER, 2011). O que aconteceu até agora é que, embora resultados bem-sucedidos tenham sido relatados, os estudos que analisaram as respostas a aditivos ou ingredientes alimentares sempre foram para aditivos em geral e não especificamente para antioxidantes.

OBJETIVO

Explorar a avaliação cognitiva de antioxidantes em alimentos por consumidores utilizando a técnica qualitativa para o consumidor Associação de Palavras (*Word Association*).

MÉTODOS

Os consumidores

Um total de 96 consumidores (52 mulheres e 44 homens) foram incluídos no estudo. Os participantes são do sudoeste do Paraná, Brasil e com idades entre 20 e 60 anos.

Teste de associação de palavras

O teste de Associação de Palavras foi aplicado de acordo com a Ares, Giménez, Gámbaro (2008) e Latorres et al. (2016). Os mesmos dois estímulos foram dados a todos os participantes. A primeira instrução foi: “Anote as quatro primeiras palavras, descrições, pensamentos ou sentimentos que vem à sua mente quando você lê *Antioxidantes de alimentos*”. Para o segundo, foi adicionada a palavra Natural e o estímulo tornou-se “Antioxidantes Naturais para alimentos”. A segunda instrução foi: “Anote as quatro primeiras palavras, descrições, pensamentos ou sentimentos que vem à sua mente quando você lê *Antioxidantes Naturais para alimentos*”.

Análise de dados

A análise dos dados foi baseada em Antmann et al. (2011). Todas as associações foram incluídas. Associações foram agrupadas em diferentes categorias, que foram então agrupadas em diferentes dimensões. O agrupamento foi feito de forma independente por cinco pesquisadores.

Depois de avaliar os dados individualmente, os investigadores se reuniram para confirmar as semelhanças em suas classificações. As categorias finais e seus nomes foram determinados por consenso entre os pesquisadores. Categorias mencionadas por mais de 5% dos participantes foram incluídos na análise. As dimensões e categorias entre estímulos foram submetidos ao teste-z, um teste de significância que permite aceitar ou rejeitar hipóteses (LATORRES et al., 2016).

Para melhor compreender e visualizar as categorias que representam cada estímulo foram aplicadas nuvens de palavra. As nuvens de palavras foram realizadas no software Orange 3.23.

RESULTADOS

Avaliação cognitiva de antioxidantes alimentares

A técnica de Associação de Palavras se apoia na hipótese de que quando o participante recebe um estímulo e é solicitado a associá-lo livremente ao que lhe vem à mente, obtemos acesso irrestrito às representações mentais que os estímulos proporcionam. As primeiras associações que vêm à mente dos participantes são consideradas as mais relevantes (LATORRES et al., 2016; ROININEN; ARVOLA; LÄHTEENMÄKI, 2006; VARELA; FISZMAN, 2013).

A Tabela 1 mostra as dimensões e categorias obtidas a partir dos resultados da associação de palavras. Sete dimensões foram construídas por consenso entre os cinco pesquisadores que participaram da análise dos dados. Além disso, palavras com significados semelhantes foram agrupadas na mesma categoria. As dimensões que surgiram com base nos estímulos foram: Saúde, Conservantes, Atributos sensoriais, Segurança Alimentar, Fonte e Preferência.

Tabela 1. Frequência das dimensões e categorias dos estímulos: "Antioxidantes de alimentos" e "Antioxidantes naturais de alimentos".

Dimensões e categorias	Antioxidante de alimentos	Antioxidantes Naturais	Teste-Z
SAÚDE	**71**	**86**	**2,804**
Prejudicial à saúde	38	0	6,883
Antienvelhecimento	9	10	0,242
Saudável	18	56	5,635
Bem estar	2	11	2,585
Prevenção de doenças	4	9	1,436
CONSERVANTES	**70**	**28**	**6,063**
Ranço	10	0	3,248
Radicais livres	6	5	0,311
Estabilidade	14	13	0,208
Preservação	29	10	3,408
Validade	11	0	3,416
ATRIBUTOS SENSORIAIS	**8**	**6**	**0,555**
Sabor	8	6	0,555
SEGURANÇA ALIMENTAR	**46**	**49**	**0,433**
Segurança alimentar	7	18	2,359
Confiabilidade	0	10	3,248
Desconfiança	21	14	1,308
Desconhecido	7	7	0,000
Falta de confiança	11	0	3,416
FONTE	**43**	**53**	**1,443**
Frutas	4	14	2,476
Plantas	2	12	2,776
Natural	2	27	5,038
Sintético	35	0	6,542
PREFERÊNCIA	**0**	**12**	**3,578**
Melhor	0	12	3,578

Z critico= 1,96, Número de consumidores = 96

Para melhor compreender a preferência e as categorias que representam cada estímulo, foi aplicado um mapa de nuvens de palavras (Figuras 1 e 2). Nuvens de palavras são mapas gráficos que mostram palavras em proporção dependendo de sua frequência de uso (FRUNZEANU, 2015; JIN, 2017).

Figura 1. Nuvem de palavras das categorias que apareceram no estímulo “Antioxidantes Alimentares”.

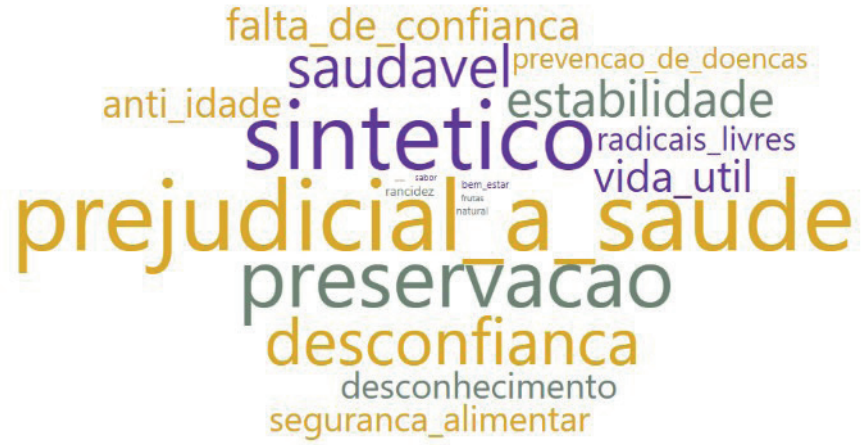


Figura 2. Nuvem de palavras das categorias que apareceram do estímulo “Antioxidantes naturais de alimentos”.

DISCUSSÃO

O que se percebe é que “Antioxidante Alimentar” ou “Antioxidante Alimentar Natural” são estímulos claramente relacionados às questões de saúde pelos consumidores, a julgar pelo número de categorias que compõem a dimensão Saúde e pela frequência de menções para cada categoria (Tabela 1).

A percepção negativa de saúde para o estímulo “Antioxidante Alimentar” é claramente percebida pela categoria nociva à saúde, citada por 39,6% dos participantes. Quando a palavra Natural foi adicionada, a percepção foi direcionada para uma percepção positiva de saúde vista pelas categorias Saudável e Bem-estar.

Em outras palavras, os aditivos antioxidantes alimentares são vistos como prejudiciais à saúde e os aditivos antioxidantes naturais como mais saudáveis. De acordo com Carrillo et al. (2011) e Clarke, Best (2017) a percepção positiva de benefícios à saúde é importante

para a indústria de alimentos, uma vez que a percepção de saúde de um determinado alimento influencia positivamente o comportamento de compra. Portanto, desse ponto de vista os resultados devem estimular as indústrias de alimentos a utilizar antioxidantes naturais dos alimentos.

Outra dimensão que pode estar relacionada à percepção de saúde é a Segurança Alimentar. Esta dimensão também corrobora a percepção mais saudável dada pelo estímulo "Antioxidante Natural Alimentar" avaliada pelas diferenças encontradas entre os estímulos nas categorias: Segurança Alimentar, Confiabilidade e Falta de confiança. Essas categorias deixaram claro que, para os consumidores, os antioxidantes alimentares não são percebidos como confiáveis e seguros, e quando a palavra natural foi adicionada uma melhor percepção foi observada.

A relação entre segurança alimentar e confiabilidade foi previamente registrada na literatura (DE JONGE et al., 2008; LAGERKVIST; AMUAKWA-MENSAH; TEI MENSAH, 2018; LATORRES et al., 2016). Estudos também indicam que a segurança alimentar tem impacto na disposição em pagar dos consumidores (RICCIOLI et al., 2020), apontando que os consumidores atribuem um valor mais alto para alimentos mais seguros (WONGPRAWMAS; CANAVARI, 2017). Essa disposição de pagar por uma alimentação mais segura também sugere um bom mercado alimentar potencial para o uso de antioxidantes alimentares naturais com base nas categorias otimistas relacionadas a este estímulo, Segurança Alimentar e Confiabilidade.

As categorias otimistas indicam o quanto os consumidores estão satisfeitos com a segurança dos alimentos, mas vale destacar que a categoria Desconfiança apareceu para ambos os estímulos sem diferenças. Esse comportamento está de acordo com os apontamentos de De Jonge et al. (2008). Os autores destacaram que o conceito de confiabilidade do consumidor em segurança alimentar é bidimensional e que o sentimento de otimismo e pessimismo podem coexistir, mas que devem ser considerados conceitos distintos, e sempre dependentes e relacionados. Portanto, as categorias Segurança alimentar, Confiabilidade, Desconfiança, Desconhecido e Falta de confiança obtidas pela técnica de Associação de Palavras podem representar individualmente cada estímulo sobre questões de segurança alimentar, mas a relação entre as categorias não pode ser negligenciada.

A dimensão Fonte também ofereceu uma abordagem interessante para os estímulos que mais uma vez se relaciona com questões de saúde e segurança alimentar. A ascensão das categorias Natural e Sintética representa claramente a percepção do consumidor sobre a fonte de cada estímulo. Quando o estímulo "Antioxidante Alimentar" foi dado, os participantes vincularam-se a uma fonte sintética desse ingrediente alimentar. Quando a palavra Natural foi adicionada ao estímulo, a categoria Natural obteve um aumento acentuado. Para

os consumidores, as fontes naturais dos “Antioxidantes Alimentares Naturais” são representadas principalmente por frutas e plantas.

As diferenças expressas com a menção de fontes Sintéticas e Naturais entre os estímulos representam uma boa notícia, para o potencial uso de antioxidantes alimentares naturais pela indústria. De acordo com Dickson-Spillmann, Siegrist, Keller (2011) os consumidores expressam preocupação com os produtos químicos em sua dieta e percebem os aditivos de forma diferente de acordo com sua origem. Estes autores também destacaram que a percepção de risco de produtos químicos nos alimentos estava positivamente correlacionada com uma preferência por alimentos naturais.

Os conservantes foram outra dimensão que emergiu dos estímulos dados. Essa dimensão foi gerada pelas categorias Ranço, Radicais livres, Estabilidade, Preservação e Prazo de validade, que revelaram que o consumidor sabe para que serve e tem consciência da aplicação de antioxidantes nos alimentos. Esse conhecimento foi significativamente melhor quando relacionado ao primeiro estímulo, com 70 menções.

Ao ser dado o segundo estímulo e acrescentada a palavra natural, o que se verifica é que essa dimensão deixou de figurar entre as principais percepções dos consumidores. Porém, vale ressaltar que esse comportamento não indica que os participantes não pensem que a conservação não seja função do antioxidante natural. O que acontece é que as associações mudaram o foco principal.

Até o momento, as discussões destes resultados mostraram que os antioxidantes naturais dos alimentos são bem percebidos pelos consumidores e têm bom potencial para o mercado e/ou indústria de alimentos. Além disso, a avaliação cognitiva dos antioxidantes alimentares pela técnica de Associação de Palavras também mostrou claramente uma preferência entre os estímulos. A dimensão Preferência gerada pela categoria Melhor apareceu 12 vezes quando o segundo estímulo com a palavra Natural foi dado, corroborando a avaliação das dimensões anteriores.

Os mapas gráficos (Figuras 1 e 2) mostraram as categorias mais citadas para ambos os estímulos. Como o tamanho da fonte representa o número de menções por parte dos consumidores, um padrão pode ser percebido: o estímulo “Antioxidante Alimentar” está diretamente relacionado a uma preocupação com os danos à saúde e às fontes sintéticas. Ao mesmo tempo, os consumidores também estão cientes de que os antioxidantes alimentares têm funções conservantes. Por outro lado, o estímulo “Antioxidante natural” está diretamente relacionado a uma percepção de saúde e segurança alimentar, provavelmente decorrente de fonte natural.

CONCLUSÃO / CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método de Associação de Palavras se mostrou uma importante ferramenta para avaliação cognitiva da percepção de antioxidantes alimentares. Para o presente estudo, os resultados indicaram uma clara diferença na percepção entre os estímulos dados. Saúde, Segurança Alimentar, Conservantes, Origem e Preferência foram as dimensões que surgiram e diferenciaram os estímulos.

Os resultados revelaram algum conhecimento prévio sobre questões relacionadas aos antioxidantes alimentares, naturais ou não, e surgiram como um ponto de partida para explorar mais feedback dos consumidores. Estudos futuros precisam explorar o conhecimento do consumidor, as ações decorrentes e os traços demográficos sobre o tema antioxidantes alimentares, uma vez que se sabe que esses temas determinam o futuro comercial de qualquer ingrediente alimentar. O estudo mostrou um claro potencial de uso de antioxidantes alimentares naturais pela indústria de alimentos, a julgar pela percepção do consumidor que os relacionaram cognitivamente aos aspectos positivos da saúde e segurança alimentar.

REFERÊNCIAS

1. ANTMANN, G.; ARES, G.; SALVADOR, A.; FISZMAN, S. M. Exploring and Explaining Creaminess Perception: Consumers' Underlying Concepts. **Journal of Sensory Studies**, v. 26, n. 1, p. 40–47, 2011. http:// dx.doi.org/10.1111/j.1745-459X.2010.00319.x

2. AOKI, K.; SHEN, J.; SAIJO, T. Consumer reaction to information on food additives: Evidence from an eating experiment and a field survey. **Journal of Economic Behavior & Organization**, v. 73, n. 3, p. 433–438, 2010. http://dx.doi.org/10.1016/j.jebo.2009.11.007

3. ARES, G.; GIMÉNEZ, A.; GÁMBARO, A. Understanding consumers' perception of conventional and functional yogurts using word association and hard laddering. **Food Quality and Preference**, v. 19, n. 7, p. 636–643, 2008. https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2008.05.005

4. CARRILLO, E.; VARELA, P.; SALVADOR, A.; FISZMAN,A. Main Factors Underlying Consumers' Food Choice: A First Step for the Understanding of Attitudes Toward "Healthy Eating". **Journal of Sensory Studies**, v. 26, n. 2, p. 85–95, 2011. http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-459X.2010.00325.x

5. CLARKE, C.; BEST, T. Low-carbohydrate, high-fat dieters: Characteristic food choice motivations, health perceptions and behaviours. **Food Quality and Preference**, v. 62, p. 162–171, 2017. http://dx.doi. org/10.1016/j.foodqual.2017.07.006

6. CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. **Food Research International**, v. 105, p. 76–93, 2018. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.056

7. DE JONGE, J.; TRIP, H.V.; GODDARD, E.; FREWER, L. Consumer confidence in the safety of food in Canada and the Netherlands: The validation of a generic framework. **Food Quality and Preference**, v. 19, n. 5, p. 439–451, 2008. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2008.01.002

8. DICKSON-SPILLMANN, M.; SIEGRIST, M.; KELLER, C. Attitudes toward chemicals are associated with preference for natural food. **Food Quality and Preference**, v. 22, n. 1, p. 149–156, 2011. http://dx.doi.org/10.1016/j. foodqual.2010.09.001

9. FRUNZEANU, M. Using wikis, word clouds and web collaboration in romanian primary schools. **Procedia: Social and Behavioral Sciences**, v. 180, p. 580–585, 2015. http://dx.doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.02.163

10. GIFFORD, K.; BERNARD, J. C. The effect of information on consumers' willingness to pay for natural and organic chicken. **International Journal of Consumer Studies**, v. 35, n. 3, p. 282–289, 2011. http:// dx.doi.org/10.1111/j.1470-6431.2010.00929.x

11. GRUNERT, K. G. Food quality and safety: consumer perception and demand. **European Review of Agricultural Economics**, v. 32, n. 3, p. 369–391, 2005. http://dx.doi.org/10.1093/eurrag/jbi011

12. JIN, Y. Development of Word Cloud Generator Software Based on Python. **Procedia Engineering**, v. 174, p. 788–792, 2017. http://dx.doi. org/10.1016/j.proeng.2017.01.223

13. KUMAR, Y.; YADAV, D. N.; AHMAD, T.; NARSAIAH, K. Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 6, p. 796–812, 2015. http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12156

14. LAGERKVIST, C. J.; AMUAKWA-MENSAH, F.; TEI MENSAH, J. How consumer confidence in food safety practices along the food supply chain determines food handling practices: Evidence from Ghana. **Food Control**, v. 93, p. 265–273, 2018. http://dx.doi.org/10.1016/j. foodcont.2018.06.019

15. LATORRES, J. M.; RANCATTI, A.; LASTA, D.; QUEIROZ, M.I.; MITTERER-DALTOÉ, M. L. Cognitive Evaluation as a Food Safety Tool – a Food Handler Case Study. **Journal of Food Safety**, v. 36, n. 4, p. 497–502, 2016. http://dx.doi. org/10.1111/jfs.12268.

16. MILES, S.; BRENNAN, M.; KUZNESOF, S.; NESS, M.; RITSON, C.; FREWER, L. J. Public worry about specific food safety issues. **British Food Journal**, v. 106, n. 1, p. 9–22, 2004. http://dx.doi.org/10.1108/00070700410515172.

17. REMBISCHEVSKI, P.; CALDAS, E. D. Risk perception related to food. **Food Science and Technology**, v. 40, n. 4, p. 779–785, 2020. https://doi.org/10.1590/fst.28219

18. RIBEIRO, J. S.; SANTOS, M. J.M.C.; SILVA, L. K. R., PEREIRA, L. C. L.; SANTOS, I. A.; LANNES. S. C. S.; SILVA, M. V. Natural antioxidants used in meat products: A brief review. **Meat Science**, v. 148, p. 181–188, 2019. http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.10.016

19. RICCIOLI, F.; MORUZZO, R.; ZHANG, Z.; ZHAO, J.; TANG. Y.; TINACCI, L.; BONCINELLI, F.; De MARTINO, D.; GUIDI, A. Willingness to pay in main cities of Zheijiang provice (China) for quality and safety in food market. **Food Control**, v. 108, p. 106831, 2020. http://dx.doi.org/10.1016/j. foodcont.2019.106831

20. ROININEN, K.; ARVOLA, A.; LÄHTEENMÄKI, L. Exploring consumers' perceptions of local food with two different qualitative techniques: Laddering and word association. **Food Quality and Preference**, v. 17, n. 1, p. 20–30, 2006. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2005.04.012

21. RUBY, G. E.; ABIDIN, U. F. U. Z.; LIHAN, S.; JAMBARI, N. N.; RADU, F. A cross sectional study on food safety knowledge among adult consumers. **Food Control**, v. 99, p. 98–105, 2019. http://dx.doi. org/10.1016/j.foodcont.2018.12.045.

22. SHIM, S.M.; SEO, S. H.; LEE, Y.; MOON, G. I.; KIM, M. S.; PARK, J. H. Consumers' knowledge and safety perceptions of food additives: Evaluation on the effectiveness of transmitting information on preservatives. **Food Control**, v. 22, n. 7, p. 1054–1060, 2011. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.01.001

23. VARELA, P.; FISZMAN, S. M. Exploring consumers' knowledge and perceptions of hydrocolloids used as food additives and ingredients. **Food Hydrocolloids**, v. 30, n. 1, p. 477–484, 2013. http://dx.doi.org/10.1016/j. foodhyd.2012.07.001

24. WONGPRAWMAS, R.; CANAVARI, M. Consumers' willingness-to-pay for food safety labels in an emerging market: The case of fresh produce in Thailand. **Food Policy**, v. 69, p. 25–34, 2017. http://dx.doi. org/10.1016/j.foodpol.2017.03.004.

23

Perfil antropométrico, hábitos de vida e avaliação do consumo alimentar dos estudantes de geologia da UFES

- Manoela Cassa **Libardi**
- Zegliany **Pinaffo**
- Flávia Vitorino **Freitas**
  UFES

10.37885/201001928

RESUMO

Objetivo: avaliar o perfil antropométrico e os hábitos de vida e avaliar o consumo alimentar dos estudantes de Geologia da UFES. **Métodos:** este trabalho teve como amostra 66 estudantes universitários. Foram avaliadas características das atividades de campo e hábitos de vida dos estudantes (consumo de álcool e tabaco e prática de atividade física), além de serem mensurados peso, altura e CC e calculado o IMC. Para a análise do consumo alimentar, foram aplicados registros alimentares para os dias comuns e dias de atividades de campo e um questionário de frequência de consumo alimentar. Foi utilizado teste T não pareado ($\alpha = 5\%$) para verificar diferença estatística significante entre as variáveis analisadas quanto ao sexo e entre o consumo observado nos dias comuns e dias de campo. O teste de Correlação de Pearson foi usado para avaliar a relação entre as variáveis IMC, CC, consumo de energia e de lipídios na dieta. **Resultados:** a população estudada apresentou-se com alta prevalência de excesso de peso, alto consumo de bebidas alcoólicas, lanches calóricos, frituras e produtos industrializados e baixo consumo de frutas. Apesar disso, foi verificado que a maioria dos estudantes não atingiu a necessidade energética e de macronutrientes em dias comuns e dias de campo. **Considerações finais:** é necessário a conscientização e o reconhecimento da importância da alimentação e de hábitos de vida saudáveis, que podem ser promovidos e incentivados por programas de educação nutricional e de saúde, estimulando hábitos que promovam saúde e qualidade de vida.

Palavras-chave: Universitários, Consumo Alimentar, Hábitos de Vida, Perfil Antropométrico.

INTRODUÇÃO

As atividades curriculares dos estudantes de Geologia são, em grande parte, práticas que incluem idas a ambientes externos. Estas aulas de campo são um importante fator para a formação profissional dos estudantes[1, 2]. Também existe o fato de que a vida universitária é caracterizada por um estilo de vida com altas prevalências de consumo de bebidas alcoólicas[3], fumo[4] e inatividade física[5].

Para se verificar o estado nutricional destes indivíduos, o Institute of Medicine – IOM[6] – recomenda o uso de diversos parâmetros, de forma a garantir resultados mais confiáveis. Para isto, Vasconcelos[7] indica a utilização de medidas e índices antropométricos para a avaliação antropométrica e de inquéritos alimentares e adequação do consumo alimentar para a avaliação do consumo dietético, levando-se em conta as necessidades nutricionais de cada indivíduo. Dentre as medidas antropométricas utilizadas para avaliação do estado nutricional estão o peso, a estatura[8], as circunferências corporais[7] e as dobras cutâneas[9] que, quando combinadas, dão origem a índices antropométricos, como o índice de massa corporal (IMC) e o índice de massa corporal por idade e sexo (IMC/I)[8].

O consumo alimentar é avaliado por métodos que estimam a ingestão habitual ou atual, quantitativo ou qualitativamente, que podem ser ainda prospectivos ou retrospectivos. Além disso, inquéritos dietéticos são métodos eficazes e de baixo custo para obtenção de informação sobre a ingestão alimentar de grupos populacionais[10]. A escolha do melhor método de estudo do consumo alimentar depende dos objetivos do trabalho e da população avaliada.

Dentre os métodos utilizados para a avaliação do consumo alimentar, aponta-se: o recordatório 24 horas, o registro alimentar, o questionário de frequência de consumo alimentar, a história dietética, dentre outros[11].

Para uma avaliação ou planejamento de dietas para indivíduos ou grupos de indivíduos saudáveis, utiliza-se um conjunto de valores de referência chamados de *Dietary Reference Intakes* (DRIs)[12]: *Estimated Average Requirement* (EAR), *Recommended Dietary Allowances* (RDA), *Adequate Intake* (AI), *Tolerable Upper Intake Level* (UL) e *Estimated Energy Requirement* (EER).

OBJETIVO

Avaliar o perfil antropométrico e os hábitos de vida e avaliar o consumo alimentar dos estudantes de Geologia da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

MÉTODOS

Tipo de estudo

Trata-se de um estudo transversal, do tipo inquérito epidemiológico, que foi realizado com os estudantes do curso de Geologia da UFES.

Amostragem e população

Os dados foram coletados nos primeiro e segundo semestres do ano de 2011. O critério de inclusão para ser admitido na pesquisa foi estar cursando disciplinas com atividades de campo do curso de Geologia da UFES no município de Alegre, ES, no primeiro semestre do ano de 2011. Os estudantes dos demais períodos foram excluídos por não terem atividades de campo. Constituíram a amostra 66 voluntários que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Instrumentos e procedimentos

Foi aplicada uma entrevista junto aos professores que ministram disciplinas com aulas de campo para obter informações sobre as atividades realizadas neste período.

Para a caracterização da amostra e conhecimento dos hábitos de vida, os voluntários do estudo responderam a uma entrevista que visava obter os seguintes dados: nome, idade, data de nascimento, sexo, período cursado na universidade, endereço, telefone, e-mail e matérias que estavam cursando com atividades de campo. Além disso, foram feitas perguntas sobre a prática de atividades físicas, consumo de álcool e hábito de fumar.

Com relação à antropometria, foram avaliados peso, altura e circunferência da cintura (CC), os quais foram aferidos por alunas do curso de Nutrição da UFES (Campus de Alegre) devidamente treinadas. A metodologia de aferição foi realizada segundo instruções preconizadas pelo Ministério da Saúde (MS). Ademais, foi calculado e analisado o índice de massa corporal (IMC).

O peso foi aferido em balança de bioimpedância portátil da marca TANITA IRONMAN® com capacidade de 150 quilogramas e graduação de 100 gramas. Para a aferição da altura, foi utilizado estadiômetro portátil da marca ALTUREXATA® com capacidade de até 2,13 metros e escala de 0,1 centímetros. Já a medida da circunferência da cintura foi com fita métrica inextensível da marca TBW® com comprimento igual a 1,5 metros e resolução de 1,0 centímetro. Esta foi realizada no ponto médio entre o último arco costal e a crista ilíaca, segundo recomendações do Ministério da Saúde.

O consumo alimentar foi avaliado em duas circunstâncias: nos dias comuns e nos dias com atividades de campo. Para os dias comuns, foi aplicado Registro Alimentar (RA) de três dias não consecutivos, abrangendo dois dias de semana e um de final de semana. Para a análise do consumo nos dias de campo, foram aplicados outros RAs, sendo: de três dias para as situações em que os alunos passavam 3 ou mais dias realizando atividades de campo e de um dia para as situações em que as atividades de campo duravam apenas um dia.

Foi elaborado e aplicado um Questionário de Frequência de Consumo Alimentar (QFCA), considerando grupos de alimentos fontes de proteínas, carboidratos, lipídios e micronutrientes.

Análise dos dados

Para a caracterização das atividades de campo do grupo estudado, foi feita a análise dos questionários aplicados aos professores.

Para se conhecer os hábitos de vida dos estudantes de geologia, foi realizada a análise dos questionários aplicados aos mesmos. Na classificação de nível de atividade física, foi utilizada a classificação de coeficientes de NAF, segundo IOM[13] e divisão por frequência de atividade física na semana.

A partir do peso e da altura, foi calculado o IMC e foram utilizados os pontos de corte propostos pela WHO[14] para avaliação do estado nutricional dos estudantes. Para a classificação das medidas mensuradas da CC foram usados os pontos de corte da WHO[14] para adultos.

A análise do consumo alimentar foi feita separadamente para os dias comuns e para os dias de campo. Para a análise quantitativa, dados obtidos nos registros alimentares foram computados de acordo com o programa de cálculo dietético AVANUTRI®, tabelas de composição de alimentos e rótulos de alimentos e, posteriormente, tabulados no programa Microsoft Office Excel 2007®. Para classificar o consumo alimentar de energia, foi considerada uma faixa de 50 calorias ± EER. Já para os macronutrientes, foi utilizada a faixa de distribuição aceitável de macronutrientes[14]. A análise qualitativa foi feita com base nas informações obtidas no QFCA.

Análise estatística

Foi utilizado o programa estatístico *GraphPad Prism*® versão 5.0. Aplicou-se o teste D'Agostino and Pearson omnibus para analisar a distribuição dos dados obtidos. Visto que a maioria destes apresentavam distribuição normal, o tratamento estatístico foi feito por meio de estatística descritiva, com cálculos de média, desvios-padrão e frequência para a caracterização de atividades de campo, caracterização dos estudantes, perfil antropométrico e consumo alimentar quali e quantitativo.

Para a comparação de médias de idade, medidas antropométricas e variáveis do consumo alimentar entre os sexos e entre dias comuns e dias de campo, foi realizado teste T não pareado ao nível de significância de 5%.

Foi aplicado o teste de Correlação de Pearson para analisar a correlação existente entre IMC e CC, consumo energético e lipídico. O mesmo teste foi aplicado para analisar CC e consumo energético e lipídico.

Cuidados éticos

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFES sob protocolo de número 012/11. Os participantes assinaram o TCLE para participarem do estudo.

RESULTADOS

Foram avaliadas 66 pessoas de um grupo de estudantes universitários do curso de Geologia da UFES, sendo 49 homens (74,24%) e 17 mulheres (25,76%). Destes, 36 não devolveram os formulários de consumo alimentar preenchidos. Desta forma, para a avaliação antropométrica, a amostra constituía-se de 66 pessoas e para o consumo alimentar a amostra foi de 30 pessoas, composta por 20 homens (66,67%) e 10 mulheres (33,33%).

Atividades de campo geológico

De acordo com a análise dos questionários aplicados aos professores, foi possível verificar que, durante os dias de atividades de campo, a carga horária diária é extensa. Observa-se também que o gasto energético está aumentado, devido ao esforço físico mais acentuado. Ademais, quando se trata de aulas de campo que ocorrem em regiões distantes da universidade e há necessidade de hospedagem, os alunos recebem ajuda de custo por parte do governo no valor de R$ 35,00 por dia. Este fator auxilia a alimentação dos estudantes, visto que os estabelecimentos que os hospedam, em geral, oferecem uma ou mais refeições aos alunos (geralmente desjejum e jantar), sem custo adicional. Ocasionalmente, alguns hotéis disponibilizam lanches para serem levados ao campo.

Hábitos de vida

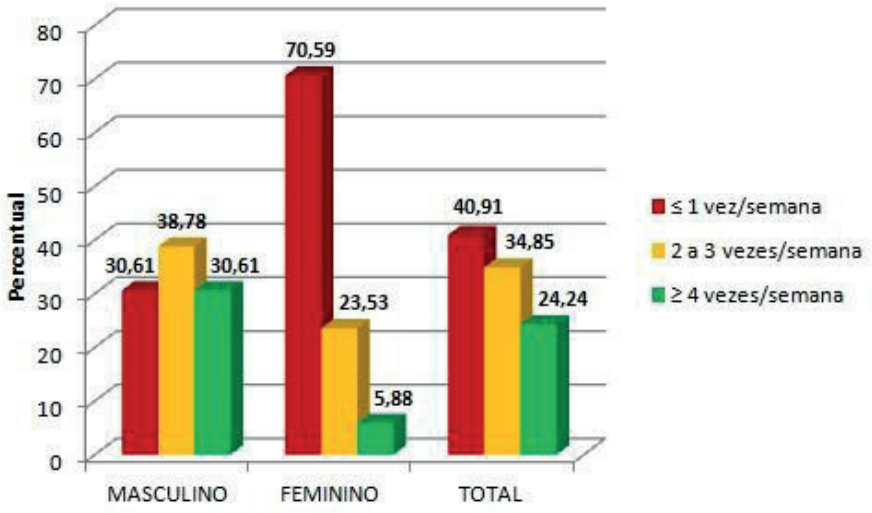
Do total de alunos avaliados, 19,67% possuíam o hábito de fumar, sendo a representação do sexo masculino de 20,41% e do sexo feminino 17,65%. O percentual de estudantes

que ingeriam bebidas alcoólicas foi de 83,33%. No sexo masculino, esse valor alcançava 85,71% e no feminino 76,47%.

Com base na classificação da EER para nível de atividade física, a maioria dos estudantes (56,06%) apresentou nível leve e 43,94% moderado. Em relação ao sexo masculino, o percentual de nível leve (44,9%) foi inferior ao moderado (55,1%). O mesmo não ocorreu no sexo feminino, onde observou-se a inversão da proporção apresentada no sexo masculino e discrepância dos percentuais observados, sendo 88,24% de nível leve e 11,76% de nível moderado (Figura 1).

Ainda, os estudantes foram classificados de acordo com a frequência de atividades físicas praticadas na semana, conforme demonstrado na Figura 1. No sexo masculino, a frequência de atividades físicas que apresentou o maior percentual foi de 2 a 3 vezes na semana (38,78%), diferentemente do sexo feminino e do total de alunos, que apresentaram maiores valores na prática de atividades físicas de 1 ou menos vezes na semana (70,59 e 40,91%, respectivamente).

Figura 1. Classificação dos estudantes conforme a frequência semanal em que praticam atividade física, total e por sexo.



Avaliação antropométrica

Os valores de médias e desvios padrão das variáveis: idade, peso, altura, índice de massa corporal (IMC) e circunferência da cintura (CC) estão apresentados na Tabela 1. A idade média dos estudantes avaliados foi de 21,5 anos (± 1,67), não havendo diferença estatística entre os sexos ($p > 0,05$). Quanto ao IMC, as médias encontradas para os sexos masculino e feminino foram de 25,59 kg/m² (± 3,79) e 21,43 (± 4,05), respectivamente, as quais diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$). A circunferência da cintura também apresentou diferença estatística significante entre os sexos ($p < 0,05$) sendo que, para os homens, a média foi de 54,99 cm (± 9,44) e, para mulheres, foi de 81,53 (± 10,63).

Tabela 1. Caracterização da população estudada, segundo sexo.

	Masculino (n=49)		Feminino (n=17)		Total (n=66)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Idade (anos)	21,67	1,78	21	1,17	21,5	1,67
Peso (kg)	79,69	13,72	57,91	7,73	74	15,68
Altura (m)	1,76	0,06	1,65	0,04	1,73	0,07
IMC (kg/m²)	25,59	3,79	21,43	3,16	24,52	4,05
CC (cm)	84,99	9,44	71,55	6,98	81,53	10,63

De acordo com a classificação do IMC, no sexo masculino, 51,02% dos estudantes eram eutróficos, 32,65% estavam com sobrepeso, 12,24% apresentavam obesidade 1 e 4,08% obesidade 2. Já para o sexo feminino, foram encontrados 11,76% de baixo peso, 70,59% de eutrofia e 17,65% de sobrepeso.

Quanto à classificação de risco de complicações metabólicas associadas à obesidade, em relação à medida da circunferência da cintura, o sexo masculino apresentou 81,63% dos estudantes com baixo risco, porém, os que apresentaram risco muito aumentado (14,29%) foram superiores aos que apresentaram risco aumentado (4,08%). Em contrapartida, o sexo feminino apresentou valores superiores de baixo risco (81,63%) e de risco aumentado (11,76%) e nenhum caso de risco muito aumentado.

Foi observada correlação positiva alta entre as variáveis IMC e CC no sexo masculino (r = 0,943), sexo feminino (r = 0,919), bem como no total de alunos avaliados (r = 0,947).

Avaliação do consumo alimentar em dias comuns e em dias de campo geológico
Avaliação do consumo atual

Os dados da análise do consumo alimentar nos dias comuns estão apresentados na Tabela 2. Apenas o EER (GET – Gasto Energético Total) e o consumo de proteínas apresentaram diferença significativa em relação aos sexos. No sexo masculino, a média do GET foi de 3062,21 kcal, no feminino, 2183,23 kcal, e no total dos estudantes, 2769,22 kcal.

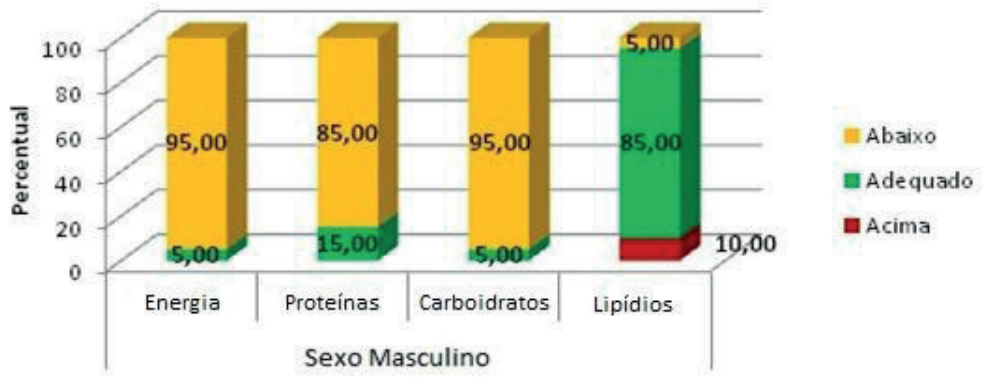
Tabela 2. Média da necessidade energética, consumo energético e de macronutrientes nos dias comuns, segundo sexo.

	Média do consumo alimentar				
	GET	Energia	Proteínas	Carboidratos	Lipídios
	Média (kcal)	Média (kcal)	Média (g)	Média (g)	Média (g)
Masculino	3062,21	2208,14	98,26	244,22	90,19
Feminino	2183,23	1980,85	80,01	235,51	77,94
Total	2769,22	2132,38	92,18	241,31	86,11

O percentual de estudantes que atingiram ou não às necessidades de energia, proteínas, carboidratos e lipídios encontram-se nas Figuras 2, 3 e 4, respectivamente para os

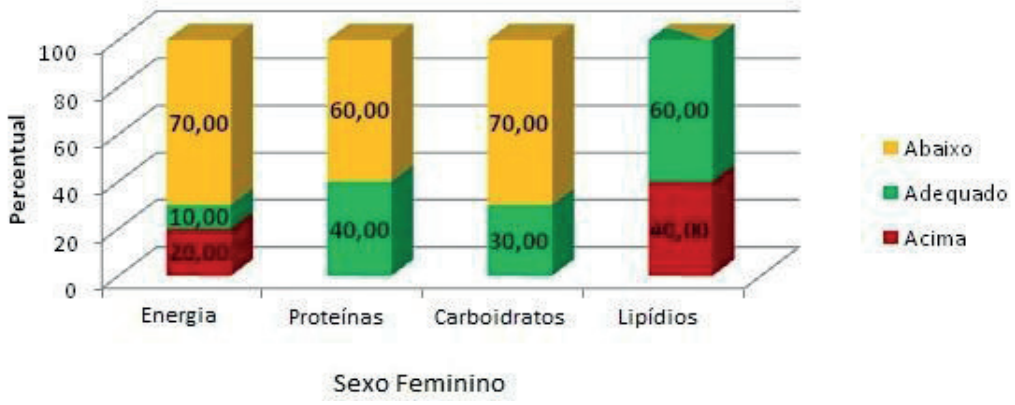
sexos masculino, feminino e para o grupo total. No sexo masculino, a maioria dos avaliados apresentou ingestão abaixo da necessidade estimada para energia e carboidratos (95,0%) e proteínas (85,0 %). Em contrapartida, 85,0 % dos homens avaliados, apresentaram adequação quanto à ingestão lipídica.

Figura 2. Classificação dos estudantes de Geologia do sexo masculino quanto ao atendimento às necessidades energéticas e de macronutrientes no consumo alimentar dos dias comuns.



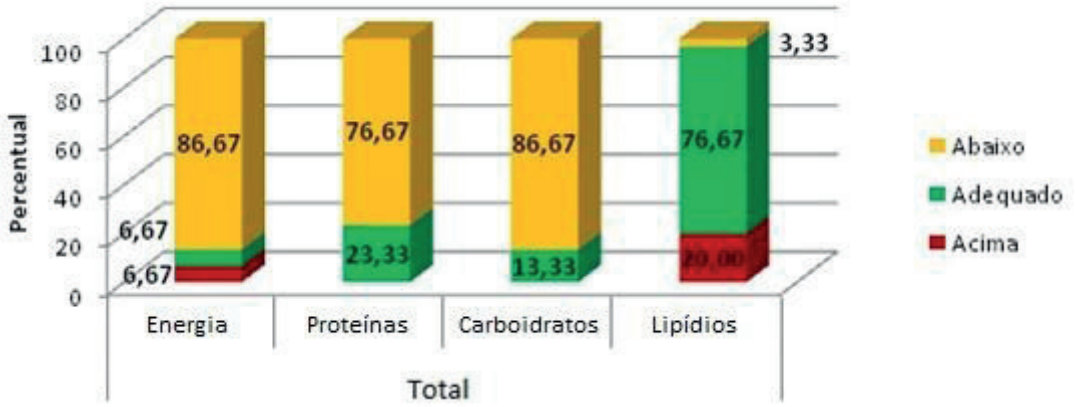
No sexo feminino, 70,0 % dos avaliados apresentaram ingestão inferior às necessidades de energia e carboidratos. Com relação à lipídeos, todas as mulheres avaliadas apresentaram ingestão adequada (60,0%) ou acima do recomendado (40,0%).

Figura 3. Classificação dos estudantes de Geologia do sexo feminino quanto ao atendimento das necessidades energéticas e de macronutrientes no consumo alimentar dos dias comuns.



Com relação ao total de estudantes, a maioria apresentou ingestão abaixo da necessidade para energia e carboidratos (86,67%) e para proteínas (76,67%), O consumo de lipídios foi o de maior percentual de indivíduos com adequação (76,67%).

Figura 4. Classificação dos estudantes de Geologia quanto ao atendimento das necessidades energéticas e de macronutrientes no consumo alimentar dos dias comuns.



No presente estudo, 48,97% dos homens e 17,65% das mulheres apresentaram excesso de peso, o que não justifica a baixa ingestão energética encontrada para o grupo. Além do mais, os coeficientes de correlação encontrados entre as variáveis analisadas apresentam correlação fraca ou negativa (Tabela 3).

Tabela 3. Valores de r e classificação da correlação entre as variáveis IMC, CC, consumo de energia e consumo de lipídios.

	IMC				CC			
	Masculino	Classificação	Feminino	Classificação	Masculino	Classificação	Feminino	Classificação
Consumo de energia	0,043	Fraca	-0,106	Negativa	-0,009	Negativa	0,141	Fraca
Consumo de lipídios	0,068	Fraca	-0,046	Negativa	0,02	Fraca	0,099	Fraca

Analisando a afinidade observada entre a ingestão energética e de lipídios e as classificações de IMC e CC, estes não apresentaram correlação, ou seja, os resultados encontrados para IMC e CC não podem ser justificados apenas pelo consumo de energia e lipídios relatado pela população.

Avaliação do consumo habitual

A análise do QFCA apontou para um baixo consumo de frutas: 46,67% dos indivíduos consumiam frutas ocasionalmente, enquanto que apenas 1,78% com a frequência de 4 a 7 vezes na semana. Quanto aos vegetais, 32,14% dos entrevistados consumiam com a frequência de 1 a 3 vezes na semana, 15,71% consumia quinzenalmente e 10,48% de 4 a 7 vezes na semana.

Avaliando-se o consumo de alimentos industrializados e alimentos ricos em gorduras, os resultados foram preocupantes. Hambúrgueres são consumidos de 1 a 3 vezes na semana por 50% da população estudada e quinzenalmente por 33,33% desta. A alta prevalência também ocorre quando são analisados salgados assados e fritos. O primeiro, apresentou

40% de consumo de 1 a 3 vezes na semana e 36,37% quinzenalmente. Já os salgados fritos apresentaram 30% de consumo de 1 a 3 vezes na semana e 40% quinzenalmente. Embutidos e biscoitos recheados também tiveram alta prevalência, apresentando os maiores percentuais na frequência de consumo de 1 a 3 vezes na semana. Por fim, o maior percentual de frequência de 4 a 7 vezes na semana foi em relação às frituras (36,67%), que também apresentaram valores altos de consumo de 1 a 3 vezes na semana (46,67%).

Quando analisadas as bebidas, as que apresentaram maior percentual de frequência de consumo de 4 a 7 vezes na semana foram os sucos artificiais (73,33%) e o café (53,33%). Refrigerantes e sucos naturais apresentaram 40 e 50% de consumo de 4 a 7 vezes na semana, respectivamente. Quanto ao consumo de bebidas alcoólicas, 56,67% dos avaliados faziam uso de 1 a 3 vezes na semana, 3,33% de 4 a 7 vezes na semana e 26,67% com consumo quinzenal, somando um valor de 86,67% de estudantes que consomem bebidas alcoólicas. Este total é análogo ao obtido na avaliação de hábitos de vida, onde 83,33% dos estudantes alegaram o consumo de bebidas alcoólicas.

Avaliação do consumo em dias de campo

As médias verificadas no consumo alimentar dos dias de atividades de campo estão na Tabela 4. Nenhuma dessas variáveis apresentou diferença estatística significante em relação aos sexos. Foi visto também que a média dos valores de gasto energético total (GET) para homens e mulheres foram, respectivamente, 3185,15 kcal e 2642,95 kcal. No total, a média do GET foi de 2953,38 kcal.

Tabela 4. Média da necessidade energética, consumo energético e de macronutrientes nos dias de campo, segundo sexo.

	Média do consumo alimentar				
	GET	Energia	Proteínas	Carboidratos	Lipídios
	Média (kcal)	Média (kcal)	Média (g)	Média (g)	Média (g)
Masculino	3185,15	2633,53	98,97	356,52	92,15
Feminino	2642,95	2194,3	79,57	284,25	89,17
Total	2953,38	2410,55	89,17	319,62	89,63

É possível verificar que o consumo de energia nos dois sexos encontra-se abaixo da recomendação, porém as mulheres estão ingerindo uma quantidade maior de alimentos, que representa uma maior parte do GET. O consumo de proteínas e carboidratos encontrou-se abaixo da recomendação proposta pela AMDR nos sexos masculino e feminino e no total de alunos. Já o consumo de lipídios foi adequado para as três variáveis.

Nas Figuras 5, 6 e 7 é possível observar a classificação dos estudantes analisados de acordo com o atendimento ou não às necessidades de energia, proteínas, carboidratos e

lipídios, respectivamente para os sexos masculino e feminino e para o todo o grupo. A maioria dos homens avaliados não atingiu a necessidade estimada para energia (86,36%), proteína (72,73%) e carboidrato (63,64%), mas respectivamente 40,91% e 27,27% dos avaliados atingiram ou superaram a necessidade lipídica. O mesmo ocorre quando é avaliado o total de alunos. Quanto ao sexo feminino, 89,89% apresentaram ingestão abaixo da necessidade para energia e proteínas e 50,0% para carboidratos. A maioria das mulheres (66,67%) apresentou ingestão lipídica suficiente.

Assim, constata-se que, apesar do consumo energético se encontrar abaixo da recomendação, o nutriente que atingiu maior adequação foram os lipídios sendo, proporcionalmente, o nutriente que mais atingiu ou se aproximou da recomendação.

Figura 5. Classificação dos estudantes de Geologia do sexo masculino quanto ao atingimento das necessidades energéticas e de macronutrientes no consumo alimentar dos dias de campo.

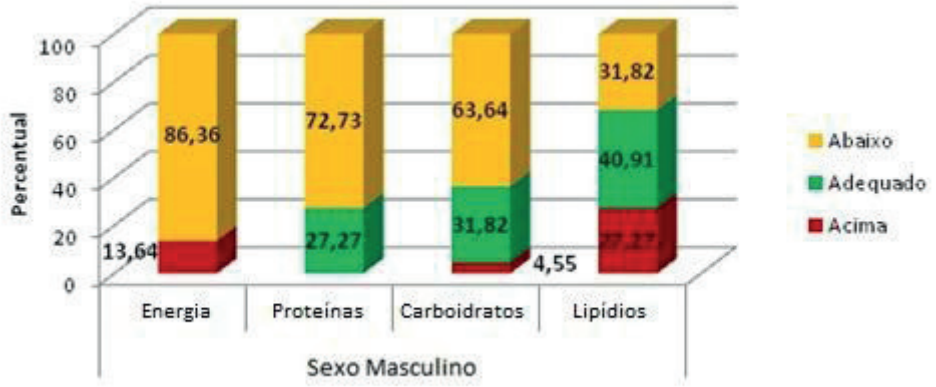


Figura 6. Classificação dos estudantes de Geologia do sexo feminino quanto ao atingimento das necessidades energéticas e de macronutrientes no consumo alimentar dos dias de campo.

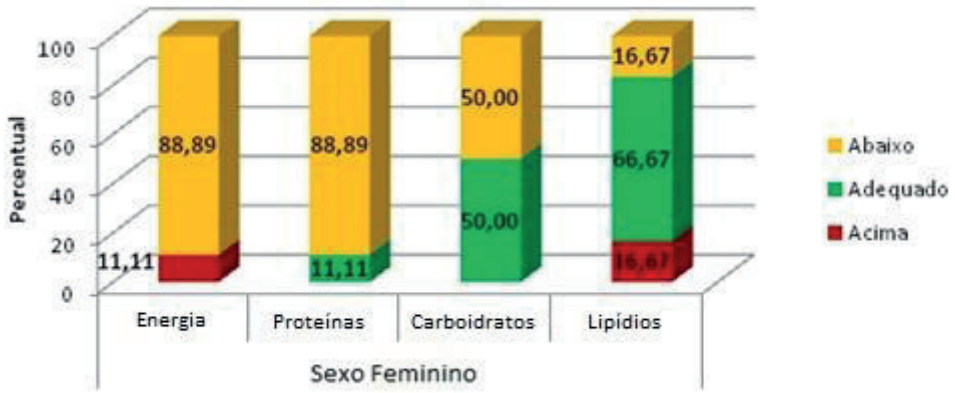
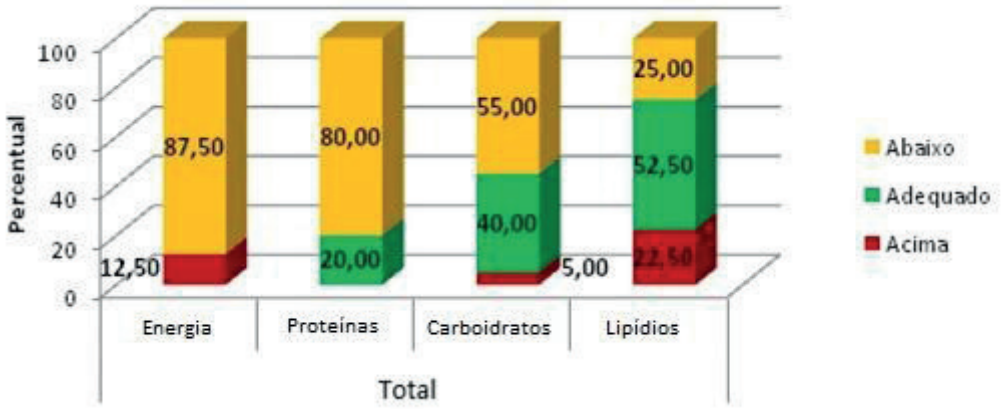


Figura 7. Classificação dos estudantes de Geologia quanto ao atingimento das necessidades energéticas e de macronutrientes no consumo alimentar dos dias de campo.



Quando comparadas as médias de consumo dos dias comuns e dos dias de campo, apenas o consumo de carboidratos apresentou diferença estatística significante ($p < 0,05$), sendo maior nos dias de campo.

DISCUSSÃO

Segundo o Instituto Nacional do Câncer[15], dados de 2013 mostram que cerca de 14,7% da população adulta faz uso de cigarro, sendo 11% de mulheres e 18,9% de homens, confirmando a tendência da maior proporção de fumo entre homens. Andrade et al[16], em um estudo realizado com estudantes na Universidade de Brasília, constataram que o curso com maior prevalência de fumantes foi o de Geologia (32,9%). É importante ressaltar que o fumo é um fator de risco para o surgimento de doenças como câncer, doenças cardiovasculares, cerebrovasculares e doenças respiratórias crônicas[17].

Com relação ao consumo de bebidas alcoólicas, Rios e colaboradores[18] encontraram em seu estudo um percentual inferior ao do presente estudo, mas também elevado, de estudantes que ingeriam bebidas alcoólicas, sendo este de 63,6%, também com maior prevalência no sexo masculino. No estudo de Silva, Bezerra e Silva[19], o percentual foi de 73,28%. É observado que os universitários possuem um padrão típico de consumo de álcool, sofrendo influências diretas e indiretas para este fim, as quais variam desde a oferta ativa e ampla de bebidas alcoólicas, idas a bares com amigos, baixo custo, a imitação de hábitos de colegas e o reforçamento da imagem de consumidor de álcool[20].

É importante ressaltar que a prática de atividades físicas regular é um fator protetor para doenças como diabetes, doença arterial coronariana, câncer e obesidade[21]. Em um estudo realizado por Ramos[22], os valores encontrados para a prática de atividade física foram diferentes dos encontrados no presente estudo, apresentando os maiores percentuais para

a frequência menor ou igual a 1 vez por semana (55,3%) e valores para as frequências de 2 a 3 vezes na semana e maior ou igual a 4 foram, respectivamente, 28% e 16,7%.

Apesar de muitos estudos abordarem a prática de atividade física, a comparação entre os resultados torna-se difícil devido às metodologias diferentes. Porém, os estudos vêm ao encontro do resultado apresentado nesta pesquisa, onde o sexo masculino tem predominância de prática de atividade física[23, 24].

Com relação ao IMC, em um estudo realizado por Martins e colaboradores[24] a média de IMC encontrada foi próxima à desse estudo, porém inferior, à encontrada no presente estudo, quando avaliado o total de alunos. Madureira e colaboradores[23], ao estratificarem os estudantes avaliados em sexo masculino e feminino, encontraram os seguintes valores, respectivamente: 5,6 e 15% de baixo peso, 76 e 76,7% de eutrofia, 16,4 e 6,9% de sobrepeso e 2 e 1,4% de obesidade.

Ainda, a Pesquisa de Orçamentos Familiares – POF 2008-2009[25] corrobora os estudos citados com os elevados percentuais encontrados de obesidade em indivíduos adultos, sendo 12,4% em homens e 16,9% em mulheres.

Alguns resultados distintos dos encontrados no presente estudo foram descritos por Martins e colaboradores[24] com relação às medidas de CC, com valores de 89,7% de baixo risco, 7,9% de risco cardiovascular aumentado e apenas 2,4% de risco muito aumentado. Além disso, não houve diferença estatística significante de risco cardiovascular entre homens e mulheres. Ramos[22], em seu estudo com universitários, deparou-se com apenas 1% de mulheres e 2,7% de homens com medidas acima dos cortes estabelecidos, apresentando risco aumentado.

No presente estudo, verificou-se o consumo de energia nos sexos masculino e feminino encontra-se abaixo da recomendação, porém, o sexo feminino consegue se aproximar mais de sua necessidade energética, diferentemente do sexo masculino, que ficou bastante distante da média de necessidade. Ramos[22] encontrou um consumo médio de 2521 calorias no sexo masculino, 1788 no sexo feminino e 1999 no total de universitários avaliados, havendo diferença estatística significante entre os sexos.

De acordo com a distribuição aceitável de macronutrientes, o consumo de proteínas no sexo masculino e no total encontrou-se abaixo da recomendação. Em contrapartida, o sexo feminino encontrou-se adequado para este nutriente. Para carboidratos, as três variáveis encontraram-se abaixo da recomendação, enquanto que, no consumo de lipídios as três encontraram-se adequadas, dentro da faixa de distribuição aceitável de macronutrientes.

Outro ponto observado no atual estudo, foi a baixa ingestão de frutas. Comparativamente, em um estudo realizado na Universidade Federal de Viçosa[26] foi visto que 60% dos

estudantes avaliados consumiam frutas 3 ou mais vezes por semana, valor esse muito distante deste estudo.

O consumo de verduras e legumes observado foi maior do que o de frutas. É provável que a maior frequência de consumo de vegetais em relação ao de frutas deva-se ao Restaurante Universitário, localizado nas instalações do campus, visto que este serve saladas diariamente com variedade considerável, entretanto, os estudantes não foram abordados quanto à frequência ao restaurante.

Um estudo realizado com adultos de 20 a 29 anos encontrou um percentual de consumo regular de frutas, legumes e verduras de 13,9%[27]. Feitosa e colaboradores[28], em seu estudo com universitários encontraram uma prevalência de 67,7% de inadequação do consumo de frutas e 84,4% no de vegetais. Estes dados mostram a inversão do que ocorreu no presente estudo, que apresentou uma maior prevalência de consumo de vegetais. Este baixo consumo de frutas e vegetais na população brasileira foi descrito e considerado nos dados na última Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008 e 2009 – POF[29].

O alto consumo de hambúrgueres, salgados e lanches rápidos tem sido relatado em diferentes estudos, assim como os achados deste trabalho. Colares, Franca e Gonzalez[30] encontraram um consumo habitual destes alimentos em 56,9% dos homens e 48,5% das mulheres. Da mesma forma, Santos e colaboradores[31] encontravam um consumo semanal de hambúrgueres de 66,4% em adultos. Quanto ao consumo de embutidos, Feitosa e colaboradores[28] encontravam uma maior prevalência no sexo feminino (51,1%).

Valores superiores foram encontrados em outro estudo em relação ao consumo de biscoitos recheados. Do total de avaliados, 25% relataram consumir biscoitos recheados diariamente, 35% frequentemente e 25% ocasionalmente[32]. Quanto ao consumo de frituras, Moraes e colaboradores[33] encontraram uma prevalência de 68,7% de estudantes que não evitavam frituras e doces.

Observou-se alto consumo de café entre os universitários avaliados. Este alto percentual de consumidores de café também foi observado por Arruda e colaboradores[34], com prevalências de 83,3%.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O grupo estudado possui características bastante peculiares tendo em vista as atividades que devem desempenhar durante a graduação. Nos dias de atividades de campo foram relatados a carga horária alta e o esforço físico acentuado. Observou-se que a maior parte dos estudantes consome frequentemente bebidas alcoólicas e um percentual considerável faz uso de tabaco. Foi visto também que a prática de atividade física é frequente no sexo masculino, mas o mesmo não ocorre entre as mulheres.

Quanto à antropometria, apesar de a maioria dos estudantes estarem eutróficos, um percentual considerável se encontrava com excesso de peso. Da mesma forma, a maior parte dos alunos encontrava-se com baixo risco cardiovascular, porém o alto risco também esteve presente.

No consumo dos dias comuns e nos dias de campo, grande parte dos alunos não consegue atingir a necessidade energética e de macronutrientes, exceto lipídeos, em que a maioria atinge ou supera. Já o consumo habitual, aponta para baixa frequência de consumo de frutas. A ingestão de vegetais apresenta uma frequência superior a de frutas. Em contrapartida, o consumo de lanches calóricos, frituras e alimentos industrializados é alto, assim como o de café, sucos artificiais e bebidas alcoólicas.

Desta forma, sugere-se novos estudos que possam, inclusive, avaliar a ingestão de micronutrientes, devido a proporção de excesso de peso encontrada no presente estudo e à menor frequência de ingestão de frutas e vegetais.

É necessário ainda a conscientização e o reconhecimento da importância da alimentação e de hábitos de vida saudáveis, que podem ser promovidos e incentivados por programas de educação nutricional e de saúde na universidade, estimulando hábitos que promovam a saúde e proporcionando uma qualidade de vida futura.

REFERÊNCIAS

1. UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO. **Projeto Político-Pedagógico do Curso de Graduação em Geologia**. 2008. Disponível em: < http://www.geologia.ufes.br/sites/geologia.alegre.ufes.br/files/ppc.pdf>.

2. ANDRADE, W. S. **Trabalhos de campo em Geologia como recurso didático no curso técnico de mineração de Nova Venécia, Espírito Santo,** Brasil – Programa de Ensino e História de Ciências da Terra da Universidade Estadual de Campinas, Campinas 2019. Disponível em: <https://repositorio.ifes.edu.br/bitstream/handle/123456789/429/TESE_Trabalhos_campo_geologia_r ecurso_didatico.pdf?sequence=5&isAllowed=y>.

3. LIMA, C. A. G.; MAIA, M. F. M.; TOLENTINO, T. M.; BRITO, M. F. S. F.; PINHO, L.; SILVEIRA, M. F. Prevalência de comportamento de risco em uma população de universitários brasileiros. **Psic., Saúde & Doenças**, v. 19, n. 2, Lisboa, 2018. DOI: 10.15309/18psd190210.

4. LOPES, F.; CUNHA, S. M.; ZIBETTI, M.; BIZARRO, L. Padrão de consumo e expectativas em relação ao cigarro entre universitários. **Psic., Saúde & Doenças**, v. 15, n. 2, Lisboa, 2014. Disponível em: http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1645-00862014000200009.

5. QUADROS, T. M. B.; PETROSKI, E. L.; SANTOS-SILVA, D. A.; PINHEIRO-GORDIA, A. The prevalence of physical inactivity amongst Brazilian university students: its association with sociodemographic variables. **Revista de Salud Pública**, Bogotá, v. 11, n. 5, p. 724-733, 2009. Disponível em: < http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v11n5/v11n5a05.pdf>.

6. Institute of Medicine. **Dietary Reference Intakes: applications in dietary assessment**. Washington (D.C.): National Academy Press, 2000. 306 p. DOI: 10.17226/9956.

7. VASCONCELOS, F. A. G. Avaliação Nutricional de Coletividades. 4. ed. rev., ampl. e mod. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2008. 186 p. ISBN: 9788532803757**.**

8. World Health Organization. **Physical status: the use and interpretation of anthropometry**. Genebra: World Health Organization, 1995. 462 p. ISBN: 9241208546.

9. FREEDMAN, D. S.; SERDULA, M. K.; SRINIVASAN, S. R.; BERENSON, G. S. Relation of circumferences and skinfold thicknesses to lipid and insulin concentrations in children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 308-317, 1999. DOI: 10.1093/ajcn/69.2.308.

10. MAJEM, L. S.; BARTRINA, J. A. Nutrición y Salud Pública: métodos, bases científicas y aplicaciones. 2. ed. Barcelona: Elsevier, 2006. 848 p. ISBN: 9788445821916.

11. GIBSON, R. S. **Principles of nutritional assessment.** Nova Iorque: Oxford University Press, 2005. 980 p. ISBN: 9780195171693.

12. Institute of Medicine. **Dietary Reference Intakes: a risk assessmente model for establishing upper intake levels for nutrients**. Washington (D.C.): National Academy Press, 1998. 82 p. DOI: 10.17226/6432.

13. Institute of Medicine**. Dietary reference Intakes for** Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. Washington (D. C.): National Academy Press, 2005. 1357 p. Disponível em:< https://www.nal.usda.gov/sites/default/files/fnic_uploads/energy_full_report.pdf**>.**

14. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Genebra: World Health Organization, 2000. 265 p. ISBN: 9241208945.

15. Instituto Nacional do Câncer. Dados e números da prevalência do tabagismo. 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/observatorio-da-politica-nacional-de-controle-do-tabaco/dados--e-numeros-prevalencia-tabagismo>. Acesso em: 27 de outubro de 2020.

16. ANDRADE, A. P. A.; BERNARDO, A. C. C.; VIEGAS, C. A. A.; FERREIRA, D. B. L.; GOMES, T. C.; SALES, M. R. Prevalência e características do tabagismo em jovens da Universidade de Brasília. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 23-28, 2006. DOI: 10.1590/S1806-37132006000100007.

17. Centers for disease control and prevention. **Health Effects of Cigarette Smoking.** Disponível em: < https://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/fact_sheets/health_effects/effects_cig_smoking/index.ht m>. Acesso em: 27 de outubro de 2020.

18. RIOS, P. A. A.; MATOS, A. M.; FERNANDES, M. H.; BARBOSA, A. R. Consumo e uso abusivo de bebidas alcoólicas em estudantes universitários do município de Jequié/BA. **Revista de Saúde Comunitária**, v. 4, n. 2, p.105-116, 2008. Disponível em: < http://periodicos2.uesb.br/index.php/rsc/article/view/129/98>.

19. SILVA, A. P.; BEZERRA, A. L. S.; SILVA, H. E. Consumo de álcool entre os universitários. **Revista Ciências do Ambiente**, v. 3, n. 2, 2007. DOI: 10.1590/S0102-311X2011000800016**.**

20. PEUKER, A. C.; FOGAÇA, J.; BIZARRO, L. Expectativas e Beber Problemático entre Universitários. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 193-200, maio/ago. 2006. Disponível em: < https://www.scielo.br/pdf/ptp/v22n2/a09v22n2.pdf>.

21. PITANGA, F. J. G.; LESSA, I. Prevalência e fatores associados ao sedentarismo no lazer em adultos. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 3, p. 870-877, 2005. DOI: 10.1590/S0102-311X2005000300021.

22. RAMOS, S. A. **Avaliação do estado nutricional de universitários**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005. Disponível em: < https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/MBSA-6XTMRP/1/dissertacao__sabrina_.pdf>.

23. MADUREIRA, A. S.; CORSEUIL, H. X.; PELEGRINI, A.; PETROSKI, E. L. Associação entre estágios de mudança de comportamento relacionados à atividade física e estado nutricional em universitários. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 10, p. 2139-2146, 2009. DOI: 10.1590/S0102-311X2009001000005.

24. MARTINS, M. C. C.; RICARTE, I. F.; ROCHA, C. H. L.; MAIA, R. B.; SILVA, V. B.; VERAS, A. B.; SOUZA FILHO, M. D. Pressão Arterial, Excesso de Peso e Nível de Atividade Física em Estudantes de Universidade Pública. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 95, n. 2, p. 192-199, 2010. DOI: 10.1590/S0066-782X2010005000069.

25. IBGE. **POF 2008-2009**: desnutrição cai e peso das crianças brasileiras ultrapassa padrão internacional. 2010. Disponível em: < http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1699&id_pagina =1>. Acesso em: 10 set. 2011.

26. TEIXEIRA, L. J. Q.; PEREIRA, J. M. A. T. K.; SILVA, N. M.; REIS, F. P. Hábitos de consumo de frutas entre estudantes da Universidade Federal de Viçosa. **Revista Ceres**, v. 53, n. 307, p. 366-373, 2006. Disponível em: < http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/view/3154/1050>.

27. NEUTZLING, M. B.; ROMBALDI, A. J.; AZEVEDO, M. R. HALLAL, P. C. Fatores associados ao consumo de frutas, legumes e verduras em adultos de uma cidade no Sul do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 11, p. 2365-2374, 2009. DOI: 10.1590/S0102-311X2009001100007.

28. FEITOSA, E. P. S.; DANTAS, C. A. O.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; MARCELLINI, P. S.; MENDES-NETTO, R. S. Hábitos alimentares de estudantes de uma universidade pública no Nordeste, Brasil. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 225-230, 2010. Disponível em: < https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/52539/mod_resource/content/1/H%C3%A1bitos%20aliment ares%20de%20universit%C3%A1rios.pdf>.

29. IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009**: Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv50063.pdf>.

30. COLARES, V.; FRANCA, C.; GONZALEZ, E. Condutas de saúde entre universitários: diferenças entre gêneros. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 521-528, 2009. DOI: 10.1590/S0102-311X2009000300007.

31. SANTOS,J. S.; OLIVEIRA, T. M.; PIZA FILHO, J. T.; ONO, E. Y. S.; HIROOKA, E. Y. Avaliação da ingestão de derivados de trigo em Londrina, PR, por meio de questionário de frequência de consumo de alimentos. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 153-164, 2009. Disponível em: < http://sban.cloudpainel.com.br/files/revistas_publicacoes/258.pdf>.

32. ASSIS, E. M.; RODRIGUES, F. C.; FUJII, J. B.; BADARÓ, A. C. L.; PEREIRA, P. M. Consumo de alimentos industrializados na comunidade do centro universitário do leste de Minas Gerais. **Principium online: Iniciação Científica no Unileste-MG**, v. 1, p. 156-164, 2007. Disponível em: < https://www.researchgate.net/profile/Andrea_Badaro/publication/237580912_CONSUMO_DE_ALI MENTOS_INDUSTRIALIZADOS_NA_COMUNIDADE_DO_CENTRO_UNIVERSITARIO_DO_ LESTE_DE_MINAS_GERAIS/links/551d1ec20cf2000f8f9383bb/CONSUMO-DE-ALIMENTOS-INDUSTRIALIZADOS-NA-COMUNIDADE-DO-CENTRO-UNIVERSITARIO-DO-LESTE-DE-MINAS-GERAIS.pdf>.

33. MORAES, M.; LAAT, E. F.; LARA, L.; LEITE, G. T. Consumo de álcool, fumo e qualidade de vida: um comparativo entre universitários. **Cinergis**, v. 10, n. 1, p. 63-71, 2009. DOI: 10.17058/cinergis.v10i1.1240.

34. ARRUDA, A. C.; MINIM, V. P. R.; FERREIRA, M. A. M.; MINIM, L. A.; SILVA, N. M.; SOARES, C. F. Justificativas e motivações do consumo e não consumo de café. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 4, p. 754-763, 2009. Disponível em: < https://www.scielo.br/pdf/cta/v29n4/09.pdf>.

24

Perfil químico de amêndoas de cacau por espectrometria de massas com ionização por *paper spray*

- Afonso Henrique de **Oliveira Júnior**
  UFSJ
- Ana Luiza Coeli Cruz **Ramos**
  UFMG
- Mayara Neves Santos **Guedes**
  UFPA
- Miriã Cristina Pereira **Fagundes**
  UESC
- Rodinei **Augusti**
  UFMG
- Júlio Onésio Ferreira **Melo**
  UFSJ
- Henrique de Oliveira Prata **Mendonça**
  UFSJ
- Raquel Linhares Bello de **Araújo**
  UFMG
- Luisa Del Carmen Barrett **Reina**
  UFMT

10.37885/201102158

RESUMO

Objetivo: Este trabalho objetivou empregar a técnica de Espectrometria de Massas com Ionização por Paper Spray (PS-MS) para a avaliação do perfil químico de amêndoas de cacau (Theobroma cacao) da variedade forasteiro cultivados na região Transamazônica do Pará. **Métodos:** As amêndoas de cacau utilizadas nesse trabalho, foram oriundas da Cooperativa Central de Produção Orgânica da Transamazônica e Xingu. Foram fermentadas naturalmente durante seis dias e então preparados extratos metanólicos de amostras de amêndoas de cacau (1:2) L:L e em seguida avaliadas nos modos de ionização negativo e positivo. **Resultados:** Os resultados demonstram que no modo positivo foi possível identificar onze compostos, constituintes das classes das metilxantinas (18,2%), fenilpropanoides (9,1%), esteróides (27,3%) e flavonóides (45,5%), já no modo de ionização negativa foi possível identificar cinquenta e cinco compostos entre ácidos hidroxibenzóicos (16,4%), fenilpropanoides (20,0%), flavonoides (52,7%), açúcares e glicosídeos (10,9%). A metodologia empregada de PS-MS se demonstrou eficaz para a avaliação das amostras, possibilitando identificar no total sessenta e seis compostos. **Conclusão:** As propriedades bioativas atribuídas ao cacau foram confirmadas nas amostras analisadas pelos compostos identificados por PS-MS indicando a qualidade da matéria prima e descrevendo o seu perfil químico e contribuindo para o maior entendimento dos seus atributos.

Palavras-chave: PS-MS, T*heobroma Cacao*, Compostos Bioativos, 20-Hidroxiecdisona, Clovamida.

INTRODUCTION

O cacau (*Theobroma cacao L.*) é um fruto nativo às regiões tropicais das Américas Central e do Sul, com distribuição natural da espécie se estendendo desde o sudeste do México à bacia Amazônica (WHITKUS et al., 1998).

É um fruto reconhecido devido à grande riqueza de compostos apresentados na sua constituição química, como polifenóis, metilxantinas e protoantocianidinas, cujas propriedades são associadas à benefícios à saúde, bem como potente atividade anti-inflamatória, bactericida e antioxidante (SÁNCHEZ-RABANEDA et al., 2003; BARNABA et al., 2017; ORACZ et al., 2015; GALLEGO et al., 2019).

Para a obtenção das amêndoas, frutos de cacau são colhidos ainda em alto teor de umidade, a partir dos quais são separados a casca, a polpa e as sementes. As sementes são destinadas a fermentação para a eliminação da mucilagem que as recobrem. Após fermentadas, as sementes, denominadas amêndoas, passam por um processo de secagem que pode ocorrer artificialmente ou de maneira natural. Na secagem natural, o material é regularmente revolvido garantido a homogeneização do processo de secagem, além de evitar focos de umidade que podem propiciar o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos (SILVA NETO, 2001; DE VUYST & WECKX, 2016; ROMANENS et al., 2019).

As amêndoas, portanto, são essenciais para a valorização e reconhecimento da qualidade dos produtos produzidos pelos cacauicultores (CHOI et al., 2016). Por serem a forma a partir da qual boa parte da cadeia agroindustrial do cacau se deriva, a avaliação da sua qualidade reflete no mercado, sendo capaz de estimular maior interesse por parte dos produtores de cacau, e por associação os consumidores, que serão ofertados produtos de maior qualidade (KONGOR et al., 2016; LOUREIRO et al., 2017; HASHIMOTO et al., 2018).

Parte dos trabalhos que buscam avaliar o perfil químico de amêndoas de cacau tem sido extensivamente realizados utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (*high performance liquid chromatography, HPLC*) sendo a metodologia mais comumente encontrada na literatura para a exploração de metabólitos secundários e caracterizar o perfil químico de diferentes cultivares da espécie (SÁNCHEZ-RABANEDA et al., 2003; COUNET et al., 2004; PATRAS et al. 2014; D'SOUZA et al. 2017; GALLEGO et al. 2019).

Entre outras tecnologias utilizadas para análises de perfis químicos, a espectrometria de massas com ionização por paper spray (paper spray mass spectrometry, PS-MS), desenvolvida por Wang et al. (2010), é uma das técnicas de ionização ambiente que tem sido cada vez mais aplicada no estudo de substâncias complexas tais como fármacos, metabólitos e pesticidas devido à sua alta versatilidade, simplicidade e baixo custo, se destacando como uma ferramenta de alto potencial para o avanço de estudos nestas linhas de pesquisa, ganhando cada vez mais espaço em análises de qualidade de alimentos (Campelo et al.,

2020; Minighin et al., 2020, Oliveira et al., 2020; Ramos et al., 2020; Silva, E. B. M. et al., 2020;; Silva, M. R et al., 2020; Silva, V. D. M.; Arquelaua, P. B. F. et al., 2020; Silva, V. D. M., Macedo, M. C. C. et al., 2020; LI et al., 2013; EVARD et al., 2015; TAVERNA et al., 2016).

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo o emprego de PS-MS na caracterização dos extratos derivados de amostras de amêndoas de cacau.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As amêndoas de cacau utilizadas nesse trabalho, foram oriundas da Cooperativa Central de Produção Orgânica da Transamazônica e Xingu, CEPOTX, da variedade forasteiro (tipo comum), com frutos colhidos sem perfurações de ponta de facão, maduros, com coloração amarelo ouro, durante a safra principal em julho de 2019. As sementes úmidas foram transportadas em sacos plásticos fechados e colocadas para fermentar em caixas de madeira quadradas (cochos de fermentação), com comprimentos de 1,40 x 0,70 x 0,70cm. A quantidade de massa de cacau utilizada, por lote, foi de aproximadamente 200 kg de cacau úmido.

A fermentação ocorreu naturalmente, durante seis dias, com revolvimentos controlados em função da temperatura (Bertorelli et al., 2009, Fernández et al., 2012). Ao final do processo fermentativo as amêndoas foram levadas para secagem em secadores tipo barcaça, onde as amêndoas de cacau foram dispostas em camadas com altura de 5cm, durante 144 horas, com revolvimentos a cada 2 horas até atingir a umidade de 6,2 % (Bertorelli et al., 2009).

Após a secagem ao sol, as amêndoas foram ensacadas em sacos de junta e uma amostra de 500g foi coletada aleatoriamente e encaminhada para o laboratório de Química da Universidade Federal de São João del-Rei, *campus* Sete Lagoas, MG.

Extrato metanoico

Para a obtenção dos extratos foi aplicada uma adaptação da metodologia descrita por Rufino et al. (2010).

As amostras foram homogeneizadas, e 0.5 g das amostras foram pesadas e em seguida acrescidas 1,0 mL de solução metanol/água (50:50, v/v). As amostras foram agitadas por 20 s em agitador tipo vórtex, e posteriormente mantidas em incubação por 1 h ao abrigo de luz e temperatura ambiente.

Após a incubação, as amostras foram centrifugadas por 15 min a 4 °C e rotação de 15000 x g. O sobrenadante foi em seguida transferido para um tubo Falcon de 15 mL, no

qual foi adicionado 1 mL de solução acetona/água (70:30, v/v), seguido por mais uma etapa de centrifugação.

O sobrenadante separado da segunda centrifugação foi transferido para um microtubo Eppendorf de 5 mL, completando-se o volume com água deionizada. Os extratos foram armazenados à temperatura de congelamento e permaneceram neste estado até a realização das análises.

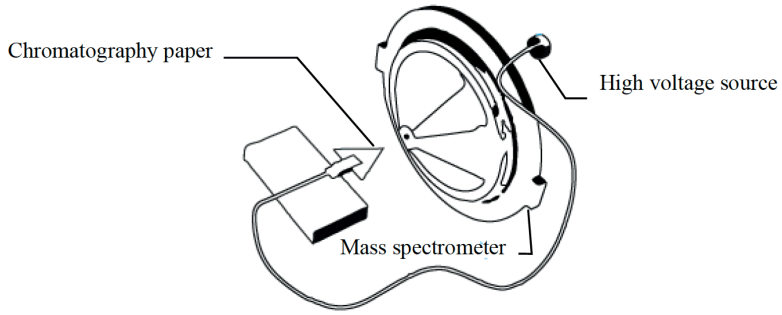
Espectrometria de massas com ionização por *paper spray*

O perfil químico das amostras foi analisado utilizando um espectrômetro de massas LCQ Fleet (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA) acoplado à uma fonte de ionização ambiente por paper spray. As análises foram realizadas em triplicata tanto para os modos negativo e positivo seguindo a metodologia descrita por Silva et al. (2019).

Alíquotas de 2 μL das amostras e de 40 μL de metanol foram aplicadas ao papel cromatográfico recortado em formato triangular acoplado ao equipamento. Para a aquisição dos dados, a fonte de voltagem foi ligada sob as condições instrumentais de voltagem de fonte PS-MS de +4 kV para o modo positivo e -3 kV para o modo negativo; voltagem do capilar de 40 V; temperatura do tubo de transferência de 275 °C; voltagem das lentes do tubo de 120 V; faixa de massas de 100 a 1000 m/z no modo de ionização negativo e de 100 a 2000 m/z no modo de ionização positivo.

A confirmação da identidade dos sinais se deu pela comparação de dados da literatura e fragmentação por espectrometria de massas sequencial. A fragmentação dos íons ocorreu utilizando energias de colisão de 15 e 45 eV.

Figura 1. Esquema adaptado de Silva et al 2019 da fonte de ionização por *paper spray.*



Source: Adapted from Teodoro et al. (2017).

Análise dos dados instrumentais

As tentativas de identificação dos compostos obtidos a partir dos sinais instrumentais foi feita baseando-se na importação dos dados a partir da aplicação Thermo Scientific™ FreeStyle™ 1.6. O arquivo importado contendo as razões massa carga (*m/z*), intensidade

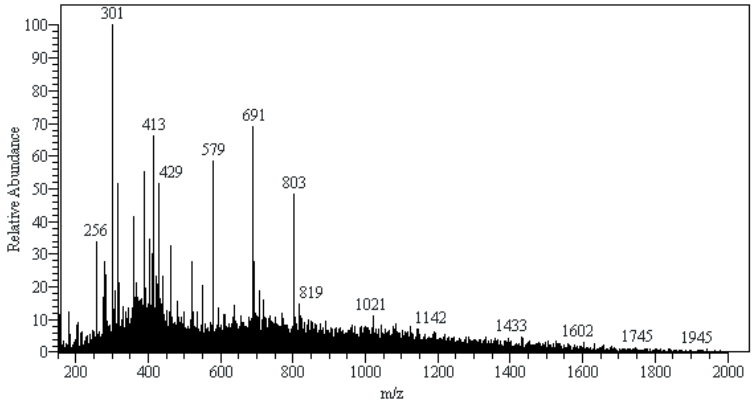
absoluta e relativa foram analisadas utilizando planilhas automatizadas desenvolvidas no Microsoft® Excel® 2016 MSO.

RESULTADOS

Modo positivo de ionização

Na figura 2 é apresentado o espectro gerado a partir de amostras de amêndoas de cacau no modo positivo.

Figura 2. Espectrograma de PS-MS no modo positivo de uma amostra de cacau.



Source: Authors (2020).

A totalidade dos íons identificados é apresentada na Tabela 1.

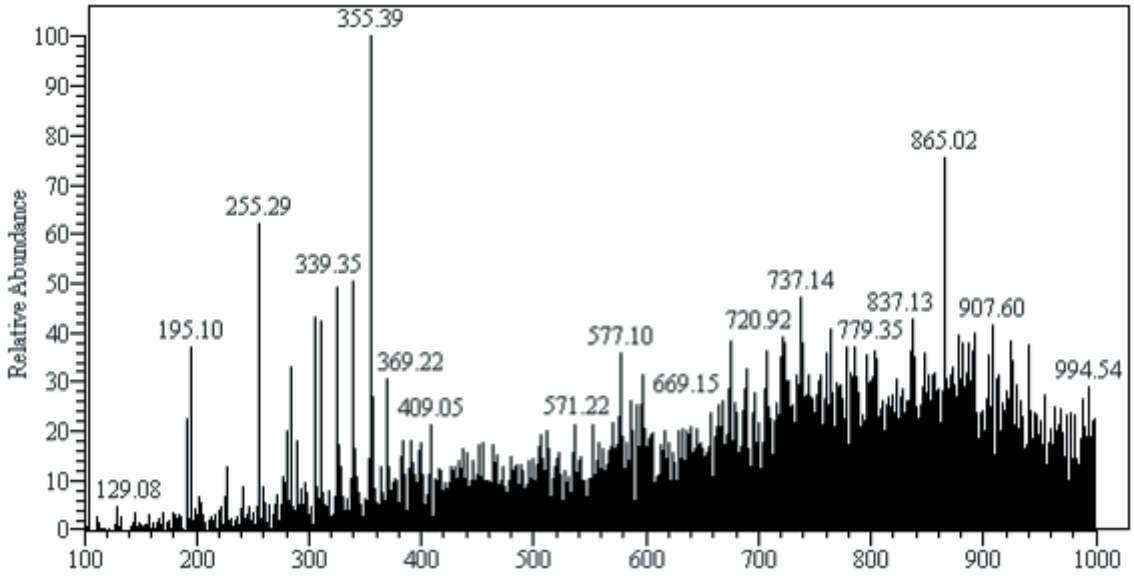
Tabela 1. Identificação de íons por PS(+)-MS.

Nº	Tentativa de Identificação	m/z	CAS	MS/MS	Referência
			Metilxantinas		
1	Teobromina	181	83-67-2	163, 140	Ortega, 2008
2	Cafeína	195	58-08-2	138, 110	Ortega, 2008
			Fenilpropanoides		
3	N-Feruloiltiramina	314	66648-43-9	177	Da Rosa, 2015
			Flavonoides		
4	Cianidina 3-O-arabinosídeo	419	111613-04-8	287	Pereira-Caro, 2013
5	Cianidina 3-O-galactosídeo	449	27214-71-7	287	Oracz, 2015
6	Quercetina	465	117-39-5	303	Türker, 2013
7	Kaempferol-3-O-β-D-(600-E-p-cumaroil)-glucopiranosídeo	595	480-10-4	449, 287	Da Rosa, 2015
			Esteróides		
9	20-Hidroxiecdisona	481	5289-74-7	463, 445, 427	Da Rosa, 2015
10	20-Hidroxiecdisona-3-O-β-D-xilose	613	–	481, 463, 445, 427	Da Rosa, 2015
11	20-Hidroxiecdisona-3-O-β-D-glicopiranosídeo	643	–	625, 607, 481, 463, 445, 427	Da Rosa, 2015

Modo negativo de ionização

Um exemplo de espectro PS(-)-MS de amostras de cacau analisadas é apresentado na Figura 3.

Figura 3. Espectrograma de PS-MS no modo negativo de uma amostra de cacau.



A Tabela 2 apresenta a tentativa de identificação dos íons com base nos sinais *m/z* obtidos pelos instrumentos e comparação com a literatura.

Tabela 2. Identificação de íons por PS(-)-MS.

Nº	Tentativa de Identificação	m/z	CAS	MS/MS	Referência
			Ácidos hidroxibenzoicos		
1	Ácido hidroxibenzoico	137	99-96-7	93	Ortega, 2008
2	Vanilina	151	121-33-5	103	Ortega, 2008
3	Ácido protocatecuico	153	99-50-3	109	Sánchez-Rabaneda, 2003
4	Ácido vanílico	167	121-34-6	123	Ortega, 2008
5	Ácido gálico	169	149-91-7	125	Sánchez-Rabaneda, 2003
6	Ácido siríngico	197	530-57-4	153	Ortega, 2008
			Fenilpropanoides		
7	Ácido cinâmico	147	140-10-3	103	Ortega, 2008
8	Ácido cumárico	163	501-98-4	119	Sánchez-Rabaneda, 2003
9	Ácido cafeico	179	331-39-5	135	Sánchez-Rabaneda, 2003
10	Ácido ferúlico	193	1135-24-6	149, 178, 134	Sánchez-Rabaneda, 2003
11	N-cumaroil-L-aspartato	278	–	163, 132, 119	Pereira-Caro, 2013
12	p-cumaroil glutamina	291	–	–	D'Souza, 2017
13	N-cafeoil-L-aspartato	294	–	276, 179, 131	Pereira-Caro, 2013
14	Ácido hidroxibenzóico-O-hexosídeo	299	–	137	Türker, 2013
15	Ácido clorogênico	353	327-97-9	191	Türker, 2013

Nº	Tentativa de Identificação	m/z	CAS	MS/MS	Referência
16	Cafeoil-tirosina	342	124027-56-1	–	D'Souza, 2017
17	Clovamida	358	53755-03-6	222, 178, 161	Barros, 2016
			Flavonoides		
18	Apigenina	269	520-36-5	151	Sánchez-Rabaneda, 2003
19	Naringenina	271	67604-48-2	177, 151, 119, 107, 93, 83	Sánchez-Rabaneda, 2003
20	Luteolina	285	491-70-3	217, 199, 175, 151, 133, 107	Sánchez-Rabaneda, 2003
21	Di-hidroxikaempferol	287	–	259	Ortega, 2008
22	Catequina	289	154-23-4	245	Sánchez-Rabaneda, 2003
23	Quercetina	301	117-39-5	151	Ortega, 2008
24	Taxifolina	303	480-18-2	285	Ortega, 2008
25	Epigalocatequina	305	970-74-1	125	Ortega, 2008
26	Isoramnetina	315	480-19-3	300, 151	Sánchez-Rabaneda, 2003
27	Deoxyclovamida	326	–	–	Cádiz-Guerrea, 2014
28	Vitexina	431	3681-93-4	341, 311, 269	Sánchez-Rabaneda, 2003
29	Prunina	433	529-55-5	271	Sánchez-Rabaneda, 2003
30	Orientina	447	28608-75-5	357, 327, 285	Sánchez-Rabaneda, 2003
31	Kaempferol-3-O-hexosídeo	447	–	271	Sánchez-Rabaneda, 2003
32	Catequina-3-O-glicosídeo	451	–	331, 289, 245	Patras, 2014
33	Isoscutelareina 8-O-β-D- glicuronida	461	–	285	Barros, 2016
34	Hiperosida	463	482-36-0	301	Sánchez-Rabaneda, 2003
35	Hipolaetina 8-O-β-D- glicuronida	477	–	301	Barros, 2016
36	Miricetina-glicosídeo	479	–	316	Ortega, 2008
37	Amentoflavona	537	1617-53-4	375	Sánchez-Rabaneda, 2003
38	Isoroifolina	577	552-57-8	269	Sánchez-Rabaneda, 2003
39	Naringina	579	10236-47-2	459, 271	Sánchez-Rabaneda, 2003
40	Proantocianidina	591	18206-61-6	–	Cádiz-Guerrea, 2014
41	Nicotilflorina	593	17650-84-9	285	Sánchez-Rabaneda, 2003
42	Rutina	609	153-18-4	301	Sánchez-Rabaneda, 2003
			Outros		
43	Ácido cítrico	191	77-92-9	–	D'Souza, 2017
44	Prolilidroxprolina	227	–	–	D'Souza, 2017
45	Citrato de isopropila	233	39413-05-3	–	D'Souza, 2017
46	Leucina hexósido	292	–	–	D'Souza, 2017
47	Ácido L-aspártico	308	56-84-8	–	Cádiz-Guerrea, 2014
48	Sacarose	341	57-50-1	–	Cádiz-Guerrea, 2014
49	Swerosida	357	14215-86-2	–	Cádiz-Guerrea, 2014
50	Cis-3-hexenil β-primeverosida	393	132278-37-6	–	Cádiz-Guerrea, 2014
51	Octen-3-il primaverosida	421	209863-01-4	359, 319, 277	Patras, 2014

DISCUSSÃO

Modo positivo de ionização

As tentativas de identificação de compostos em PS-MS no modo de ionização positivo distinguiram quatro classes químicas, dentre essas são classificados os flavonoides representando a maioria dos compostos identificados, seguidos por esteroides, metilxantinas e fenilpropanoides.

A teobromina, identificada pelo sinal m/z 181, é um metabólito da cafeína que segundo Duke (1992) é comumente encontrado nas sementes e casca do cacau, mocambo (*Theobroma bicolor*), e nas folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e chá-da-índia (*Camellia sinensis*).

A cafeína (íon com *m/z* 195) é outro composto observado em análises anteriores utilizando UPLC-MS/MS, uma das principais metilxantinas que encontradas nas sementes de cacau (ORTEGA et al., 2008; OGAH et al., 2012).

Os compostos esteroides como 20-hidroxiecdisona, identificada pelo íon com *m/z* 481 e seus metabólitos de sinal com *m/z* 613, 20-hidroxiecdisona-3-O-β-D-xilose, e sinal com m/z 643, 20-hidroxiecdisona-3-O-β-D-glicopiranosideo, foram constatados previamente na literatura por Da Rosa et al. (2015) em amostras de guanxuma (*Sida tuberculata* L., Malvaceae), a descrição desses compostos na composição do cacau é inédita.

As antocianidinas são representadas nas amostras de cacau pelos íons de m/z 419 e 449, cianidina 3-O-arabnosideo e cianidina 3-O-galactosideo, também observados por Pereira-Caro et al. (2013) e Oracz et al. (2015) no fruto utilizando as metodologias de HPLC-MS/MS e RP-UHPLC-DAD/ESI–MS/MS respectivamente.

Os sinais com *m/z* 465 e 611 podem ser atribuídos ao flavonol quercetina, e o glicosídeo rutina (quercetina-3-O-rutinosídeo), respectivamente. Türker & Dalar (2013) identificaram estes compostos em *Malva neglecta* Wallr., outra espécie da família Malvaceae, utilizando HPLC–DAD, observando a atividade antioxidante e inibitória de enzimas *in vitro* dos compostos fenólicos desta espécie.

Modo negativo de ionização

A análise PS-MS no modo de ionização negativo possibilitou a identificação de cinquenta e um compostos distintos, pertencentes às classes dos ácidos hidroxibenzóicos, fenilpropanoides, flavonoides, e outros compostos como açúcares, ácidos orgânicos e glicosídeos.

O ácido hidroxibenzóico, identificado pelo íon com *m/z* 137, é um composto associado ao ácido salicílico e salicina, os primeiros compostos isolados com atividade farmacológica (NORN et al., 2009).

O sinal com *m/z* 153 é atribuído ao ácido protocatecuico, cuja presença foi registrada no cacau por Sánchez-Rabaneda et al. (2003) por LC-MS/MS, foi observado por Winters et al. (2017) apresentando efeitos neuroprotetores e antioxidantes em culturas celulares, são também observadas propriedades anti-inflamatórias e atenuação de depósitos amiloides associados à melhora de déficits cognitivos (TSAI et al., 2012; SONG et al., 2014).

À clovamida pode ser atribuída a *m/z* 358, previamente identificada no cupuaçu por Barros et al. (2016) aplicando UPLC-ESI-QTOF. O composto geralmente é encontrado no cacau em pequenas quantidades, sendo mais comumente encontrado em espécies do gênero Trifolium, mais especificamente o trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.) (CABALLERO et al., 2015; TEBAYASHI et al., 2000).

O sinal com *m/z* 353 é identificado como ácido clorogênico, o composto mais abundante entre os isômeros de ácido cafeoilquínico. É um dos ácidos de maior disponibilidade entre os compostos fenólicos encontrado naturalmente em extratos de café e chá (MENG et al., 2013; VENDITTI et al., 2015).

Os sinais com *m/z* 179 e m/z 193 identificam os ácidos cafeico e ferúlico, foram registrados em extratos de sementes de cacau por Sánchez-Rabaneda et al. (2003) utilizando LC/MS/MS. O efeito terapêutico do ácido ferúlico se deve principalmente às propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, exibindo atividades biológicas como anticarcinogenicidade, anti-apoptose e anti-diabétio. e cardioprotetor e neuroprotetor (GHOSH et al., 2017).

A proantocianidina pode ser identificada pelo íon com *m/z* 591, descrito também por Cádiz-Guerrea et al. (2014) em extratos de cacau utilizando HPLC-MSESI-QTOF, o composto apresenta características promotoras de benefícios à saúde, principalmente devido à sua capacidade antioxidante (ODAI et al., 2019).

Assim como a proantocianidina, o sinal com *m/z* 591 identificado como naringina, possui potencial antioxidante, com estudos apontando sua eficácia na redução de danos ao DNA induzidos por H_2O_2, esta característica é também associada a redução de risco de desenvolvimento de câncer devido ao seu efeito genoprotetor (BACANLI et al., 2015; SZCZEPANIAK et al., 2020).

Nicotilflorina, atribuída ao sinal com *m/z* 593, é um glicosídeo comumente associado a benefícios neurológicos. O composto possui potencial protetivo ao sistema nervoso, apresentando melhora significativa em casos de disfunção de memória, falha metabólica e estresse oxidativo associados à demência causada por acidentes vasculares cerebrais (HUANG et al., 2007). A orientina, identificada pelo íon com *m/z* 447, é outro glicosídeo

associado à benefícios neurológicos, com efeitos de atenuação de danos causados por iesquemia e reperfusão ao atuar em vias metabólicas sinalizadoras, possuindo também mecanismos neuroprotetores contra dano oxidativo causado por peróxido de hidrogênio em células nervosas (WANG et al., 2017; LIM et al., 2018)

O íon com *m/z* 303 é identificado como taxifolina, um flavonol comumente utilizado em produtos comerciais devido às suas atividades biológicas e mecanismos moleculares relacionados. A taxifolina possui efeitos antitumorais, antioxidantes e protetores cardiovasculares, destacando-se entre esses efeitos a atividade anticancerígena (SUNIL & XU, 2019).

CONCLUSÃO

As amêndoas de cacau apresentaram em sua composição flavonoides, fenilpropanoides, ácidos hidroxibenzóicos, esteróides, metilxantinas, açúcares, ácidos orgânicos e glicosídeos. As propriedades bioativas atribuídas ao consumo do cacau são condizentes com o encontrado no trabalho, demonstrando a importância da exploração da composição química de produtos do cacau associados a benefícios popularmente atribuídos a eles. Além disso, foi possível identificar dentro da classe dos esteróides e fenilpropanóides, compostos como a 20-hidroxiecdisterona e clovamida, respectivamente, compostos pouco descritos no gênero *Theobroma* e inéditos em análises de amostras de cacau por PS-MS.

REFERÊNCIAS

1. BACANLI, M.; BASARAN, A. A.; BASARAN, N. The antioxidant and antigenotoxic properties of citrus phenolics limonene and naringin. **Food and chemical Toxicology**, v. 81, p. 160-170, 2015. https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.04.015

2. BARISIC, V.; KOPJAR, M.; JOZINOVIC, A.; FLANJAK, I.; ACKAR, Đ.; MILICEVIC, B.; SUBARIC, D.; JOKIC, S.; BABIC, J. The chemistry behind chocolate production. **Molecules**, v. 24, n. 17, p. 3163, 2019. https://doi.org/10.3390/molecules24173163

3. BARNABA, C.; NARDIN, T.; PIEROTTI, A.; MALACARNE, M.; LARCHER, R. Targeted and untargeted characterisation of free and glycosylated simple phenols in cocoa beans using high resolution-tandem mass spectrometry (Q-Orbitrap). **Journal of Chromatography** A, v. 1480, p. 41-49, 2017. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.12.022

4. BARROS, H. R. de M.; GARCÍA-VILLALBA, R.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GENOVERSE, M. I.. Evaluation of the distribution and metabolism of polyphenols derived from cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) in mice gastrointestinal tract by UPLC-ESI-QTOF. **Journal of Functional Foods**, v. 22, p. 477–489, 2016. https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.02.009

5. BERTORELLI, L. O.; FARIÑA, L. G.; ROVEDAS, G. Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol. **Agronomía Tropical**, v. 59, n. 2, p. 119-127, 2009. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2009000200001

6. CABALLERO, B.; FINGLAS, P.; TOLDRÁ, F. Encyclopedia of food and health. Academic Press, 2015.

7. CÁDIZ-GURREA, M. L.; LOZANO-SANCHEZ, J.; CONTRERAS-GÁMEZ, M.; LEGEAI-MALLET, L.; FERNÁNDEZ-ARROYO, S.; SEGURA-CARRETERO, A. Isolation, comprehensive characterization and antioxidant activities of Theobroma cacao extract. **Journal of Functional Foods**, v. 10, p. 485–498, 2014. https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.016

8. CAMPELO, F. A.; HENRIQUES, G. S.; SIMEONE, M. L. F.; QUEIROZ, V. A. V.; SILVA, M. R.; AUGUSTI, R.; MELO, J. O. F.; LACERDA, I. C. A.; ARAÚJO, R. L. B. Study of Thermoplastic Extrusion and Its Impact on the Chemical and Nutritional Characteristics and Two Sorghum Genotypes SC 319 and BRS 332. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 788-802, 2020. http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20190243

9. CHOI, S. Y.; SON, Y. J.; YOO, K. M.; LEE, K. W.; HWANG, I. K. Functional activities of cacao nibs and couvertures according to process conditions. **Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition**, v. 45, n. 1, p. 68-75, 2016. https://doi.org/10.3746/jkfn.2016.45.1.068

10. COUNET, C.; OUWERX, C.; ROSOUX, D.; COLLIN, S. Relationship between procyanidin and flavor contents of cocoa liquors from different origins. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 20, p. 6243-6249, 2004. https://doi.org/10.1021/jf040105b

11. DA ROSA, H. S.; DE CAMARGO, V. B.; CAMARGO, G.; GARCIA, C. V.; FUENTEFRIA, A. M.; MENDEZ, A. S. L. Ecdysteroids in Sida tuberculata R.E. Fries (Malvaceae): Chemical composition by LC-ESI-MS and selective anti-Candida krusei activity. **Food Chemistry**, v. 182, p. 193–199, 2015. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.144

12. DE VUYST, L.; WECKX, S. (2016). The cocoa bean fermentation process: from ecosystem analysis to starter culture development. **Journal of Applied Microbiology**, v. 121, n. 1, p. 5-17, 2016. https://doi.org/10.1111/jam.13045

13. D'SOUZA, R. N.; GRIMBS, S.; BEHRENDS, B.; BERNAERT, H.; ULLRICH, M. S.; KUHNERT, N. Origin-based polyphenolic fingerprinting of Theobroma cacao in unfermented and fermented beans. **Food Research International**, v. 99, p. 550-559, 2017. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.007

14. Duke, J. A. Handbook of phytochemical constituent grass, herbs and other economic plants. 1st Ed. CRC press, 1992.

15. EVARD, H.; KRUVE, A.; LÕHMUS, R.; LEITO, I. Paper spray ionization mass spectrometry: study of a method for fast-screening analysis of pesticides in fruits and vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 41, p. 221-225, 2015. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.010

16. FERNÁNDEZ, R. D. R.; GALLO, F. W. M.; CEDEÑO, A. M. G.; GALEAS, M. M. P.; QUITEROS, H. N. M.; FERRÍN, L. M. C.; ALVAREZ, A. E. B.; MORANTE, P. E. N. Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidada física y química del cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo nacional. **Ciencia y Tecnología**, v. 5, n. 1, p. 7-12. https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.18779%2Fcyt.v5i1.165

17. GALLEGO, A. M.; ROJAS, L. F.; RODRIGUEZ, H. A.; MORA, C.; ATEHORTÚA, L.; URREA, A. I.; GUILTINAN, M. J.; MAXIMOVA, S. N.; GAQUEREL, E.; ZULUAGA, M.; PABÓN-MORA, N. Metabolomic profile of cacao cell suspensions growing in blue light/dark conditions with potential in food biotechnology. P**lant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 139, n. 2, p. 275-294, 2019. https://doi.org/10.1007/s11240-019-01679-3

18. GHOSH, S.; BASAK, P.; DUTTA, S.; CHOWDHURY, S.; SIL, P. C. New insights into the ameliorative effects of ferulic acid in pathophysiological conditions. F**ood and Chemical Toxicology**, v. 103, p. 41-55, 2017. https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.02.028

19. GUO, T.; ZHANG, Z.; YANNELL, K. E.; DONG, Y.; COOKS, R. G. Paper spray ionization mass spectrometry for rapid quantification of illegal beverage dyes. **Analytical Methods**, v. 9, n. 44, p. 6273-6279, 2017. https://doi.org/10.1039/C7AY02241G

20. HASHIMOTO, J. C.; LIMA, J. C.; CELEGHINI, R. M.; NOGUEIRA, A. B.; EFRAIM, P.; POPPI, R. J.; PALLONE, J. A. Quality control of commercial cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) by near-infrared spectroscopy. **Food analytical methods**, v. 11, n. 5, p. 1510-1517, 2018. https://doi.org/10.1007/s12161-017-1137-2

21. HUANG, J. L.; FU, S. T.; JIANG, Y. Y.; CAO, Y. B.; GUO, M. L.; WANG, Y.; XU, Z. Protective effects of Nicotiflorin on reducing memory dysfunction, energy metabolism failure and oxidative stress in multi-infarct dementia model rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 86, n. 4, p. 741-748, 2007. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.03.003

22. ICCO, International Cocoa Organization. Cocoa and chocolate in Brazil: A study of recent developments and analysis of the prospects for production and consumption. In: ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics XLVI. p. 13–14, 2020.

23. KONGOR, J. E.; HINNEH, M.; VAN DE WALLE, D.; AFOAKWA, E. O.; BOECKX, P.; DEWETTINK, K. Factors influencing quality variation in cocoa (Theobroma cacao) bean flavour profile - A review. **Food Research International**, v. 82, p. 44-52, 2016. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.012

24. LI, A.; WEI, P.; HSU, H. C.; COOKS, R. G. Direct analysis of 4-methylimidazole in foods using paper spray mass spectrometry. **Analyst**, v. 138, n. 16, p. 4624-4630, 2013. https://doi.org/10.1039/C3AN00888F

25. LIM, K. Y.; SASMITA, A. O.; LING, A. P. K.; KOH, R. Y.; VOON, K. G. L.; SAY, Y. H.; WONG, Y. P. (2018). Neuroprotective Mechanisms of Orientin against Hydrogen Peroxide-induced Oxidative Damage in SH-SY5Y Cells. **Journal of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 10-18 2018. https://journal.hibiscuspublisher.com/index.php/JOBIMB/article/view/384

26. LOUREIRO, G. A.; ARAUJO, Q. R.; SODRÉ, G. A.; VALLE, R. R.; SOUZA Jr, J. O.; RAMOS, E. M.; COMERFORD, N. B.; Grierson, P. F. Cacao quality: Highlighting selected attributes. **Food Reviews International**, v. 33, n. 4, p. 382-405, 2017. https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1175011

27. MENG, S.; CAO, J.; FENG, Q.; PENG, J.; HU, Y. Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013. https://doi.org/10.1155/2013/801457

28. MINIGHIN, E. C.; ANASTÁCIO, L. R.; MELO, J. O. F.; LABANCA, R. A. Açai (*Euterpe oleracea*) and its contributions to achieve acceptable daily intake of essential fatty acids. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, e760986116, 2020. http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6116

29. NORN, S.; PERMIN, H.; KRUSE, P. R.; KRUSE, E. From willow bark to acetylsalicylic acid. **Dansk medicinhistorisk arbog**, v. 37, n. 79, 2009. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20509453/

30. ODAI, T.; TERAUCHI, M.; KATO, K.; HIROSE, A.; MIYASAKA, N. Effects of Grape Seed Proanthocyanidin Extract on Vascular Endothelial Function in Participants with Prehypertension: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. **Nutrients**, v. 11, n. 12, p. 2844, 2019. https://doi.org/10.3390/nu11122844

31. OGAH, C. O.; OBEBE, O. T. Caffeine content of cocoa and coffee beverages in Lagos, Nigeria. **Journal of innovative research in engineering and sciences**, v. 3, n. 1, 2012. https://www.semanticscholar.org/paper/Caffeine-Content-of-Cocoa-and-Coffee-Beverages-in-Ogah-Obebe/f932de1c1ceb2dcad86290e28ca81436d5245bfb

32. OLIVEIRA, C. T.; RAMOS, A. L. C. C.; MENDONCA, H. O. P.; CONSENZA, G. P.; SILVA, M. R.; FERNANDES, C.; AUGUSTI, R.; MELO, J. O. F.; FERREIRA, A. V. M.; ARAUJO, R. L. B. Quantification of 6-gingerol, metabolomic analysis by paper spray mass spectrometry and determination of antioxidant activity of ginger rhizomes (*Zingiber officinale*). **Research, Society and Development**, v. 9, p. e366984822, 2020. http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.4822

33. ORACZ, J.; NEBESNY, E.; ŻYZELEWICZ, D. Changes in the flavan-3-ols, anthocyanins, and flavanols composition of cocoa beans of different Theobroma cacao L. groups affected by roasting conditions. European Food Research and Technology, v. 241, n. 5, p. 663–681, 2015. https://doi.org/10.1007/s00217-015-2494-y

34. ORTEGA, N.; ROMERO, M. P.; MACLÀ, A.; REGUANT, J.; ANGLÈS, N.; MORELLÓ, J. R.; MOTILVA, M. J. Obtention and characterization of phenolic extracts from different cocoa sources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 20, p. 9621–9627, 2008. https://doi.org/10.1021/jf8014415

35. PATRAS, M. A.; MILEV, B. P.; VRANCKEN, G.; KUHNERT, N. Identification of novel cocoa flavonoids from raw fermented cocoa beans by HPLC-MSn. **Food Research International**, v. 63, p. 353–359, 2014. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.031

36. PEREIRA-CARO, G.; BORGES, G.; NAGAI, C.; JACKSON, M. C.; YOKOTA, T.; CROZIER, A.; ASHIHARA, H. Profiles of phenolic compounds and purine alkaloids during the development of seeds of Theobroma cacao cv. Trinitario. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 2, p. 427–434, 2013. https://doi.org/10.1021/jf304397m

37. RAMOS, A. L. C. C.; MENDES, D. D.; SILVA, M. R.; AUGUSTI, R., MELO, J. O. F.; ARAÚJO, R. L. B.; LACERDA, I. C. A. Chemical profile of *Eugenia brasiliensis* (Grumixama) pulp by PS/MS paper spray and SPME-GC / MS solid-phase microextraction. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, e318974008, 2020. http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4008

38. ROMANENS, E.; LEISCHTFELD, S. F.; VOLLAND, A.; STEVENS, M. J.; KRÄHENMANN, U.; ISELE, D.; FISCHER, B.; MEILE, L.; SCHWENNINGER, S. M. Screening of lactic acid bacteria and yeast strains to select adapted anti-fungal co-cultures for cocoa bean fermentation. **International journal of food microbiology**, v. 290, p. 262-272, 2019. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.10.001

39. RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037

40. SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; JÁUREGUI, O.; CASALS, I.; ANDRÉS-LACUEVA, C.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*). **Journal of mass spectrometry**, v. 38, n. 1, p. 35-42, 2003. https://doi.org/10.1002/jms.395

41. SANTOS, C. O. D.; BISPO, E. D. S.; SANTANA, L. R. R. D.; CARVALHO, R. D. S. D. Use of "cocoa honey"(*Theobroma cacao* L) for diet jelly preparation: an alternative technology. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 3, p. 640-648, 2014. https://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-042/13

42. SILVA NETO, P. J. D.; MATOS, P. G. G.; MARTINS, A. C.; SILVA, A P. Sistema de produção de cacau para a Amazônia brasileira. Comissao Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, Belém: PA, Brasil, 2001.

43. SILVA, E. B. M.; AUGUSTI, R; MELO, J. O. F.; TAKAHASH, J. A.; ARAÚJO, R. L. B. de. Physicochemical characterization, antioxidant activity and fingerprints of industrialized “detox” mixed beverages by paper spray mass spectrometry. **Química Nova**, v. 43, n. 3, p.319-324, 2020. http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170490

44. SILVA, M. R.; FREITAS, L. G.; SOUZA, A. G.; ARAÚJO, R. L.; LACERDA, I. C.; PEREIRA, H. V.; AUGUSTI, R.; MELO, J. O. F. Antioxidant Activity and Metabolomic Analysis of Cagaitas (Eugenia dysenterica) using Paper Spray Mass Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 5, p. 1034-1044, 2019. https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190002

45. SILVA, V. D. M.; ARQUELAUA, P. B. F.; SILVA; M. R.; AUGUSTI, R.; MELO, J. O. F.; FANTE, C. A. Use of paper spray-mass spectrometry to determine the chemical profile of ripe banana peel flour and evaluation of its physicochemical and antioxidant properties. **Química Nova**, v. 43, n. 5, p. 579-585, 2020. http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170521

46. SILVA, V. D. M.; MACEDO, M. C. C.; SANTOS, A. N.; SILVA, M. R.; AUGUSTI, R.; LACERDA, I. C. A.; MELO, J. O. F.; FANTE, C. A. Bioactive activities and chemical profile characterization using paper spray mass spectrometry of extracts of Lindl. leaves. **Rapid Communications In Mass Spectrometry**, v. 34, p. 1, 2020. https://doi.org/10.1002/rcm.8883.

47. SONG, Y.; CUI, T.; XIE, N.; ZHANG, X.; QIAN, Z.; LIU, J. Protocatechuic acid improves cognitive deficits and attenuates amyloid deposits, inflammatory response in aged AβPP/PS1 double transgenic mice. **International Immunopharmacology**, v. 20, n. 1, p. 276-281, 2014. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2014.03.006

48. STEINBERG, F. M.; BEARDEN, M. M.; KEEN, C. L. Cocoa and chocolate flavonoids: implications for cardiovascular health. **Journal of the American dietetic association**, v. 103, n. 2, p. 215-223, 2003. https://doi.org/10.1053/jada.2003.50028

49. SUNIL, C.; XU, B. An insight into the health-promoting effects of taxifolin (dihydroquercetin). **Phytochemistry**, v. 166, p. 112066, 2019. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.112066

50. SZCZEPANIAK, O.; LIGAI, M.; KOBUS-CISOWSKA, J.; TICHONIUK, M.; DZIEDZINSKI, M.; PRZEOR, M.; SZULC, P. The Genoprotective Role of Naringin. **Biomolecules**, v. 10, n. 5, p. 700, 2020. https://doi.org/10.3390/biom10050700

51. TAVERNA, D.; DI DONNA, L.; BARTELLA, L.; NAPOLI, A.; SINDONA, G.; MAZZOTTI, F. Fast analysis of caffeine in beverages and drugs by paper spray tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 14, p. 3783-3787, 2016. https://doi.org/10.1007/s00216-016-9468-1

52. TEBAYASHI, S. I.; ISHIHARA, A.; TSUDA, M.; IWAMURA, H. Induction of clovamide by jasmonic acid in red clover. **Phytochemistry**, v. 54, n. 4, p. 387-392, 2000. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00098-4

53. TSAI, S. J.; YIN, M. C. Anti-glycative and anti-inflammatory effects of protocatechuic acid in brain of mice treated by D-galactose. **Food and chemical toxicology**, v. 50, n. 9, p. 3198-3205, 2012. https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.05.056

54. TÜRKER, M.; DALAR, A. In vitro antioxidant and enzyme inhibitory properties and phenolic composition of M. neglecta Wallr. (Malvaceae) fruit: A traditional medicinal fruit from Eastern Anatolia. **Industrial Crops and Products**, v. 51, p. 376–380, 2013. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.09.015

55. VENDITTI, A.; BIANCO, A.; FREZZA, C.; CONTI, F.; BINI, L. M.; GIULIANI, C.; BRAMUCCI, M.; QUASSINTI, L.; DAMIANO, S.; LUPIDI, G.; BEGHELLI, D.; CATERBI, S.; PETRELLI, D.; VITALI, L. A.; PAPA, F.; CAPRIOLI, G.; MAGGI, F. Essential oil composition, polar compounds, glandular trichomes and biological activity of Hyssopus officinalis subsp. aristatus (Godr.) Nyman from central Italy. **Industrial crops and products**, v. 77, p. 353-363, 2015. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.002

56. WANG, H.; LIU, J.; COOKS, R. G.; OUYANG, Z. Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry. **Angewandte Chemie**, v. 122, n. 5, p. 889-892, 2010. https://doi.org/10.1002/ange.200906314

57. WANG, X.; AN, F.; WANG, S.; AN, Z.; WANG, S. Orientin attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in rat model through the AQP-4 and TLR4/NF-κB/TNF-α signaling pathway. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, v. 26, n. 10, p. 2199-2214, 2017. https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.05.002

58. WHITKUS, R.; DE LA CRUZ, M.; MOTA-BRAVO, L.; GÓMEZ-POMPA, A. Genetic diversity and relationships of cacao (*Theobroma cacao* L.) in southern Mexico. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 96, n. 5, p. 621-627, 1998. https://doi.org/10.1007/s001220050780

59. WINTER, A. N.; BRENNER, M. C.; PUNESSEN, N.; SNODGRASS, M.; BYARS, C.; ARORA, Y.; LINSEMAN, D. A. Comparison of the neuroprotective and anti-inflammatory effects of the anthocyanin metabolites, protocatechuic acid and 4-hydroxybenzoic acid. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2017, 2017. https://doi.org/10.1155/2017/6297080

60. YAZAKI, K.; SASAKI, K.; TSURUMARU, Y. Prenylation of aromatic compounds, a key diversification of plant secondary metabolites. **Phytochemistry**, v. 70, p. 1739-1745, 2009. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.08.023

25

Phenolic compounds in native potato (*Solanum tuberosum* L.) cooking water, with potential antioxidant activity

- Carmen Rosa **Rojas-Padilla**
- Víctor Javier **Vasquez-Villalobos**
- Camilo Elber **Vital**
- Julio Cesar **Rojas Naccha**
- Nelson Horacio **Ríos Campos**
- Ángel Pedro **Lujan Salvatierra**
- Viviano Paulino **Ninaquispe Zare**

doi 10.37885/201102010

ABSTRACT

Objective: This research objective was to identify and quantify phenolic compounds in potato cooking water from freeze-dried slices with peel and from the whole potato stored for 20 days at 18.5 - 21.5 °C, 68 - 70% Relative Humidity. **Methods**: Extracts were obtained with an aqueous solution composed of 50% methanol and 0.5% acetic acid. Fifteen secondary metabolites were monitored using the Ultra Performance Liquid Chromatography system coupled to mass spectrometry (UPLC-MS / MS). A calibration curve (from 0.1ng to 100 µg) was generated, and the data were analyzed using the software "MassHunter Workstation" VB 06.00. The results were expressed as mg/100 g of sliced potato or raw potato. Principal Components Analysis (*PCA*) was performed using XLSTAT 2015 Software. **Results:** The main phenolic compounds (mg / 100 g of freeze-dried sliced potato) are chlorogenic acid (46.18), vanillin (16.03), *p*-coumaric acid (9.73), caffeic acid (9.41), 4-hydroxy -3-methoxy cinnamaldehyde (7.83), ferulic acid (5.97), neochlorogenic acid (2.07). The metabolite content in the cooking water of the Huagalina native potato is directly related to the freshness of the product before cooking. **Conclusions**: Potato cooking water could be considered a nutraceutical food. However, further research is required to identify any other substances harmful to health, depending on the amount consumed.

Keywords: Native Potato, Phytochemicals, Boiled Potato, Chlorogenic Acid, Cancer.

OBJECTIVE

Identify and quantify phenolic compounds found in potato cooking water to demonstrate that it contains bioactive antioxidant compounds with a potentially beneficial effect on human health.

METHODS

Chemical materials

HPLC grade standards were obtained from Sigma-Aldrich (USA): 3,5-dihydroxy benzoic acid, neochlorogenic acid, chlorogenic acid, 4-hydroxybenzoic acid, caffeic acid, syringic acid, vanillin, *p*-coumaric acid, ferulic acid, sinapic acid, 4-hydroxy-3-methoxy-cinnamaldehyde, coumarin, daidzein, genistein, 7-hydroxyflavone.

Plant materials

Fields trials were carried out in Santiago de Chuco - La Libertad at two experimental sites: El Zuro (EZ) and Huayatan Alto (HA).

El Zuro (3 750 m.a.s.l.), sandy loam texture soil, with good drainage, moderate and deep slope, acid with a pH of 5.3, electrical conductivity of 0.3 dS /m (no salt), organic matter: 6.4% (very high), phosphorus 17 ppm (high) and potassium 477 ppm (very high), annual average temperature 9 °C (dry cold climate) and organic manuring (Guano de Islas 2 MT/ha) under drought conditions.

Huayatan Alto (3 450 m.a.s.l), loamy soil with good drainage, with slightly pronounced and moderately deep slope, acid with a pH of 5.0, 1.5 dS/m (no salt) electrical conductivity, organic matter 5.2% (high), phosphorus 14 ppm (average) and potassium 80 ppm (low), with average annual temperature of 10 °C (temperate climate with presence of drizzle) and inorganic fertilization (180-200-160 kg of NPK /ha, under drought conditions.

Potatoes from EZ and HA were classified in two samples :

a. Whole fresh potatoes were washed with tap water and the surface allowed to dry, manually cut into slices of 5 mm thickness, freeze-dried and packaged with liquid nitrogen in sealed jars. These samples will be called throughout the article as SP-EZ and SP-HA.
b. Whole potatoes were stored as raw material at 18.5 - 21.5 °C, 68 - 70% Relative Humidity for 20 days. These samples will be called throughout the articles as RP-EZ and RP- HA.

Sample preparation

The following treatments were used prior to extraction:

a. SP-EZ and SP-HA were unfreezed and then boiled in water 1/3 w/w (slices / water) for 20 min from boiling point. We analyzed phenolic compounds in SP water.
b. RP-EZ and RP-HA were boiled in water 1/3 w/w (potato/ water) for 20 min from start point. We analyzed phenolic compounds in RP water.

Extraction

Extraction solution (ES) used was an aqueous solution of 50% methanol (HPLC grade-Sigma Aldrich) and 0.5% acetic acid (Fluka Analytical HPLC-grade), the same ES used by Narváez-Cuenca ***et al.***, (2012). An aliquot solution of boiling water of each two treatment (SP and RP) was placed with 500 µL of the ES in vortex (VWR Analog Vortex Mixer, USA) 4 times for 10 seconds, sonicated (Branson Ultrasonic bath 3800, USA) for 10 min at 4 °C and kept in ice (30 minutes). After centrifugation (Eppendorf 5424, Germany) at 15000 g for 10 minutes at 4°C, 350 µL of the supernatant was removed and put in a new tube. The process was repeated two more times with the resultant pellet, and the supernatants were pooled together. A final centrifugation (Eppendorf 5424, Germany) at 20000 g for 10 min at 4°C was performed to remove any remaining tissue suspension, and stored at -80°C until further analysis. Each treatment was repeated three times.

UPLC – MS/MS analysis

Extracts were automatically injected (5 µl) in the system using UPLC (*Agilent 1200 Infinity Series, USA)* coupled to a Mass Spectrometry type triple Quadrupole (QqQ), (*model 6430 Agilent Technologies, USA)*. Chromatographic separation was carried out on a column Zorbax Eclipe Plus C18, 1.8 µm, 2.1 x 50 mm (Agilent, USA) at 30°C, in series with a guard column Zorbax SB-C18, 1.8 µm (Agilent, USA). The solvents used were: (A) acetic acid 0.02% in water and (B) acetic acid 0.02 % in acetonitrile (LC-MS grade, Fluka Analytical). The solvent flow rate was 0.3 mL/min. A linear gradient with the following proportions of solvent B was used: gradient from 0 to 11 minutes, 5 to 60% B; from 11 to 13 minutes, 60 to 95% B; from 13 to 17 minutes, 95% B; from 17 to 19 minutes, 95 to 5% B; from 19 to 20 minutes, 5% B. The ionization method used in the mass spectrometry was an ESI (*Electrospray Ionization*) following these conditions: gas temperature of 300°C, nitrogen flow rate of 10 L/min, nebulizer pressure of 35 psi and capillary voltage of 4000 V. The equipment was operated on mode MRM (*Multiple Reaction Monitoring*). The mass of the precursor ion/fragment (m/z) established was monitored by fragmentation tests of each molecule: 3,5 dihydroxybenzoic acid (155.02/137.01), chlorogenic acid (355.00/163.00),

4-hydroxybenzoic acid (139.12/121.00), 4- hydroxy-3-methoxy cinnamaldehyde (179.10/147.04), coumarin (147.06/91.00), daidzein (255.00/199.00), genistein (271.00/243.00), 7-hydroxyflavone (239.07/137.00), neochlorogenic acid (353.10/179.00), caffeic acid (179.00/135.00), syringic acid (197.00/121.200), vanillin (151.00/92.00), *p*-coumaric acid (163.04/119.00), ferulic acid (193.00/134.00), sinapic acid (223.00/164.10). The first eight were scanned in positive mode and the last in negative mode. A calibration curve (0.1 ng a 100µg) using the respective standards of each metabolite was generated to determine the absolute quantification. The generated data were analyzed in the software "MassHunter Workstation" VB 06.00, which obtained the peak areas for each phenolic metabolite and the results were expressed in mg/100 g of dry tissue.

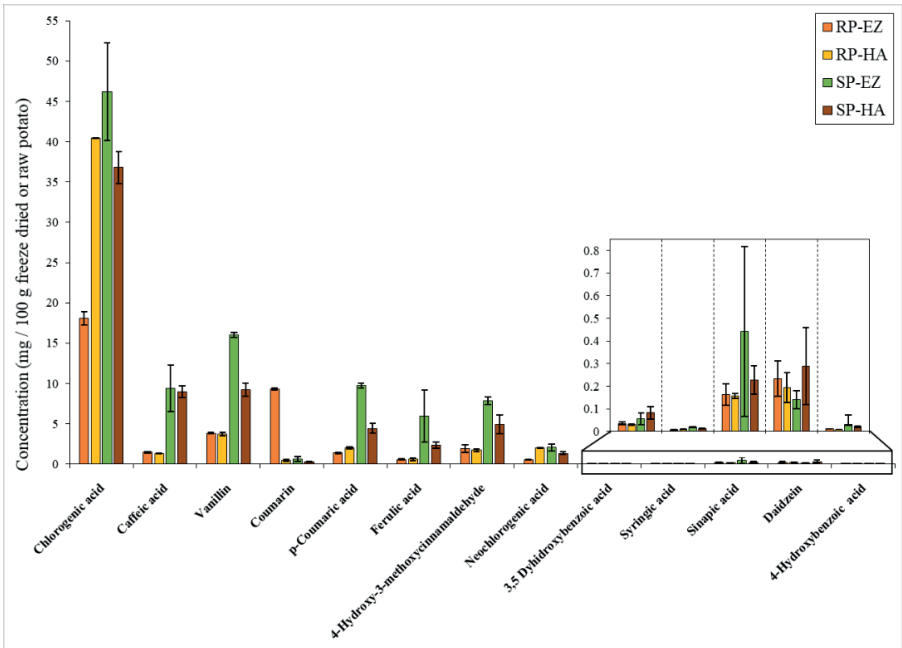
Statistical analysis

Principal Components Analysis (PCA) was performed using Software XLSTAT 2015 (Digital license).

RESULTS

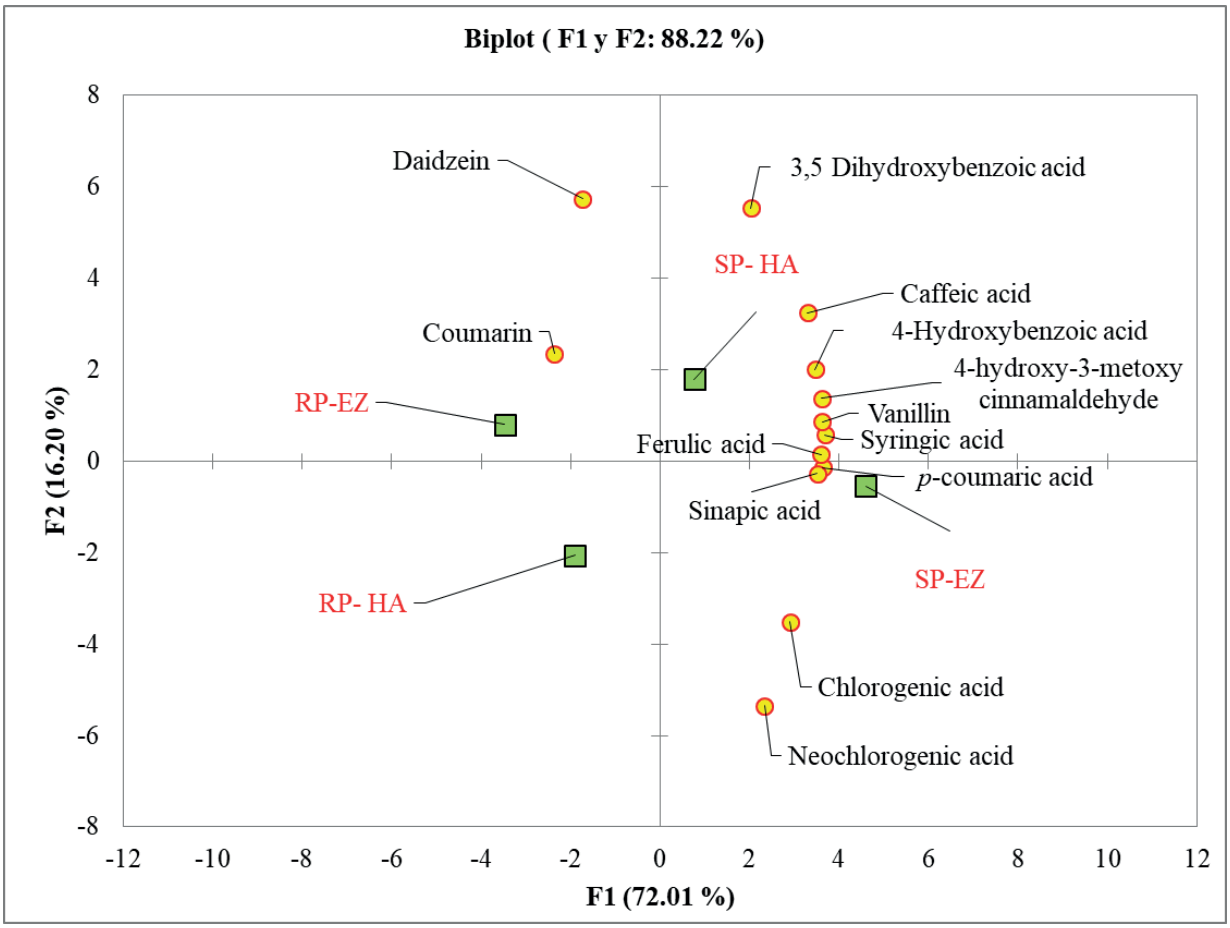
In Figure 1, the phenolic compounds have been identified and quantified in the cooking water of the Huagalina native potato. The main phenolic compounds (mg / 100 g of freeze-dried sliced potato) are chlorogenic acid (46.18), vanillin (16.03), *p*-coumaric acid (9.73), caffeic acid (9.41), 4-hydroxy -3-methoxy cinnamaldehyde (7.83), ferulic acid (5.97), neochlorogenic acid (2.07). In RP water, the main phenolic compound (mg/100 g of raw potato) is coumarin (9.31).

Figure1. Phenolic compounds in potato cooking water



The results are shown in Figure 2; principal component analysis (PCA), indicates principal component F1 (72.01%) values are on the x-*axis* and principal component F2 (16.20 %) values are on the y-*axis*. The total variance accounts for 88.22%. F1 component shows that the metabolite content in the cooking water of the Huagalina potato is directly related to the freshness of the product (SP).

Figure 2. PCA of phenolic compounds in potato cooking water



DISCUSSION

The higher concentration of metabolites in SP- potato cooking water(Figure 1) could be explained by potatoes boiling in water. This contact surface between potatoes and water is higher. Therefore it is an excellent transfer of analytes to water that increases the concentration of phenolic compounds. Also, phenolic compounds are leached into the hot water and are often supplemented by the heat that extracts them and improves their bioavailability. They are highly reactive species that participate in the reactions that occur during the cooking process and are related to the cultivar: agro-technical processes, climatic conditions, maturity during the harvest, post-harvest manipulations (STRATIL ***et al.***, 2006; PALERMO ***et al.***, 2014).

It has been found in this research. that the boiling water of potato contains phenolic compounds (phytonutrients) whose human health benefits have been demonstrated in several

studies *in vivo* or *in vitro* : Chlorogenic acid (CHO ***et al***., 2010; SATO ***et al***., 2011; SHI ***et al***., 2016), vanillin (LIRDPRAPAMONGKOL ***et al***., 2005), caffeic acid, coumarin, and ferulic acid (NASR BOUZAIENEA ***et al***., 2015; SERAFIM ***et al***.,2015) sinapic acid (ROY & PRINCE, 2012).

According to the World Health Report (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002), low fruit and vegetable consumption reflects the population´s economic, cultural, and agricultural environment. It has become one of the ten main risk factors attributed to mortality from non-communicable diseases. It depends on whether many people with low consumption of fruit and vegetables result in approximately 19% of gastrointestinal cancers, 31% of ischemic heart disease, and 11% of cerebrovascular accidents. In total, 2.7 million deaths (4.9%) and 26.7 million lost years of healthy life (1.8%) were attributed to the low consumption of fruit and vegetables.

Food and Agricultural Organization of the United Nations (2015) launched The Global Initiative on Food Loss and Waste Reduction. It focuses on sustainable food production and diets and sustainable consumption (for example, reducing food waste). In his sense, potato cooking water contains phytonutrients for disease prevention as it is not currently a habit to consume it if we encouraged its consumption instead of discarding it. It would help complete the recommended intake of antioxidants that, according to the World Health Organization (2004), should be five fruits and vegetables a day (approx. 400 g) for the diversity of antioxidants they provide.

By Figure 2, the metabolite content in the cooking water of the Huagalina potato is directly related to the freshness of the product because the sample was freeze-dried and packaged with liquid nitrogen in sealed jars until analysis (SP), with what was mentioned by Carrillo ***et al***., (2012). Some studies report that cold storage (< 5 °C) of potatoes either leads to an increase in the phenolic compounds or keeps it constant (MQNDY ***et al***.,1966; LEWIS ***et al***.,1999; STUSNHNOFF ***et al***.,2008).

In the cooking water of potatoes stored at 18.5 - 21.5 °C, 68 - 70% Relative Humidity for 20 days (RP-EZ), only two phenolic compounds (daidzein and coumarin) were found with low correlation and significance ($p>0.05$).

F2 component shows a differentiation in the distribution of phenolic compounds due to climatic differences in crops (REYES ***et al***., 2004) and according to the conventional and organic fertilization (HAJSLOVÁ ***et al***., 2005). Eleven metabolites were distributed in SP cooking water. Still, the highest correlation was found in SP-EZ, as can be seen on the Biplot. Chlorogenic acid and its isomer neochlorogenic acid showed similar vector directions implying a high relationship between them. The same as vanillin- syringic acid; *p*-cumaric acid; syringic acid; ferulic acid-syringic acid; sinapic acid- vanillin (Pearson correlation coefficient >0.9724 and $p<0.05$).

For the results in this research, potato cooking water could be considered as a nutraceutical food. This potato water is traditional medicine in the Peruvian Andes for illness and wellness purposes in humans. However, further research is required to identify any other substances harmful to health, depending on the amount consumed. The thirteen metabolites

found in potato cooking water are the same as those found in raw potatoes of the same variety and origin (ROJAS -PADILLA & VÁSQUEZ VILLALOBOS, 2016).

CONCLUSION

The cooking water of the Huagalina native potato SP-EZ and SP-HA contains phytonutrients with potential antioxidant activity to prevent non-transmissible degenerative diseases. The phenolic compounds with the higher concentrations were (mg/100 g freeze-dried SP): Chlorogenic acid (46.18), vanillin (16.03), *p*-coumaric acid (9.73), caffeic acid (9.41), coumarin (9.31), 4-hydroxy- 3-methoxy - cinnamaldehyde (7.83), ferulic acid (5.97), neochlorogenic acid (2.07). According to F1 (72.01%), metabolite content in the cooking water of Huagalina potato is directly related to the freshness of the product before cooking. F2 (16.29 %) demonstrates that the highest correlations of phenolic compounds were found in SP-EZ. Chlorogenic acid-neochlorogenic acid, with a high degree of relationship between them. The same as vanillin-syringic acid; *p*-cumaric acid –syringic acid; ferulic acid-syringic acid; sinapic acid- vanillin (Pearson correlation coefficient >0.9724 and p<0.05). These metabolites have been studied, and the health benefits have been demonstrated *in vivo* or *in vitro.*

It is vital to continue studying the environmental conditions of potato cultivation, which are responsible for the different distribution of the phenolic compounds in both locations studied, highlighting the predominance of the genetics of the Huagalina variety in the profile of the phytonutrients found. Potato cooking water could be considered a nutraceutical food. However, further research is required to identify any other substances harmful to health, depending on the amount consumed.

REFERENCES

1. ADAMS, J. Green colour development in potato cooking water. **Food Chemistry**, 49(3), p. 295-298. 1994. http://dx.doi.org/10.1016/0308- 8146(94)90174-0.

2. ALBISHI,T., ; JOHN, J. ; Al-KHALIFA, A.; SHAHIDI, F. Phenolic content and antioxidant activities of selected potato. **Journal of Functional Foods**, 5(2), p. 590-600, 2013. http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2012.11.019.

3. Al-WESHAHY, A.; VENKET RAO, A. Isolation and characterization samples of six potatoes varieties growing in Ontario. **Food Research International**, 42, p. 1062-1066, 2009. http://dx.doi.org/10.1016/j. foodres.2009.05.011.

4. ANDRÉ, C.; LEGAY, S.; IAMMARINO, C.; ZIEBEL, J.; GUIGNARD, C.; LARONDELLE, Y.; HAUSMAN, J. F.; EVERS, D.; MIRANDA, L. M. The potato in the human diet: a complex matrix with potential health benefits**. Potato Research**, 57(3-4), p.201-214, 2014. http://dx.doi.org/10.1007/ s11540-015-9287-3.

5. BUONO, V.; PARADISO, A.; SERIO, F.; GONNELLA, M.; DE GARA, L.; SANTAMARIA, P. Tuber quality and nutritional components of “early” potato subject to chemical haulm dessication. **Journal of Food Composition and Analysis**, 22(6), p. 556-562, 2009. http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2009.01.001.

6. CARILLO, P.; CACACE, D.; DE PASCALE, S.; RAPACCIUOLO, M.: FUGGI, A. Organic vs. traditional potato powder. **Food Chemistry**, 133(4), p. 1264-1273, 2012. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.088.

7. CHO, A.; JEON, S.; KIM, M.; YEO, J.; SEO, K. Y.; CHOI, M. S. ; LEE, M. K. (2010). Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. **Food and Chemical Toxicology**, 48(3), p. 937-943,2010. http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2010.01.003. PMid:20064576.

8. CHOI, J.; KIM, S. H.; RAH, Y. C.; CHAE, S. W.; LEE, J. D.; MD, B. D. L.; PARK, M. K. Effects of caffeic acid on cisplatin-induced hair cell damage in HEI-OCI auditory cells. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, 78(12), p. 2198-2204, 2014. http://dx.doi. org/10.1016/j.ijporl.2014.10.013. PMid:25458160.

9. EZEKIEL, R.; SING, N.; SHARMA, S.; KAUR, A. (2013). Beneficial phytochemicals in potato: a review. **Food Research International**, 50(2), p. 487-496, 2013. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.025.

10. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. **Global initiative on food loss and waste reduction**. 2015. Rome: FAO. Retrieved from: http://www.fao.org/3/a-i4068e.pdf

11. HAJSLOVÁ, J., SCHULZOVÁ, V., SLANINA, P., JANNÉ, K., HELLENAS, K. E., ANDERSSON, C. Quality of organically and conventionally grown potatoes:four-year study of micronutrients, metals, secondary metabolites, enzymic browning and organoleptic properties. **Food Additives and Contaminants**, 22(6), p. 514-534, 2005. http://dx.doi. org/10.1080/02652030500137827. PMid:16019825.

12. HAN, K. H.; MATSUMOTO, A.; SHIMADA, K.; SEKIKAWA, M.; FUKUSHIMA, M. Effects of anthocyanin-rich purple potato flakes on antioxidant status in F344 rats fed a cholesterol-rich diet. **British Journal of Nutrition**, 98(5), p.914-921.2007 .http://dx.doi.org/10.1017/S0007114507761792. PMid:17559701.

13. JI, X.; RIVERS, L.; ZIELINSKI, Z.; XU, M.; MAC DOUGALL, E.; STEPHEN, J.; ZHANG, S.; WANG, Y.; CHAPMAN, R. G.; KEDDY, P.; ROBERTSON, G. S.; KIRBY, C. W.; EMBLETON, J.; WORRALL, K.; MURPHY, A.; DE KOEVER, D.; TAI, H.; YU, L.; CHARTER , E.; ZHANG, J. Quantitative analysis of phenolic components and glycoalkaloids from 20 potato clones and in vitro evaluation of antioxidant, cholesterol uptake, and neuroprotective activities. **Food Chemistry**, 133(4), p.1292-1298, 2012 . http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.065.

14. KINSELLA, J.; FRANKEL, E.; GERMAN, B.; KANNER, J. Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. **Food Technology**, 4, p.85-89. 1993.

15. Lewis, C., Walker, J., & Lancaster, J. Changes in anthocyanin, flavonoid and phenolic acid concentrations during development and storage of coloured potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 79(2), p. 311-316, 1999.http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199902)79:2<311::AID-FA199>3.0.CO;2-Q.

16. LIRDPRAPAMONGKOL, K.; SAKURAI, H.; KAWASAKI, N.; CHOO, M.K.; SAITOH, Y.; AOZUKA, Y.; SINGHIRUNNUSORN, P.; Ruchirawat, S.; Svasti, J.; Saiki, I. Vanillin suppresses *in vitro* invasion and *in vivo* metastasis of mouse breast cancer cells. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 25(1), p. 57-65, 2005. http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2005.01.015. PMid:15854801.

17. Madiwale, G.; Reddivari, L.; Holm, D.; Vanamala, J. Storage elevates phenolic content and antioxidant activity but supresses antiproliferative and pro-apoptotic properties of colored- flesh potatoes against human colon cancer cell lines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 59(15), p. 8155-8166, 2011. http://dx.doi.org/10.1021/jf201073g. PMid:21736387.

18. Markovic, S.; Tosovic, J. Comparative study of the antioxidative activities of caffeoylquinic and caffeic acids. **Food Chemistry**, 210, p. 585-592, 2016 http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.019. PMid:27211685.

19. Mikami, Y.; Yamazawa, T. Chlorogenic acid, a polyphenol in coffee, protects neurons against glutamate neurotoxicity. **Life Sciences**, 139, p. 69-74, 2015. http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2015.08.005. PMid:26285175.

20. Mqndy, N.; Geddedahl, S.; Mobley, E. Effect of storage temperature on the cytochrome oxidase and polyphenol oxidase activities and phenolic content of potatoes. **Journal of Food Science**, 31(1), p. 32-37, 1966. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1966.tb15411.x.

21. Narváez-Cuenca, C.E.; Vincken, J.P. ; Gruppen, H.. Identification and quantification of (dihydro) hydroxycinnamic acids and their conjugates in potato by UHPLC-DAD-ESI-MS. **Food Chemistry**, 130(3),p.730-738, 2012. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.050.

22. Nasr Bouzaiene, N. Kilani Jaziri, S. Kovacic, H. Chekir-Ghedira, L. Ghedira, K., Luis, J. (2015). The effects of caffeic, coumaric and ferulic acids on proliferation, superoxide production, adhesion and migration of human tumor cells *in vitro*. **European Journal of Pharmacology**,766, p.99-105, 2015. http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.09.044. PMid:26432689.

23. Ong, K.; Hsu, A.; Tan, B. Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by AMPK activation. **Biochemical Pharmacology**, 85(9), p. 1341-1351, 2013. http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2013.02.008. PMid:23416115.

24. Palermo, M.; Pellegrini, N.; Fogliano, V. The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 94(6), p.1057-107, 2014. http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.6478. PMid:24227349.

25. Reyes, L.; Miller, J.; CIsneros-Zevallos, L. Environmetal conditions influence the content and yield of anthocyanins and total phenolics in purple-and red flesh potatoes during tuber development. **American Journal of Potato Research**, 81(3), p.187-193, 2004. http://dx.doi.org/10.1007/BF02871748.

26. Rojas-Padilla, C.; Vasquez-Villalobos, V. Phenolic compounds with antioxidant capacity of the native Andean potato (*Solanum tuberosum L.*) Huagalina variety in La ibertad. Peru. **Scientia Agropecuaria**, 7(3), p.333-340, 2016. http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.22.

27. Roy, S. J.; Prince, P. S. M. Protective effects of sinapic acid on Isosomal dysfunction in isoproterenol induced myocardial infarcted rats. **Food and Chemical Toxicology**, 50(11), p.3984-3989, 2012. http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.08.017. PMid:22921837.

28. Sato, Y. ; Itagaki, S, ; Kurokawa, T.; Ogura, J.; Kobayashi, M.; Hirano, T.; Sugawara, M. Y.; Iseki, K. *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. **International Journal of Pharmaceutics**, 403(1-2), p.136-138, 2011.http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.09.035. PMid:20933071.

29. Serafim, T. ; Milhazes, N. ; Borges, F.; Oliveira, P. Caffeic and ferulic acid derivatives: use in breast cancer. In V. Preedy (Ed.), **Coffee in health and disease prevention**. London: Academic Press, 2015. http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00074-7.

30. Shi, H.; Shi, A.; Dong, L.; Lu, X.; Wang, Y.; Zhao, J.; Dai, F.; Guo, X. Chlorogenic acid protects against liver fibrosis in vivo and in vitro through inhibition of oxidative stress. **Clinical Nutrition**, 35(6), p. 1366-1373, 2016. http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2016.03.002. PMid:27017478.

31. Singh, N.; Rajini, P. S. Free radical scavenging activity of an aqueous extracts of potato peel. **Food Chemistry**, 85(4), p. 611-616, 2005. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.003

32. Spooner, D.; McLean, K.; Ramsay, G.; Waugh, R.; Bryan, G. A single domestication for potato based on multilocus amplied fragment length polymorphism genotyping. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 102(41), p. 14694-14699, 2005. http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0507400102. PMid:16203994.

33. Stratil, P.; Klejdus, B.; Kubáň, V. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54(3), p.607-616, 2006. http://dx.doi.org/10.1021/jf052334j. PMid:16448157.

34. Stushnoff, C.; Holm, D. ;Thompson, M. ; Jiang, W.; Thompson, H.; Joyce, N.; Wilson, P. Antioxidant properties of cultivars and selections from the Colorado Potato Breeding Program. **American Journal of Potato Research**, 85(4), p. 267-276, 2008. http://dx.doi.org/10.1007/s12230-008-9032-4.

35. Thompson, M.; Thompson, H.; McGinley, J.; Neil, E.; Rush, D.; Holm, D.; Stushnoff, C. Functional food characteristics of potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.):phytochemical composition and inhibition of 1-methyl-1-nitrosourea induced breast cancer in rats. **Journal of Food Composition and Analysis**, 22(6), p. 571-579, 2009. http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2008.09.002.

36. Umadevi, M.; Sampath, P.; Bhowmik, D.; Duraivel, S. Health benefits and cons of *Solanum tuberosum*. **Journal of Medicinal Plant Studies**, 1(1), p. 16-25, 2013.

37. World Health Organization – WHO. **Reducing risks and promoting health life.** Genebra: WHO.2002. Retrieved from http://www.who.int/whr/2002/en/whr02_en.pdf?ua=1

38. World Health Organization – WHO. **Global strategy on diet, physical activity and health.** Genebra: WHO. 2004. Retrieved http://www.who.int/dietphysicalactivity/strategy/eb11344/strategy_english_web.pdf

39. Ye, J. C.; Hsiao, M. W.; Hsieh, C. H.; Wu, W. C.; Hung, Y. C.; Chang, W. C. Analysis of caffeic acid extraction from *Ocimum gratissimum* Linn. by high performance liquid chromatography and its effects on a cervical cancer cell line. **Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology,** 49(3), p. 266-271, 2010. http://dx.doi.org/10.1016/S1028-4559(10)60059-9. PMid:21056309.

40. Znaor, A. Van den Hurk, C. PrimicZakelj, M. Agius, D. Coza, D. Demetriou, A. Dimitrova, N. Eser, S. Karakilinc, H. Zivkovic, S. Bray, F. Coebergh, J. W. Cancer incidence and mortality patterns in South Eastern Europe in the last decade:gaps persist compared with the rest of Europe. **European Journal of Cancer**, 49(7), p.1683-1691, 2013. http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2012.11.030PMid:23265703.

26

Potencial de aplicação de compostos bioativos de *Psidium guajava* em produtos lácteos

- Natália Lima **Myazaki**
  UFSC
- Giordana Demaman **Arend**
  UFSC
- Katia **Rezzadori**
  UFSC
- Silvani **Verruck**
  UFSC

doi 10.37885/201102192

RESUMO

O Brasil é um grande produtor e processador de goiaba, com isso a quantidade de subprodutos desse processamento também é elevada. Por esse fator, alternativas que viabilizam a utilização desses resíduos estão em ascendência, uma vez que diversos estudos já comprovaram que as folhas, cascas e sementes do fruto apresentam compostos fitoquímicos com potencial bioativo e antioxidante. A aplicação de compostos bioativos é uma tendência no mercado mundial de alimentos por conta das mudanças de estilo de vida da população e pelo aumento da busca por alimentos com benefícios complementares à saúde, como os funcionais. Já é comprovado em testes *in vitro* e *in vivo* que esses compostos podem evitar o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, reforçando a ideia proposta pela nutrigenômica. No nicho alimentício os derivados lácteos, principalmente os queijos e leites fermentados são matrizes com características que favorecem a adição de compostos bioativos. Neste sentido, as interações dos componentes do leite com esses compostos são capazes de aumentar a biodisponibilidade, a bioatividade e a capacidade antioxidante dos mesmos. Sendo assim, este trabalho visa sobre descrever o potencial bioativo das folhas de goiabeira, seus efeitos benéficos e o potencial de aplicação desses compostos em matrizes lácteas como queijos e leites fermentados.

Palavras-chave: Goiabeira, Compostos Fenólicos, Alimentos Funcionais, Lácteos Funcionais.

INTRODUÇÃO

Psidium guajava L. é uma árvore frutífera pertencente à família *Myrtaceae* popularmente conhecida como goiabeira (HAIDA *et al*., 2011). É uma planta amplamente distribuída no território nacional, sendo que a região Nordeste foi considerada a maior produtora do Brasil em 2019 segundo dados compilados no Sistema IBGE de Recuperação Automática- SIDRA (IBGE, 2019). Boa parte da produção de goiaba é destina as indústrias de sucos, geleias, polpas congeladas e doces (BARBALHO *et al*., 2012). Do processamento da goiaba cerca de 52,2 mil.t.ano^{-1} de folhas, cascas e sementes são descartadas (FARIAS, 2016). Porém estudos em busca de soluções para o reaproveitamento dos resíduos como subprodutos e utilização das propriedades tecnológicas, funcionais e nutricionais destes resíduos tem se acentuado nos últimos tempos, uma vez que são produtos ricos em compostos bioativos, nutrientes e minerais (FARIAS, 2016).

As folhas da goiabeira apresentam fitoquímicos com potencial antioxidante como os compostos fenólicos, vitaminas C e E, tocoferóis e carotenoides que são substâncias secundárias produzidas pelas plantas (HAIDA *et al*., 2011). Estes compostos apresentam várias funções nos vegetais como defesa contra herbívoros e patógenos, atrativos de polinizadores ou dispersores de frutos, na proteção contra a radiação ultravioleta, no suporte mecânico ou na redução do crescimento de plantas competidoras adjacentes (CUTRIM *et al*., 2018). Os fitoquímicos são divididos em classes (Quadro 1) e possuem três grupos quimicamente distintos: carotenoides, compostos fenólicos e compostos nitrogenados.

Quadro 1. Classificação dos fitoquímicos

Fitoquímicos	**Componentes Funcionais**	
Compostos Fenólicos	Alcalides	
	Compostos Nitrogenados	
	Compostos Organosulfurados	
	Flavonoides	Flavonóis
		Flavonas
		Flavanóis
		Flavanonas
		Antocianinas
		Isoflavonas
Carotenoides	α – caroteno	
	β-caroteno	
	β-criptoxantina	
	Luteína	
	Zeaxantina	
	Astaxantina	
	Licopeno	

Fonte: Adaptado Taiz e Zeigert (2004).

O potencial antioxidante dos fitoquímicos ocorre devido a capacidade desses compostos em protegerem o sistema biológico contra a oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares (ABDALLA; FAINE, 2008). Os antioxidantes são divididos em antioxidantes primários, que tem a capacidade de vetar a oxidação por tornar os radicais livres estáveis e inativos através da doação de átomos de hidrogênio ou elétrons; e os antioxidantes secundários, estes apresentam vários modos de ação, como a conversão de hidroperóxidos em espécies não radicalares, ligação de íons metálicos, absorção de radiação UV e inativação de espécies reativas com o oxigênio (SILVA *et al*., 2010).

A fácil aquisição de suplementos alimentares é apenas um dos fatores que justificam o faturamento de bilhões de reais dessas indústrias no Brasil (MOLIN *et al*., 2019). O consumo de nutrientes isolados ou suplementos dietéticos na forma de cápsulas são denominados como nutracêuticos, estes estão envolvidos na prevenção e no tratamento de doenças, possuindo assim invocação médica (MORAES *et al*., 2006). Porém o perfil dos consumidores tem mudado e o interesse por alimentos que têm como característica a capacidade de diminuir o risco de doenças, que possuem valor agregado e maior valor nutricional tem aumentado significativamente (SANTILLÁN- URQUIZA *et al*., 2014).

Por já existirem estudos que identificaram os componentes das cascas, sementes, folhas e frutos da goiaba é possível inferir que o vegetal por completo apresenta grande potencial de aplicabilidade em alimentos, uma vez que são capazes de modular e melhorar as características sensoriais, nutricionais e microbiológicas de uma ampla gama de alimentos. Araújo *et al.* (2018) elaboraram em escala industrial um *frozen yogurt* com geleia de goiaba com potencial probiótico, Thomaz *et al.* (2014) avaliaram a aceitabilidade positiva de produtos de panificação enriquecidos com farinha de semente de goiaba e Ziena *et al.* (2009) analisaram a viabilidade de produzir iogurte com extrato de folha de goiaba e concluíram que sensorialmente o produto foi bem aceito, além disso, o produto também apresentou um aumento da quantidade de compostos fenólicos, a contagem microbiológica se manteve ideal por toda o *shelf life* e a atividade antioxidante foi aumentada.

COMPOSTOS BIOATIVOS DE FOLHAS DE PS*IDIUM GUAJAVA L.*

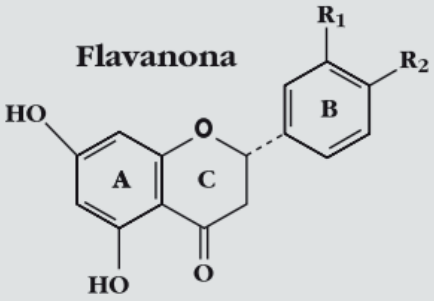
Nas folhas da goiabeira os compostos bioativos encontrados são: flavonoides, taninos condensados e saponinas (SILVA *et al*., 2013). Os flavonoides pertencem ao grupo de compostos fenólicos mais abundantes na natureza, sua estrutura química básica é a flavona, que consiste de 15 átomos de carbono arranjados em 3 anéis (Figura 1), sua atividade antioxidante advém da sua facilidade em transferir átomos de hidrogênio do grupo –OH do anel aromático ao radical livre. Ao agir como antioxidante o flavonoide (FIOH) gera um radical

aroxila (FIO°), que reage com um segundo radical formando uma estrutura estável denominada quinona (FIO) como representado nas equações 1 e 2 (VASCONCELOS *et al.*, 2006).

$$FIOH + R° \rightarrow RH + FIO° \quad \textbf{Equação 1}$$

$$FIO° + R° \rightarrow RG + FIO \quad \textbf{Equação 2}$$

Figura 1. Estrutura química da flavonona

Flavonóides	Sub-classes
	Hesperetina (R_1= OH; R_2= OMe) Naringenina (R_1= H; R_2=OH)

Fonte: Adaptado Vasconcelos, Silva e Goulart (2006)

Para que a atividade antioxidante seja medida quantitativamente e de forma precisa, uma vez que os alimentos são matrizes complexas, são necessárias análises que envolvam vários métodos para saber quais radicais são gerados, uma vez que existem diferentes tipos que atuam de diversas maneiras no organismo (ALVES *et al.*, 2010). Os ensaios antioxidantes em alimentos e sistemas biológicos podem ser divididos em dois grupos: ensaios que avaliam peroxidação lipídica onde o grau de inibição da oxidação é avaliado e ensaios que avaliam a capacidade de sequestrar radicais livres (ALVES *et al.*, 2010).

O método mais utilizado para a determinação de rancidez oxidativa é o método do Ácido 2-Tiobarbitúrico (TBARS), que consiste na quantificação do melonaldeído, em unidades de absorbância, que é um dos produtos da decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados (SILVA *et al.*,1999). Outro método de avaliação antioxidante aplicado principalmente para plantas medicinais por ser altamente sensível e de simples aplicabilidade é o método de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazila), que se baseia na capacidade antioxidante de uma substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo este a uma hidrazina. Esta mudança estrutural é responsável pela mudança de coloração da molécula de violeta para amarelo claro, ou seja, a mudança de coloração ocorre quando há uma substância doadora de átomos de hidrogênio em uma solução contendo DPPH (ALVES *et al.*, 2010).

Por serem compostos altamente reativos, os taninos têm a facilidade em formar ligações de hidrogênio intra e intermolecularmente e são facilmente oxidáveis tanto por ação

de enzimas como por ação de metais (RODRIGUES, 2008). Historicamente os taninos são classificados como taninos condensados e taninos hidrolisáveis, sendo que o primeiro pode ser denominado também como proantocianidinas, por serem comumente hidrolisados a antocianidinas e são oriundos da polimerização de unidades de flavonóides, já os taninos hidrolisáveis são provenientes de polímeros heterogêneos que contém ácido gálico e açúcares (RODRIGUES, 2008).

As saponinas apresentam em seu núcleo a sapogenina e a aglicona, que são responsáveis pela lipofilicidade da molécula e os açúcares que estão ligados a essas estruturas são os responsáveis pela hidrofilicidade, sendo a quantidade e a posição desses açúcares os responsáveis pela designação das mesmas (SALGADO, 2017). Esses metabolitos secundários além de terem como principal efeito o metabolismo de lipídios e diminuição do colesterol sérico ou colesterol total do organismo (MOURA *et al*., 2019), também apresentam potencial em relação a atividade antioxidante, uma vez que as saponinas têm a capacidade de estimular o sistema enzimático antioxidante e consequentemente inibir a formação de radicais livres (HOUNG *et al*.,1998).

A área da nutrigenômica sugere que os alimentos oferecem vantagens, quando comparados com os seus constituintes isolados, no tratamento de doenças (ADERKANI *et al*., 2009). Isto pode estar associado à presença de vários compostos bioativos na alimentação que exercem efeitos sinérgicos ou aditivos. Estes compostos ao serem detectados por sensores celulares podem desencadear alterações na síntese de proteínas e consequentemente mudanças metabólicas na expressão gênica (MÜLLER *et al*., 2003). Dessa forma, há a possibilidade de escolher alimentos com a finalidade de se evitar a ocorrência de doenças crônicas não-transmissíveis (DCNT).

Foram realizados estudos utilizando as folhas, sementes e cascas da goiaba para o tratamento e a prevenção de DCNT. Os resultados demonstraram atividade benéfica em tratamentos respiratórios, hipertensão, obesidade, diabetes, como antiespasmódico, anti-inflamatório, sedativo para a tosse, além de propriedades anticancerígenas (RYU *et al*., 2011; AREND, 2020) e atividade antimicrobiana contra diversos micro-organismos (ANDRADE *et al*., 2019). A atividade antimicrobiana do extrato da folha de goiabeira foi avaliada por Gonçalves *et al.* (2008) frente a bactérias entéricas diarreicogênicas *Staphylococcus aureus, Salmonella spp*. e *Escherichia coli*., isoladas de camarão sete barbas (*Xiphopenaeus kroyeri* (Heller)). Estes autores reportaram que dentre os diluentes utilizados (metanol, hexano e acetato de etila), o extrato metanólico foi o que apresentou melhor resultado de inibição bacteriana, enquanto as bactérias *Staphylococcus aureus* e a *Salmonella spp.* apresentaram maior susceptibilidade a este extrato.

ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS E COMPOSTOS BIOATIVOS EM PRODUTOS LÁCTEOS

Mundialmente o leite está entre os cinco produtos mais comercializados e no cenário nacional o setor é o segundo mais importante das indústrias de alimentos, tendo expressiva importância tanto em quantidade quanto em valor comercial (SIQUEIRA, 2019). Dentro do nicho de novos produtos que apresentaram sucesso com a adição de compostos bioativos e que possuem um grande potencial de investimento, incluem-se principalmente os queijos e os leites fermentados (SIQUEIRA, 2019; SANTILLÁN- URQUIZA *et al*., 2014).

A fácil aquisição de suplementos alimentares é apenas um dos fatores que justificam o faturamento de bilhões de reais dessas indústrias no Brasil (MOLIN *et al*., 2019). O consumo de nutrientes isolados ou suplementos dietéticos na forma de cápsulas são denominados como nutracêuticos, estes estão envolvidos na prevenção e no tratamento de doenças (MORAES *et al*., 2006). Porém o perfil dos consumidores tem mudado e o interesse por alimentos que têm como característica a capacidade de diminuir o risco de doenças, que possuem valor agregado e maior valor nutricional tem aumentado significativamente (SANTILLÁN- URQUIZA *et al*., 2014).

Nestas tendências de alimentos lácteos funcionais, é de extrema importância os estudos das interações dos componentes do leite com os compostos bioativos que estão sendo aplicados, uma vez que essas interações podem afetar a bioatividade, a biodisponibilidade e a atividade antioxidante desses compostos. Além disso, as indústrias de alimentos têm como desafio a caracterização final dos produtos em relação a qualidade sensorial, físico química e microbiológica (CUTRIM *et al*., 2018). Cilla *et al.* (2012) constataram que as interações dos componentes do leite com tocoferois, carotenoides e ácido ascórbico provocam influências positivas na biodisponibilidade destes compostos antioxidantes e há um aumento da aceitação sensorial de leites fermentados acrescidos principalmente de extratos aquosos (GRANATO *et al*., 2018).

O leite apresenta em média de 30 a 40 gramas de proteína por litro (WATTIAUX *et al*., 1995). Estruturalmente são encontradas na forma de micelas, estas por sua vez são partículas porosas compostas basicamente por caseína, água e minerais (SILVA *et al*., 2019). As proteínas são divididas em caseínas (α, β, k) e proteínas do soro (α-lactoalbumina e β- lactoglobulina) (WATTIAUX *et al*., 1995). Há evidencias de que tais proteínas sofrem influências dos compostos fenólicos, mas os mecanismos responsáveis por tais interações ainda não são bem definidos. A estabilidade das micelas é de fundamental importância no beneficiamento do leite à derivados lácteos (SILVA *et al*., 2019).

Quando objetiva-se fazer creme de leite, leite condensado e doce de leite é importante que a estabilidade micelar seja mantida, porém na fabricação de queijos e leites fermentados

o foco é a desestabilização das micelas (SILVA *et al.*, 2019). Já existem estudos comprovando que principalmente a β-caseína e a β-lactoglobulina tem a capacidade de se ligar mais fortemente aos polifenóis, uma vez que apresentam características naturais hidrofóbicas e ligações de hidrogênio presentes nessas proteínas (LAMOTHE *et al.*, 2016). Em conjunto, as micelas são importantes veículos dos compostos bioativos, principalmente quando estes estão nas formas de emulsões, nano ou microcápsulas e hidrogéis (RANADHEERA et al., 2016), consequentemente esses fatores aumentam a biodisponibilidade dos compostos bioativos.

Uma das características que designa a qualidade do leite é a composição lipídica que a matéria-prima apresenta, além de possuir importância de valor nutricional (ácido linoleico conjugado) e industrial (PARDO *et al.*, 2013). Langley-Evans (2000) avaliou o potencial antioxidante de chá preto e chá verde adicionados de leite nas preparações e concluiu que a absorção de antioxidantes no trato digestivo humano não foi interferida, mas houve a diminuição da atividade antioxidante e foi menos perceptível quando o preparo era feito com leite desnatado ou semidesnatado. Tal redução pode ser justificada pelo fato de os flavonoides apresentarem estrutura em anel, que por conta disso são facilmente solubilizadas em meio lipídico e como consequência há a associação da gordura com os flavonoides.

O Quadro 2 apresenta aplicações de compostos bioativos em queijos. Apesar de existirem mais de 400 tipos de queijos, classificados quanto a dureza (duro, semiduro e macio), quanto ao tratamento dado a massa (massa cozida, massa semi-cozida, massa crua e massa extraída do soro) e quanto ao tipo de coagulação (lática natural e lática associada a uma pequena quantidade de coalho) e a composição oscilar conforme cada tipo, os teores de gorduras, proteínas, cinzas e água variam entre 20-40%, 20-35%, 1-4% e 20-50 % respectivamente (GAVA *et al.*, 2008). Os métodos de fabricação dos queijos possuem etapas primordiais e são elas: coagulação, corte da coalhada, tratamento da coalhada, dessoragem, enformagem, salga e cura (GAVA *et al.*, 2008). Pela Portaria nº 146 de 07 de março de 1996, queijo é o produto obtido pela separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído através da ação de agentes coagulantes físicos, bactérias ou enzimas específicas ou ácidos orgânicos, podendo ser consumido fresco ou maturado, acrescido ou não de especiarias, aditivos, aromatizantes e corantes (BRASIL, 1996). Além de estarem entre os produtos lácteos mais exportados pelo Brasil, os queijos são os que apresentam maior taxa de crescimento de vendas nos últimos anos. Isso se justifica pois, são nutritivos, de fácil consumo, apresentam grandes variedades de texturas, sabores e tamanhos, satisfazendo assim as demandas dos consumidores (Embrapa Gado de Leite, 2019), que estão cada dia mais exigentes.

Quadro 2. Aplicações de compostos bioativos em queijos.

Tipo de queijo	Composto bioativo adicionado	Principais conclusões do trabalho	Referência
Kalari	Extrato de cedro-deodara (2,5% e 5,0%)	A aplicação do extrato apresentou bons resultado referente à diminuição da atividade antimicrobiana de psicrofílicos e aumento na atividade antioxidante, por conta da presença de fitoquímicos e compostos bioativos no extrato.	Mahajan *et al*., 2016
Tipo Cheddar	Extrato de flor *Inula britannica* (0,25%, 0,50%, 0,75% e 1,0%)	O aumento da atividade antioxidante (DPPH) foi proporcional ao aumento da concentração do extrato no queijo. Além disso, a adição do extrato elevou a aceitação sensorial em relação a textura, odor e sabor.	Lee *et al*., 2016
Tradicionais Argentinos	Óleo essencial de orégano (50, 100, 150 e 200 mg/kg)	O óleo não afetou no desenvolvimento das bactérias lácticas em concentrações inferiores a 150 mg/kg, não interferiu sensorialmente nos queijos e, além disso, impediu o crescimento de enterobactérias.	Marcial *et al*., 2016
Cheddar sem conservante	Extratos de especiarias e ervas: pau de canela, orégano, cravo, casca de romã e semente de uva (40%)	Os extratos de todas as ervas analisadas apresentaram resultados positivos contra os patógenos *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus e Salmonella enterica.* Além disso, a oxidação lipídica (TBARS) foi inibida, com maior eficiência com a aplicação de extrato de cravo.	Shan *et al*., 2011
Tipo cottage	Extrato aquoso e hidroetanólico de alecrim (10%, 25% e 50%)	O extrato aquoso apresentou melhor atividade antioxidante em relação ao extrato hidroetanólico, pois possuem maiores quantidades de compostos fenólicos. Em ambos os extratos a bioatividade e a biodisponibilidade foram melhoradas quando encapsulados.	Ribeiro *et al*., 2016

Adaptado de: GRANATO *et al*. (2018); RIBEIRO *et al*. (2016).

A utilização do lactossoro proveniente da fabricação de queijos na formulação leites fermentados são uma das alternativas para as indústrias de alimentos, sendo que esse subproduto contém cerca de 50 % dos nutrientes do leite. Além disso, há uma contribuição para com o meio ambiente, uma vez que o soro exige uma demanda biológica de oxigênio elevada (ALMEIDA *et al*., 2001). Possivelmente, os leites fermentados foram os primeiros alimentos funcionais a serem estudados, são involuntariamente relacionados com a saúde, possuem valor acessível, *shelf-life* elevado quando comparado com o leite e também apresentam sabor único, em decorrência da redução do pH do meio provocada pela conversão da lactose em ácido láctico (fermentação láctica) que ocorre no leite pela adição de bactérias específicas, denominadas de bactérias ácido lácticas, dentre elas *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei, Bifidobacterium sp, Streptococus salivarius subsp thermophilus* que também são responsáveis por diferenciar as classes dos leites fermentados (YILDIZ, 2010; CARNEIRO *et al*., 2012). O Quadro 3 apresenta aplicações de compostos bioativos em leites fermentados.

Já existem estudos com a aplicação da *Psidium guajava L* em diversas áreas, inclusive em alimentos, todos eles com resultados bastante promissores, principalmente pelo fato da presença dos compostos bioativos, fibras e minerais tanto no fruto quanto nos resíduos do vegetal. Díaz-de-Cerio *et al.* (2017) compilaram resultados de estudos *in vitro* e *in vivo* utilizando folhas de goiaba realizados entre 2004 e 2016. Alguns resultados apresentados no trabalhos destes autores são:

- Em relação a doenças infecciosas e parasitárias: os extratos das folhas ajudaram

a evitar o crescimento do vírus influenza devido à presença de flavonoides e apresentaram atividade antibacteriana;

- Neoplasias: devido à presença de quercetina e glicosídeos de quercetina os extratos das folhas de goiaba a atividade proliferativa de adenocarcinoma de cólon foi diminuída;
- Doenças do sangue e sistema imunológico em ratos: as folhas apresentaram efeitos antianêmicos;
- Doenças endócrinas e metabólicas: vários trabalhos se concentram em esclarecer os compostos antidiabéticos presentes nas folhas;
- Doenças do sistema circulatório em ratos: os extratos das folhas apresentaram efeitos anti-hipertensivos possivelmente relacionados a atividade dos compostos bioativos;
- Doenças do aparelho digestivo: as folhas apresentaram capacidade antiulcerativa, pois há a proteção da mucosa em decorrência da presença de flavonoides e as folhas também foram sugeridas como alternativas para higiene bucal por apresentarem atividade antiplaca, também em decorrência da presença de flavonoides e taninos;
- Doenças da pele e sistema subcutâneo: as folhas têm sido sugeridas no controle de dermatite atópica.

Nesse sentido, a aplicação de extratos bioativos de *Psidium guajava* em produtos lácteos torna-se uma alternativa promissora para o desenvolvimento de produtos lácteos funcionais.

Quadro 3. Aplicações de compostos bioativos em leites fermentados.

Tipo de leite fermentado	Composto bioativo adicionado	Principais conclusões do trabalho	Referência
Iogurte	Canela em pó (1,5%)	Após avaliação de digestibilidade *in vitro*, os iogurtes fortificados com canela em pó podem ser considerados importantes fontes de polifenóis bioacessíveis.	Helal *et al.*, 2018
Iogurte tipo grego	Extrato aquoso e etanólico de Stévia (1%)	Com a adição do extrato de stévia houve o aumento do sabor doce dos iogurtes e, além disso, o extrato etanólico aumentou a atividade antioxidante (FRAP, DPPH e ABTS).	Park *et al.*, 2016
Koumis	Extrato aquoso *Hibiscus sabdariffa Linn* (0,5% e 1,0%)	A adição do extrato apresentou inibição do desenvolvimento de *E.coli,* não provocou mudanças sensoriais perceptíveis e por apresentar coloração avermelhada a aplicação do extrato diminuiu a utilização de corantes artificiais.	Nuraeni *et al.*, 2014
Leite fermentado	Farinha de laranja (1%) e maracujá (1%)	A adição de farinha de laranja apresentou resultados positivos e melhores na atividade antioxidante (DPPH) do que a farinha de maracujá. Porém a adição de ambas as farinhas foi negativa em relação ao tempo do processo fermentativo.	Borgonov *et al.*, 2016
Leite fermentado simbiótico	Casca de jabuticaba (2,5% e 5,0%)	A adição de casca de jabuticaba liofilizada na elaboração do leite fermentado não interferiu no processo fermentativo. Além disso, a casca agiu como sequestrante de radicais livres e consequentemente possui elevada atividade antioxidante (95% com extração em solução hidroalcoólica).	Faria *et al.*, 2016
Iogurte	Polifenóis de azeitona (50g)	O estudo concluiu que o consumo de iogurte enriquecido com polifenóis de azeitonas por indivíduos sem disfunções diminuiu os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e a peroxidação lipídica. Além disso as características sensoriais foram melhoradas, pois houve um acumulo de ácido lático e consequentemente maior crescimento de cultura *starter*.	Georgakouli *et al.*, 2016

Tipo de leite fermentado	Composto bioativo adicionado	Principais conclusões do trabalho	Referência
Iogurte	Suco de laranja (10%, 15% e 20%) e estabilizador de gelatina (0,5, 0,6 e 0,7%)	Por conta da adição do estabilizador a sinérese foi reduzida e como consequência da adição do suco de laranja observou-se que o conteúdo de carotenoides e o valor nutricional melhoraram significativamente.	Kiros et al., 2016
Iogurte	Chá verde, chá branco e chá preto (2%)	O estudo avaliou o teor de compostos fenólicos nos chás adicionados ao iogurte e concluiu que a concentração de polifenóis no extrato de chá verde são maiores e consequentemente este apresentou maior atividade antioxidante, seguido do chá branco e chá preto.	Muniandy et al., 2016
Iogurte	Extrato aquoso de *Pleurotus ostreatus (0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%)*	Os iogurtes desnatados que foram elaborados com os extratos além de apresentarem maior atividade antioxidante, maior concentração de polifenóis e melhores características reológicas, favoreceram a multiplicação das cepas ácido láticas.	Vital *et al*., 2015
Iogurte	Suco de romã bruto (10%, 15% e 20%)	A adição de suco de romã apresentou resultados positivos ao ser utilizado como agente antioxidante e antimicrobiano. Além disso houve aumento no teor de cinzas, proteínas, gorduras e carboidratos totais.	Ali *et al*., 2016
Iogurte	Suco de morango crioconcentrado (15% and 30%)	A contagem total de bactérias do ácido láctico permaneceu superior a 8 log UFC / mL durante o tempo de armazenamento para todas as bebidas estudadas. A incorporação da polpa de morango crioconcentrada ao iogurte resultou em um produto com 3 vezes mais teor de antocianinas e atividade antioxidante.	Jaster et al., 2018

Adaptado de: Granato *et al*., 2018; Faria *et al*., 2016; Georgakouli *et al*., 2016; Kiros et al., 2016; Muniandy et al., 2016; Vital *et al*., 2015; Ali *et al*., 2016.

BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS

Após cientistas japoneses estudarem os vínculos entre nutrição, modulações do sistema fisiológico, satisfação sensorial e fortificação surgiu então pela primeira vez o conceito de alimento funcional (SILVA *et al.*, 2017). O Ministério da Saúde define alimentos funcionais como sendo alimentos ou ingredientes responsáveis por causar efeitos benéficos à saúde como a redução do risco de doenças crônico degenerativas, ou seja, são alimentos que possibilitam a combinação de produtos comestíveis com moléculas biologicamente ativas (MORAES *et al.*, 2006). Tal definição e os benefícios causados por essa categoria são em decorrência deles apresentarem em sua composição princípios ativos denominados de substâncias bioativas (PEREIRA *et al.*, 2012). Essas substâncias podem ser vitaminas, minerais, macro e micronutrientes que após serem identificados e isolados são incrementados artificialmente em matrizes alimentares industrializadas, tornando-as assim mais nutritivas (FERNÁNDEZ-GARCÍA *et al.*, 2009).

O valor nutricional de um alimento não é revelado através da quantidade de nutrientes que ele apresenta na sua composição química (COZZOLINO, 1997), pois nem todo nutriente da matriz alimentar é liberado e absorvido pelo organismo. O sistema digestório humano é composto pelo trato gastrointestinal (tubo contínuo que começa na boca e termina no ânus) e por órgãos anexos (dentes, língua, glândulas salivares, fígado, vesícula biliar e pâncreas). O processo digestivo nada mais é do que um conjunto de ações mecânicas que reduzem o tamanho das partículas dos alimentos e químicas em que macromoléculas são transformadas em moléculas simples. Desta forma, proporcionando a absorção das mesmas

pela corrente sanguínea para serem utilizadas durante o crescimento e manutenção das células. Porém algumas moléculas são digeridas, mas não são absorvidas e, por isso, são naturalmente eliminadas (COZZOLLINO, 1997).

Uma parcela dos compostos bioativos encontrados nos alimentos de origem vegetal pode não ser desvencilhada da matriz e fica indisponível para a absorção intestinal (SCHELMMER, 1995), a porção que é liberada e absorvida durante o processo digestivo é conhecida também como fração bioacessível (SENA *et al.*, 2017). Para serem considerados bioacessíveis, os compostos bioativos devem estar disseminados em soluções aquosas na forma coloidal ou num sistema micelar (DUCHATEAU *et al.*, 2008). As porções que são digeridas, absorvidas, metabolizadas e utilizadas em funções fisiológicas ou armazenadas pelo organismo são denominadas como biodisponíveis (SENA *et al.*, 2017). Tanto a bioacessibilidade como a biodisponibilidade dos compostos bioativos podem ser avaliadas por métodos *in vivo* e *in vitro*.

Em estudos *in vivo* basicamente duas estratégias são utilizadas para se determinar a quantidade de nutrientes, compostos bioativos e metabólitos que foram absorvidos: 1) estudos de equilíbrio, pela diferença entre a quantidade que foi alimentada e excretada do composto bioativos é possível determinar a quantidade que foi absorvida; 2) concentração tecidual, consiste no monitoramento da concentração dos compostos bioativos no plasma ou no soro (FERNÁNDEZ-GARCÍA *et al.*, 2009). De forma geral o processo digestivo *in vivo* pode ser divido em três fases: fase oral que ocorre na boca, com a mastigação e deglutição do alimento formando então o bolo alimentar; fase gástrica no estômago, onde através dos movimentos peristálticos o bolo alimentar chega até o estômago e começa a ser digerido por ação da pepsina (quebram as proteínas) e do ácido gástrico (auxilia na digestão dos triglicerídeos) e assim forma-se o quimo; fase duodenal, nesta fase o quimo é convertido a quilo, isso ocorre pois com a entrada de lipídios no duodeno a vesícula biliar se contrai e libera a bílis, são excretados também sucos pancreáticos e uma secreção de bicarbonato para neutralizar a quantidade de ácido, enquanto as enzimas iniciam o processo de digestão das proteínas, carboidratos e lipídios (VERSANTVOORT *et al.*, 2004; TORTORA & DERRICKSON, 2009).

Os métodos *in vitro* são muito importantes para determinar a estabilidade e a bioacessibilidade de nutrientes e dos compostos bioativos (GARAY, 2017), pois essa metodologia simula as condições fisiológicas do trato gastrointestinal sobre a amostra alimentar. O processo de simulação da digestão *in vitro* corre em três etapas: 1) fase oral, nesta fase o alimento já começa a ser degradado pela mastigação e pela ação da saliva; 2) digestão gástrica, nas qual a estrutura dos alimentos poliméricos e oligoméricos como é o caso dos carboidratos e das proteínas começam a ser destruídas por ação de enzimas e ácidos; 3)

digestão no intestino delgado, neste órgão que ocorrem as principais etapas de digestão e absorção de nutrientes, carboidratos, proteínas, gorduras, minerais, vitaminas, água e eletrólito (AGUDELO, 2015). É no intestino que os compostos bioativos que foram liberados da matriz alimentar tornam-se bioacessíveis, pois é neste órgão que são solubilizados e absorvidos (RODRÍGUEZ-ROQUE *et al.*, 2015).

Basicamente, os métodos *in vitro* utilizados para simular a realidade fisiológica podem ser descritos como modelos dinâmicos ou modelos estáticos. Os modelos dinâmicos apesar de serem mais sofisticados e se aproximarem mais do modelo *in vivo* por permitirem a regulação do pH, fluxos dinâmicos do alimento e da concentração das enzimas em diversos compartimentos (GONZÁLEZ-ARIAS *et al.*, 2013), são estudos com pequenos números de amostras. Enquanto isso, os modelos estáticos simulam o processo digestivo na boca, estômago e intestino delgado em etapas independentes.

Considerando que alguns modelos *in vitro* podem apresentar pouca relevância fisiológica, e impedem a comparação significativa dos resultados, um dos modelos estáticos que está sendo estudado é o método INFOGEST. Este método foi desenvolvido considerando a diversidade de métodos de simulação gastrointestinal *in vitro* existente por um consenso internacional desenvolvido pela rede de pesquisadores COST INFOGEST (*Improving health properties of food by sharing our knowledge on the digestive process*) (DUPONT *et al.*, 2011). Este conselho disponibilizou um protocolo para simulação gastrointestinal *in vitro*, com a finalidade de padronizar a obtenção dos dados obtidos em todo o mundo (BRODKORB *et al.*, 2019). Este protocolo padronizado é um método de digestão estática que utiliza proporções constantes de fluidos digestivos e um pH constante para cada etapa da digestão. Utilizando este método, as amostras de alimentos são submetidas à digestão sequencial oral, gástrica e intestinal, enquanto parâmetros como eletrólitos, enzimas, bílis, diluição, pH e tempo de digestão são baseados em dados fisiológicos disponíveis. Muitos estudos realizaram a simulação das condições gastrointestinais *in vitro* com alimentos, porém não de forma contínua como naturalmente ocorre durante o processo de digestão e também sem a devida validação do método *in vitro* com o método *in vivo* (EGGER *et al.*, 2017). Sendo assim, o método INFOGEST pode ser utilizado para avaliar os pontos finais resultantes da digestão de alimentos, analisando os produtos da digestão (por exemplo, peptídeos/aminoácidos, ácidos graxos, açúcares simples) e avaliando a liberação de micronutrientes da matriz alimentar como, por exemplo, os compostos bioativos aplicados em matrizes lácteas (BRODKORB *et al.*, 2019).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho revisou os estudos mais recentes envolvendo a aplicação de compostos bioativos em produtos lácteos. A grande quantidade de estudos relacionados à este campo indicam o interesse mundial atual neste assunto. Produtos lácteos, incluindo leites fermentados e queijo, são as principais matrizes estudadas para adição de compostos bioativos como as substâncias fenólicas devido ao conhecido processo de fabricação, consumo diário e grande aceitação dos laticínios pelos consumidores. As interações dos componentes do leite com esses compostos são capazes de aumentar a biodisponibilidade, a bioatividade e a capacidade antioxidante dos mesmos. Foram descritas alternativas que viabilizam a utilização de resíduos da produção de goiaba, uma vez que diversos estudos já comprovaram que as folhas, cascas e sementes do fruto apresentam compostos fitoquímicos com potencial bioativo e antioxidante. Por fim, considerando que há poucos estudos relacionados à aplicação de compostos bioativos de extrato de folhas de goiabeira em produtos lácteos, evidenciamos o potencial de aplicação destes em derivados lácteos com benefícios complementares à saúde, como os funcionais.

REFERÊNCIAS

1. ABDALLA, D. S. P.; FAINE, L. A. Radicais livres e antioxidantes. In: OGA, S; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia**. 3ª edição. São Paulo:Atheneu Editora, p. 37-58, 2008.

2. ADERKANI, A. M. *et al.* Nutrigenômica e Câncer. **Avicenna Journal of Medical Biotechnology**. Teerã, v. 1, n.1, p. 9-17, abr.- jun. 2009. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3558114/

3. AGUDELO, M. A. H. **Estudo da bioacessibilidade in vitro (estática e dinâmica) de alguns metais de importância biológica em semente de soja transgênica e não transgênica.** 2015. 86 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

4. ALI, H. M. *et al.* Influence of Pomegranate Punica granatum as Phytochemical Rich Components on Yoghurt Drink Characteristics. **Middle East Journal of Applied Sciences**, v. 6, n. 1, p. 23-26, jan. 2016. ISSN 2077-4613

5. ALMEIDA, K. E. *et al.* Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Ciência Tecnologia Alimentos.** São Paulo (Campinas), v. 21, n. 2, p. 187-192, ago. 2001. Doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612001000200012

6. ALVES, C. Q. *et al*. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**. São Paulo, v. 33, n. 10, p.2202-2210, out. 2010. doi: http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422010001000033.

7. ANDRADE, A. P. C *et al.*, A ação antimicrobiana dos extratos alcoólicos e aquosos da folha da goiabeira (*Psidium guajava L.)* no controle de *Staphylococcus aureus* ATTCC 27922, *Escherichia coli* ATTCC 25922 e *Listeria monocytogenes* SCOTT A. **Segurança Alimentar e Nutricional**. Campinas (SP), v. 26, p. 1-7, set. 2019. doi: https://doi.org/10.20396/san.v26i0.8655619

8. ARAÚJO, L. G. M. **Processamento industrial de frozen yogurt potencialmente probiótico com geleia de goiaba (*Psidium guajava* L.)**. 2018. 57 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2018.

9. AREND, G. D. **Concentração por nanofiltração dos compostos bioativos presentes em extratos aquosos de folhas de goiabeira (Psidium guajava L.) e avaliação dos efeitos antioxidantes e citotóxicos**. 2020. 108 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020. Disponível em: https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/216140.

10. BARBALHO, S. M *et al.*, *Psidium guajava* (Guava): a plant of multipurpose medicinal applications. **Medicinal & Aromatic Plants**. Marília (SP), v. 1, n. 4, p. 1-6, 2012. doi: https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000104

11. BORGONOVI, Tais Fernanda *et al*. Atividade antioxidante de leites fermentados probiótico. In: Encontro internacional de ciências agrárias e tecnológicas, 1., 2016, Dracena. **Encontro.** Dracena: Unesp, 2016. p. 195-203. Disponível em: https://www.dracena.unesp.br/Home/Eventos/imast/005.pdf.

12. BRASIL. Portaria n°. 146, de 07 de março de 1996. **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos**. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Diário Oficial da União, Brasília, DF

13. BRODKORB, A. *et al*. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. **Nature Protocols**, v. 14, n. 4, p. 991–1014, 2019. Doi: https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1

14. CARNEIRO, C. S. *et al*. Leites fermentados: histórico, composição, características físico-químicas, tecnologia de processamento e defeitos. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.** Paraná (Londrina), v. 6, n. 27, p. 1426-1428, ago. 2012. Doi: 10.22256/pubvet.v6n27.1424

15. CILLA, A. *et al*. Bioaccessibility of Tocopherols, Carotenoids, and Ascorbic Acid from Milk- and Soy-Based Fruit Beverages: Influence of Food Matrix and Processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 29, p. 7282–7290, jun. 2012. Doi: 10.1021/jf301165r

16. COZZOLINO, S. M. F. Disponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição.** São Paulo (Campinas), v. 10, n. 2, p. 87-98, jun. 1997. Doi: http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52731997000200001.

17. CUTRIM, C. S. *et al*. A review on polyphenols: Classification, beneficial effects and their application in dairy products. **International Journal of Dairy Technology**. Rio de Janeiro (Niterói), v. 73, n. 3, p. 564-578, ago. 2018. Doi: 10.1111/1471-0307.12515

18. DÍAZ-DE-CERIO. E. *et al*. Health Effects of Psidium guajava L. Leaves: An Overview of the Last Decade**. International Journal of Molecular Sciences**. v. 18, n. 4, p. 897. Abri 2017. doi: 10.3390/ijms18040897.

19. DUCHATEAU, G. S. M. J. E. *et al*. Product Composition, Structure, and Bioavailability. **Food Biophysics**, v. 3, n. 2, p. 207-212, fev. – jun. 2008. doi: https://doi.org/10.1007/s11483-008-9076-5

20. DUPONT, D. et al. An International Network for Improving Health Properties of Food by Sharing our Knowledge on the Digestive Process. **Food Digestion**, v. 2, n. 1–3, p. 23–25, 2011. doi: 10.1007/s13228-011-0011-8

21. EGGER, L. et al. Physiological comparability of the harmonized INFOGEST in vitro digestion method to in vivo pig digestion. **Food Research International**, v. 102, p. 567–574, 2017. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.047

22. FARIA, G. S. *et al*. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA CASCA DE JABUTICABA (Myrciaria jabuticaba) LIOFILIZADA E SUA APLICAÇÃO EM LEITE FERMENTADO POTENCIALMENTE SIMBIÓTICO. **Jornal de Ciências Biomédicas e Saúde**, v. 2, n. 1, p. 02-09, 2016. ISSN: 2446-9661

23. FARIAS, S. M. O. C. **Avaliação da secagem em diferentes temperaturas sobre o teor de licopeno, carotenoides totais, compostos fenólicos e propriedades tecnológicas do resíduo sólido do beneficiamento da goiaba (*Psidium guajava*).** 2016. f 134. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis -SC, 2016. Disponível em: https://core.ac.uk/download/pdf/84613644.pdf. Acesso em: 30 mar. 2020

24. FERNÁNDEZ-GARCÍA *et al.*, Avaliação da bioacessibilidade in vitro como ferramenta de previsão de eficiência nutricional. **Nutrition Research**, v. 29, n. 11, p. 751-760. Nov. 2009. doi: 10.1016 / j.nutres.2009.09.016

25. GARAY, E. L. **Avaliação da Bioacessibilidade de Compostos Antioxidantes de Plantas Aromáticas: Orégãos e Tomilho limão.** 2017. 75 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) - Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2017.

26. GAVA, A. J. *et al*. **Tecnologia de Alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008.

27. GEORGAKOULI, K et al. The effects of an olive fruit polyphenol-enriched yogurt on body composition, blood redox status, physiological and metabolic parameters and yogurt microflora. **Nutrients**, v. 8, n. 6, jun. 2016. https://doi.org/10.3390/nu8060344

28. GONÇALVES, F. A. *et al*., Antibacterial activity of guava, *Psidium guajava* Linnaeus, leaf extracts on diarrhea-causing enteric bacteria isolated from Seabob shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 50, n. 1, p. 11-15, jan. – fev. 2008. https://doi.org/10.1590/S0036-46652008000100003

29. GONZÁLEZ-ARIAS, C. A. *et al*., Mycotoxin bioaccessibility/absorption assessment using *in vitro* digestion models: a review. **World Mycotoxin Journal,** v. 6, n. 2, p. 167 – 184, abr. 2013. Doi: https://doi.org/10.3920/WMJ2012.1521

30. GRANATO, D., *et al.* Effects of herbal extracts on quality traits of yogurts, cheeses, fermented milks, and ice creams: a technological perspective. **Current Opinion in Food Science***,* v. *19, p. 1-7,* nov. 2018. Doi: 10.1016 / j.cofs.2017.11.013

31. HAIDA, K. S. *et al*., Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de duas variedades de goiaba e arruda. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 9, n. 28, p. 11-19, abr. – jun. 2011. doi: https://doi.org/10.13037/rbcs.vol9n28.1365

32. HELAL, A. *et al*., Impact of in-vitro gastro-pancreatic digestion on polyphenols and cinnamaldehyde bioaccessibility and antioxidant activity in stirred cinnamon-fortified yogurt. LWT - **Food Science and Technology**, v. 89, p. 164–170, 2018. doi:10.1016/j.lwt.2017.10.047

33. HOUNG, N. T. T. et al., In Vitro Antioxidant Activity of Vietnamese Ginseng Saponin and Its Components. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 21, n. 9, p. 978-981.abr.- jun. 1998. Doi: 10.1248/bpb.21.978

34. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Base de dados Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. 2019. Disponível em: https://sidra.ibge.gov.br/home/pms/brasil

35. JASTER, H., *et al.,* Enhancement of antioxidant activity and physicochemical properties of yogurt enriched with concentrated strawberry pulp obtained by block freeze concentration. **Food Research International**, v. 104, p. 119-125, 2018. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.006.

36. KIROS, E. *et al*. Effect of carrot juice and stabilizer on the physicochemical and microbiological properties of yoghurt. **Food Science and Technology**, v. 69, p. 191–196, jun. 2016. doi:10.1016/j.lwt.2016.01.026

37. LANGLEY-EVANS, S. C. Antioxidant potential of green and black tea determined using the ferric reducing power (FRAP) assay. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 51, n. 3, p. 181–188, jul. 2000. doi:10.1080/09637480050029683

38. LAMOTHE, S. *et al.* Antioxidant activity and nutrient release from polyphenol-enriched cheese in a simulated gastrointestinal environment. **Food & Function**. Canadá (Quebec), v. 7, n. 3, p. 1634–1644, fev. 2016. doi: 10.1039/c5fo01287b

39. LEE, N. -K. *et al*. Short communication: Physicochemical and antioxidant properties of Cheddar-type cheese fortified with Inula britannica extract. **Journal of Dairy Science***,* v. 99, n. 1, set. 2016. doi:10.3168/jds.2015-9935

40. MAHAJAN, D. *et al*. Pine needles (Cedrus deodara (Roxb.) Loud.) extract as a novel preservative in cheese. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 7, n. 22, p. 20–25, jan. 2016. doi:10.1016/j.fpsl.2016.01.001

41. MARCIAL G. E. *et al.* Influence of oregano essential oil on traditional Argentinean cheese elaboration: Effect on lactic starter cultures. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 48, n. 3, p. 229-235, agos. 2016. doi: 10.1016/j.ram.2016.04.006.

42. MOLIN, T. R. D. *et al*. Marco regulatório dos suplementos alimentares e o desafio à saúde pública. **Revista Saúde Pública**, v. 53, n. 90, p. 1-12, abri. 2019. Doi: https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2019053001263

43. MORAES, F. P. *et al*. ALIMENTOS FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICOS: DEFINIÇÕES, LEGISLAÇÃO E BENEFÍCIOS À SAÚDE. **Revista Eletrônica de Farmácia.** Passo Fundo (RS), v. 3, n. 2, p. 109-122, nov. 2006. ISSN 1808-0804

44. MOURA, L. G. S. *et al*. Bioacessibilidade de saponinas presentes em tubérculos com potencial aplicação no controle de obesidade e colesterol. In: Congresso Internacional de Nutrição Funcional, 15,2019, São Paulo, Anais do XV Congresso Internacional de Nutrição Funcional, São Paulo (SP) / organizado por VP Editora, 12 a 14 de setembro de 2019, p.9

45. MÜLLER, M. *et al.* Nutrigenomics: goals and strategies. **Nature Reviews Genetics,** v. 4, n. 4, p. 315-322, abr. 2003. doi: 10.1038 / nrg1047

46. MUNIANDY, P. *et al*. Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 8, p. 1–8, fev. 2016. doi:10.1016/j.fpsl.2016.02.002

47. NURAENI, E. *et al.* CHARACTERISTICS OF PROBIOTIC KOUMISS FROM GOAT MILK WITH ADDITION OF ROSELLE EXTRACT (Hibiscus Sabdariffa Linn). **Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture**, v. 39, n. 2, p. 117-125, maio 2014. doi:10.14710/jitaa.39.2.117-125

48. PARDO, P. R *et al*. O leite como alimento funcional: revisão**. Livestock Research for Rural Development**. v. 25, n. 8, agos. 2013.

49. PARK, J. et al. Antioxidant effect of 458 Greek-style fermented milk added with herb extracts. Paper presented at the **International Scientific Conference on Probiotics and Prebiotics**, 2016: p. 111.

50. PEREIRA, R. J. *et al*. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. Lavras (MG), v. 3, n. 4, p.146-152, nov. 2012. ISSN: 2179-4804

51. RANADHEERA, C. S. et al., Utilizing unique properties of caseins and the casein micelle for delivery of sensitive food ingredients and bioactives**. Trends in Food Science & Technology**, v. 57, p. 178–187, nov. 2016. Doi:10.1016/j.tifs.2016.10.005

52. RIBEIRO A. *et al*. Rosemary extracts in functional foods: extraction, chemical characterization and incorporation of free and microencapsulated forms in cottage cheese. **Food & Function**, v. 7, n. 5, p. 2185-2196, maio 2016. DOI: 10.1039/c6fo00270f.

53. RODRIGUES, C. G. **Atividade antibacteriana de taninos extraídos de folhas de *Psidium guineense Sw*. (Myrtaceae).** 2008. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Montes Claros, 2008.

54. RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J. *et al*. Impacto da matriz e processamento de alimentos na bioacessibilidade in vitro de vitamina C, compostos fenólicos e atividade antioxidante hidrofílica de bebidas à base de suco de frutas. **Journal of Functional Foods***,* v. *14,* p. *33-43,* abr. 2015. doi: 10.1016 / j.jff.2015.01.020

55. RYU, N. H. *et al,* A Hexane Fraction of Guava Leaves (*Psidium guajava L.*) Induces Anticancer Activity by Suppressing AKT/Mammalian Target of Rapamycin/Ribosomal p70 S6 Kinase in Human Prostate Cancer Cells. **Journal of Medicinal Food**, Coreia, v. 15, n. 3, mar. – nov. 2011. doi:10.1089/jmf.2011.1701

56. SALGADO, J. **Alimentos Funcionais**. São Paulo: Oficina de Textos, 2017, p.38-50

57. SANTILLÁN-URQUIZA, E. *et al*., **Productos lácteos funcionales, fortificados y sus beneficios en la salud humana**. 2014. f. 14 (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidad de las Américas Puebla, México, 2014.

58. SANTOS, S.C. e MELLO, J.C.P. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS, 1999, p. 614-656.

59. SCHELMMER, U. Bioavailability of nutrients. Conceptual aspects of definition and problems of determination. **The British Journal of Nutrition**,v. 73, n. 1, p. 150-151,jan 1995. doi: 10.1079/bjn19950016.

60. SENA, D. N. *et al*., FARINHAS PROVENIENTES DO PROCESSAMENTO DE FRUTAS: BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS ANTINUTRICIONAIS. **Arquivos Brasileiros de Alimentação**, Ceará, v. 2, n. 3, p.156-163, dez. 2017.

61. SHAN, B *et al*. Potential Application of Spice and Herb Extracts as Natural Preservatives in Cheese. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 3, p. 284–290, 2011. doi:10.1089/jmf.2010.0009

62. SILVA, D. A. R. R. *et al*, Alimentos funcionais: benefícios proporcionados à saúde, destacando o consumo de alimentos probióticos. **Ciência e Cultura**. Lorena (SP), v. 13, n. 2, p.101-110, ago. 2017. doi: 10.4322/1980-0029.112017

63. SILVA, F. A. M. *et al*., Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 94-103, jan.-fev. 1999. doi: https://doi.org/10.1590/S01004042199900010016

64. SILVA, I. C. A. *et al*., Análise Fitoquímica e Atividade Antioxidante do Extrato Hidroetanólico das Folhas de Psidium guajava L. (Goiabeira). **BBR - Biochemistry And Biotechnology Reports**, Londrina, v. 2, n. 2, p.76-78, 15 jul. 2013. Universidade Estadual de Londrina. Doi: http://dx.doi.org/10.5433/2316-5200.2013v2n2espp76.

65. SILVA, M. L. C. *et al*., Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Redalyc**, Londrina, v. 31, n. 3, p.669-682, abr. 2010. doi: http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2010v31n3p669

66. SILVA, N. N. *et al.,* Casein micelles: from the monomers to the supramolecular structure. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, out. 2019. Doi: https://doi.org/10.1590/1981-6723.18518

67. SIQUEIRA, K. B. **O Mercado Consumidor de Leite e Derivados.** Circular técnica n. 120, Embrapa, Jul. 2019. ISSN 1678-037X

68. TAIZ, L.; ZEIGERT, E. Fisiologia Vegetal. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004, p 719.

69. THOMAZ, A. M. A. U. *et al*. Elaboração e aceitabilidade de produtos de panificação enriquecidos com sementes de goiaba (*Psidium guajava L.*) em pó. **Holos**, v. 5, p. 199-210, out. 2014. ISSN 1807-1600

70. TORTORA, G. J. & DERRICKSON, B**. Fundamentos de Anatomia e Fisiologia.** 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 19, p. 447-448.

71. VASCONCELOS, S. M. L et *al*., Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta: estrutura e função. **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 31, n. 3, p.95-118, dez. 2006.

72. VERSANTVOORT, C.H. *et al*., Development and applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of contaminants from food. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 1, p. 31-40, jan. 2004. RIVM report 320102002/2004

73. VITAL, P. A. C *et al.* Microbiological, functional and rheological properties of low fat yogurt supplemented with Pleurotus ostreatus aqueous extract. **Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 1028–1035, dez. 2015. doi:10.1016/j.lwt.2015.07.003

74. ZIENA, H. M. *et al.* Production of funcional yogurt: effect of natural antioxidant from guava. **Journal of Agriculture and Environmental Sciences**, v. 8, n. 1, p. 102, 2009.

75. ZOCAL, R. **Leite nas grandes regiões brasileira**. EMBRAPA São Paulo, 2019. p. 52- 58.

76. WATTIAUX, M. A. Milk composition and nutritional value. In: WATTIAUX, Michel Andre. **Dairy essentials: nutrition and feeding, reproduction and genetic selection, lactation and milking, raising dairy heifers**. Estados Unidos: Madison, Wis.: The Babcock Institute For International Dairy Research And Development, 1995. Cap. 19. p. 73-76.

77. YILDIZ, FATIH. Overview of Yogurt and Other Fermented Dairy Products- **Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products**. Florida (Boca Raton): CRC Press, 2010, p. 1-45.

27

Produção de pão francês a partir da substituição parcial de farinha de trigo por farinha de banana verde

- Fernanda Maria **Vanin**
  USP/FZEA
- Rosemary Aparecida de **Carvalho**
  USP/FZEA
- Yasmin **Rodrigues**
  USP/FZEA

10.37885/201102076

RESUMO

Pães são alimentos básicos, consumidos por diferentes classes sociais nas diferentes regiões do mundo. No Brasil o segmento de mercado de padarias e confeitarias, apesar de apresentar crescimento significativo nos últimos anos, vem apresentando desaceleração quando comparado com períodos anteriores. Neste segmento de mercado observa-se que os consumidores têm procurado consumir alimentos que apresentem benefícios à saúde. Diante deste cenário, o objetivo deste trabalho foi analisar a eficácia da substituição parcial da farinha de trigo, por farinha de banana verde (FB), na produção de pão francês. Os pães foram produzidos com diferentes concentrações de FB e avaliados em relação ao conteúdo de água, parâmetros de cor, volume e textura. Não foram observadas variações significativas no conteúdo de água do miolo dos diferentes pães; por outro lado, a crosta dos pães apresentou aumento significativo em função do aumento da concentração de FB. Já para os parâmetros de cor, observou-se redução significativa do L* tanto da crosta quanto do miolo dos pães, em função do aumento da concentração de FB. O volume dos pães também apresentou redução significativa em função do aumento da concentração de FB, quando esta superou 10%. Os resultados de perfil de textura evidenciaram que concentrações de FB até 10% podem produzir pães com textura próxima aos pães controle. Pode-se concluir que a produção de pães francês com 10% de FB possibilita a produção de pães com características próximas ao tradicional “pão francês”, e que podem, portanto representar uma estratégia econômica para o mercado de padarias e confeitarias brasileiras.

Palavras-chave: Textura, Volume, Mercado Panificação, Conteúdo de Água.

INTRODUÇÃO

O consumo mundial de pão é difundido em diversas culturas desde antes de Cristo (Mondal e Datta, 2003). No Egito, o pão era considerado um alimento básico da população, enquanto em Roma, no período imperial era entregue a comunidade durante as batalhas circenses.

De acordo com a ABIP (Associação Brasileira da Indústria de Panificação e Confeitaria), as empresas de Panificação e Confeitaria brasileiras passaram por um período de crescimento importante até 2010, próximo a 13% ao ano, e nos últimos anos (2015-2019) este valor se mantem em torno de 3% ao ano (ABIP, 2020).

Essa diminuição na taxa de crescimento anual de Padarias e Confeitarias pode ser explicada pelo aumento do consumo de pães industrializados, que oferece diferentes opções de produtos, com uso de diferentes farinhas e outros ingredientes.

Atualmente grande parte do setor de padarias e confeitarias utiliza farinha de trigo como matéria-prima base para a produção de pão francês. Sua produção, feita a partir de ingredientes simples (farinha de trigo, água e sal), é muitas vezes questionada devido à falta de componentes nutritivos essenciais, tais como fibras, vitaminas e minerais, que são perdidos durante o refinamento da farinha de trigo (Maberly, 2003). Além disso, algumas pessoas são hipersensíveis ou intolerantes ao glúten, proteína encontrada no trigo e outros cereais. Apesar desses indivíduos não terem a doença celíaca, seu corpo tem dificuldade em digerir o glúten, podendo causar desconfortos como distensão abdominal, prisão de ventre, artrite, prurido, dermatite, entre outros (Gallagher et al., 2004).

Frente a essa problemática, os consumidores têm-se interessado cada vez mais por alimentos que possuam desempenho positivo em sua saúde, que proporcionam benefícios nutricionais, dietéticos e metabólicos específicos (Lobo & Silva, 2003). No setor de panificação, é crescente o estudo na substituição da farinha de trigo por farinhas de outras fontes de matéria-prima. Desde 1994, o uso de outras fontes de matéria-prima como mandioca, milho, soja e sorgo conjuntamente ao trigo, como fonte complementar em pães e outros produtos, já é demostrado (El-Dash et al., 1994). Porém na última década revela-se um interesse crescente pela utilização de matérias-primas vindas de outras fontes, como frutas principalmente.

Segundo o Sistema Brasileiro de Respostas Técnicas - SBRT (Guerreiro, 2006), a farinha de banana verde é feita a partir de banana verde com baixo teor de açúcares (cerca de 0,5 a 1%), apresentando a casca e as extremidades de coloração totalmente verde, não apresenta sabor e pode ser utilizada na panificação. Em sua composição é característico o alto teor de amido correspondendo de 55 a 93% do teor de sólidos totais (Ramos et al. 2009).

Estudos comprovam que a razão pela qual a farinha de banana faz bem para a saúde humana está relacionado com o alto teor de amido resistente. Faisant et al. (1995) observou

a presença de 47% a 57% de amido resistente na farinha de banana verde. Já Rodriguez-Ambriz et al. (2008) relataram teor de 30,4 % no teor de amido resistente.

O amido resistente é a quantidade de amido, e produtos derivados da degradação de amidos, resistentes à digestão no intestino delgado de pessoas saudáveis (Walter et al., 2005). Dessa forma, por ser fermentado no intestino grosso pode ser considerado um prebiótico. Na sua fermentação são produzidos ácidos graxos de cadeia curta, conhecidos por contribuir para a saúde do colón ao reduzir o pH do intestino grosso, ainda, por essa fermentação ser lenta, não ocorre desconforto pela produção de gases no indivíduo.

Considerando estes aspectos, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da substituição parcial da farinha de trigo por farinha de banana verde, na produção de pão francês visando-se a obtenção de produtos com características próximas ao tradicional "pão francês", aceitável pelo consumidor, porém com atributos funcionais importantes, e que possam representar ainda uma estratégia econômica para o mercado de padarias e confeitarias brasileiras.

OBJETIVO

Avaliar o efeito da substituição parcial da farinha de trigo por farinha de banana verde, na produção de pão francês visando-se a obtenção de produtos com características próximas ao tradicional "pão francês", aceitável pelo consumidor, porém com atributos funcionais importantes, e que possam representar ainda uma estratégia econômica para o mercado de padarias e confeitarias brasileiras.

MÉTODOS

Materiais

Farinha de trigo (FT) (Suprema, Bunge – Brazil), farinha de banana verde (FB) (Zona Cerealisti – Brazil), sal (Cisne – Brazil), melhorador S500 (Puratos – Brazil) e fermento biológico fresco (Levure – Brazil) foram adquiridos no comércio.

Produção dos pães

Os pães franceses funcionais à base de farinha de trigo e farinha de banana verde foram produzidos segundo metodologia descrita por Bredariol et al. (2019). Foram produzidos pães com 100% de farinha de trigo (controle) e com substituição parcial de 10%, 20% e 30% de farinha de banana verde (em relação a massa de farinha). Os ingredientes utilizados foram farinha de trigo e de banana verde, água, melhorador, sal e fermento, conforme composições descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Formulação dos pães avaliados (FB = farinha de banana verde; FT = farinha de trigo).

Amostra	FB (g)	FT (g)	Água (g)	Sal (g)	Melhorador (g)	Fermento (g)	Massa total (g)
Controle	-	1200	696	24	12	60	1992
10% FB	120	1080	696	24	12	60	1992
20%FB	240	960	696	24	12	60	1992
30%FB	360	840	696	24	12	60	1992

Caracterização dos pães

Conteúdo de água

Para a determinação da umidade as amostras de pães já assados foram pesadas em balança analítica e logo após as mesmas permaneceram em estufa a 105º C por um período de 24 horas e em seguida foram pesadas novamente.

Parâmetros de cor

Os parâmetros de cor, luminosidade (L*), croma a* (a*) e croma b* (b*), da crosta e do miolo das diferentes formulações foram determinados em triplicata utilizando um colorímetro (HunterLab, Miniscan XE plus, Reston, USA) com iluminante D65.

Volume

O volume dos pães foi determinado por deslocamento de sementes de painço em triplicata, conforme metodologia nº 55-50.01da AACC International (2010).

Propriedades de textura

Foram realizadas analises de dureza e de perfil de textura utilizando-se um texturômetro (TA. XT2i texture analyzer, Stable Micro Systems).Utilizou-se um probe com diâmetro de 25 mm e taxa de compressão de 40% da altura inicial da amostra; a velocidade de pré e pós teste foi de 2 mm/s e 10 mm/s, respectivamente, enquanto que a velocidade do teste foi de 1,7 mm/s (Barcenas et al., 2005). Os testes foram realizados em triplicata.

Análise estatística

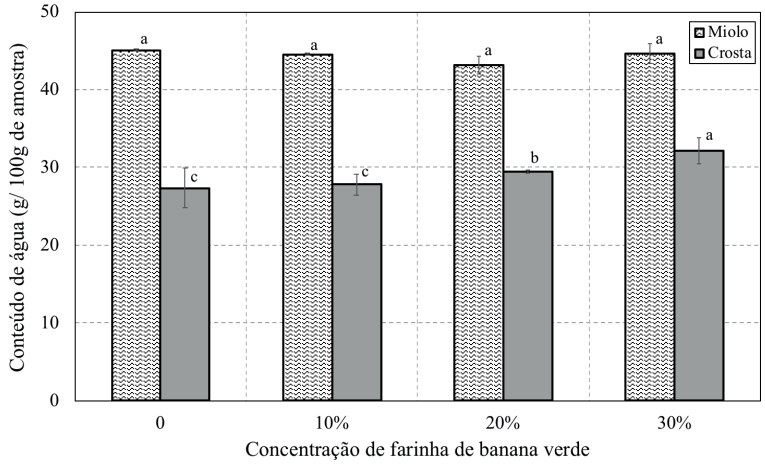
A análise estatística foi realizada utilizando teste de Duncan através do software SAS (SAS 9.2).

RESULTADOS

Conteúdo de água

Os valores obtidos na análise do conteúdo de água para a crosta e miolo dos pães foram apresentados na Figura 1. Em relação ao miolo, pode-se verificar que as amostras do pão controle e com 10, 20 ou 30% de farinha de banana verde apresentaram conteúdo de água médio de 44,34 g de água/ 100 g de miolo, não apresentando variação significativa entre as diferentes formulações. Em relação a crosta, em geral, o aumento da concentração de farinha de banana verde provocou um aumento no conteúdo de umidade das crostas dos pães, observando-se valores médios próximos a 30 g de água/ 100 g de crosta. Não foram encontrados trabalhos na literatura que tenham avaliado o conteúdo de água em amostras de miolo e crosta de pães produzidas com farinha de trigo e farinha de banana verde. Por outro lado, estes valores corroboram com os valores de conteúdo de água observados para o miolo e crosta de pães produzidos apenas com farinha de trigo (Vanin et al., 2009). O aumento do conteúdo de água nas crostas dos pães produzidos com maiores concentrações de farinha de banana verde pode ser atribuído a maior concentração de fibra na farinha de banana verde (Alcântara et al., 2020), que pode então ter favorecido a retenção de água quando comparado com o pão controle.

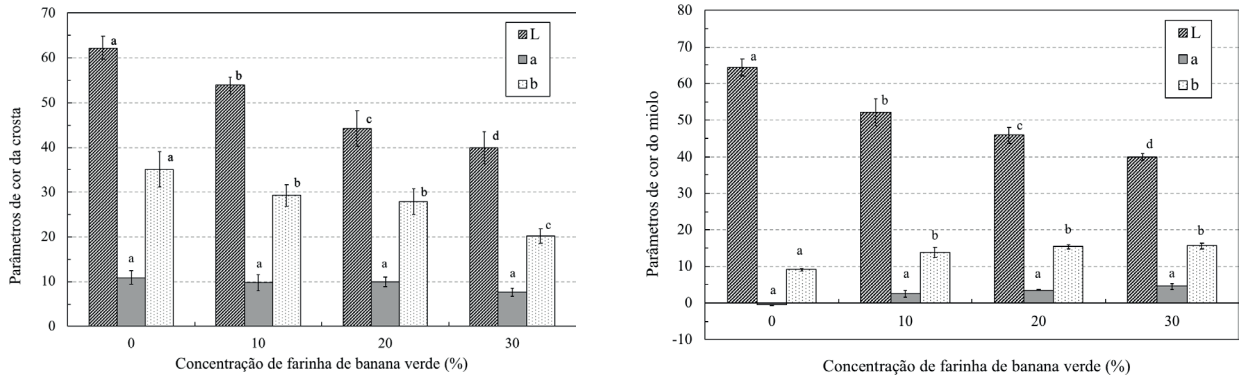
Figura 1. Conteúdo de água da crosta e miolo dos pães produzidos a partir das diferentes formulações avaliadas. * Diferentes letras para a mesma resposta indicam diferença estatística entre as diferentes amostras ($p<0.05$).



Parâmetros de cor

Os resultados obtidos para os parâmetros de cor (croma a*, croma b* e L*) da crosta e do miolo do pão controle (0% de substituição) e com substituições de 10, 20 e 30 % de farinha de trigo por farinha de banana verde, podem ser visualizados na Figura 2. .

Figura 2. Parâmetros de cor da crosta (a) e miolo (b) dos pães produzidos a partir das diferentes formulações avaliadas.
* Diferentes letras para a mesma resposta indicam diferença estatística entre as diferentes amostras (p<0.05).



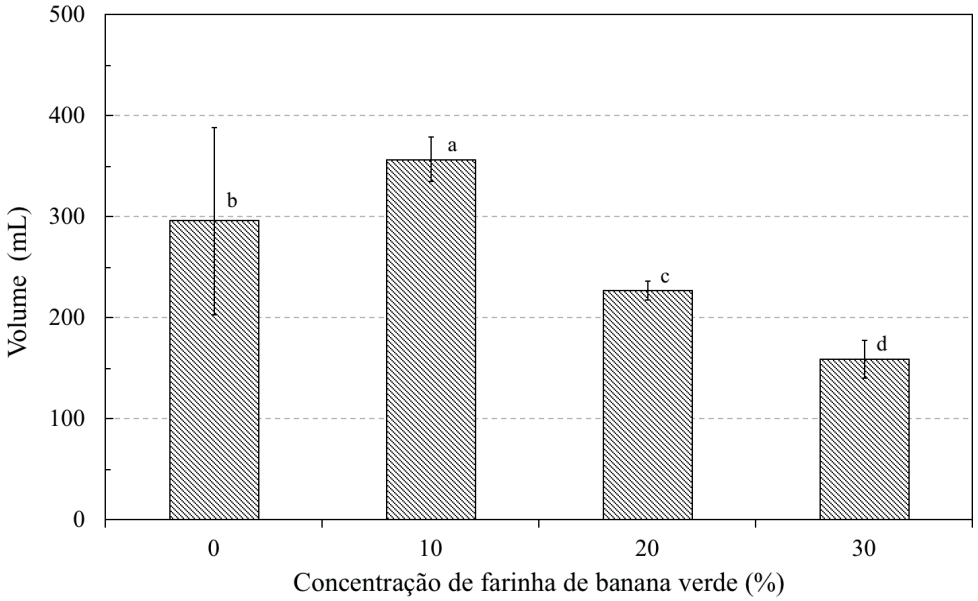
(a) (b)

Os parâmetros L*, a* e b*, representam a variação de preto (0) a branco (100), de verde (-a*) ao vermelho (a*) e de azul (-b*) ao amarelo (b*), respectivamente (Hunterlab, 1998). Dessa forma, através da Figura 2 foi possível observar que tanto para a crosta quanto para o miolo, de maneira geral, a substituição da farinha de trigo pela farinha de banana verde provocou um efeito significativo apenas no parâmetro L*. O aumento da concentração de farinha de banana verde provocou uma diminuição no parâmetro de cor L* dos pães, ou seja, as amostras ficaram mais escuras ao aumentar a quantidade de farinha de banana verde no pão. Mohamed et al. (2010) observou efeitos semelhantes em pães produzidos com diferentes concentrações de pó de banana. Este efeito, diminuição do parâmetro L*, pode ser atribuído aos produtos da reação de Maillard entre açúcares redutores e proteínas presentes nas farinhas.

Volume

Os volumes obtidos para as amostras de pão controle e com substituições de 10, 20 e 30 % de farinha de trigo por farinha de banana, podem ser visualizados na Figura 3. Pode-se observar que a substituição de farinha de trigo por farinha de banana verde apresentou em efeito significativo sobre o volume global dos pães. A substituição de farinha de trigo por farinha de banana verde na concentração de 10% proporcionou um aumento médio de 20% no volume global dos produtos. Por outro lado, as substituições com 20 e 30 % apresentaram um efeito significativo negativo sobre o volume global, uma vez que provocaram a redução do volume global dos pães. Pode- se atribuir a diminuição do volume ao enfraquecimento da rede de glúten em função do aumento da concentração de farinha de banana verde. Além disso, a farinha de banana verde é conhecida por apresentar elevado conteúdo de fibra, dessa forma, estas podem ainda atrapalhar na formação da estrutura da rede proteica do pão. Redução no volume de pães também foram observadas nos estudos realizados por Mohammed et al. (2010) e Aziah et al. (2012) os quais também trabalharam com farinha de banana verde.

Figure 3. Volume dos pães produzidos a partir das diferentes formulações avaliadas. * Diferentes letras para a mesma resposta indicam diferença estatística entre as diferentes amostras (p<0.05).



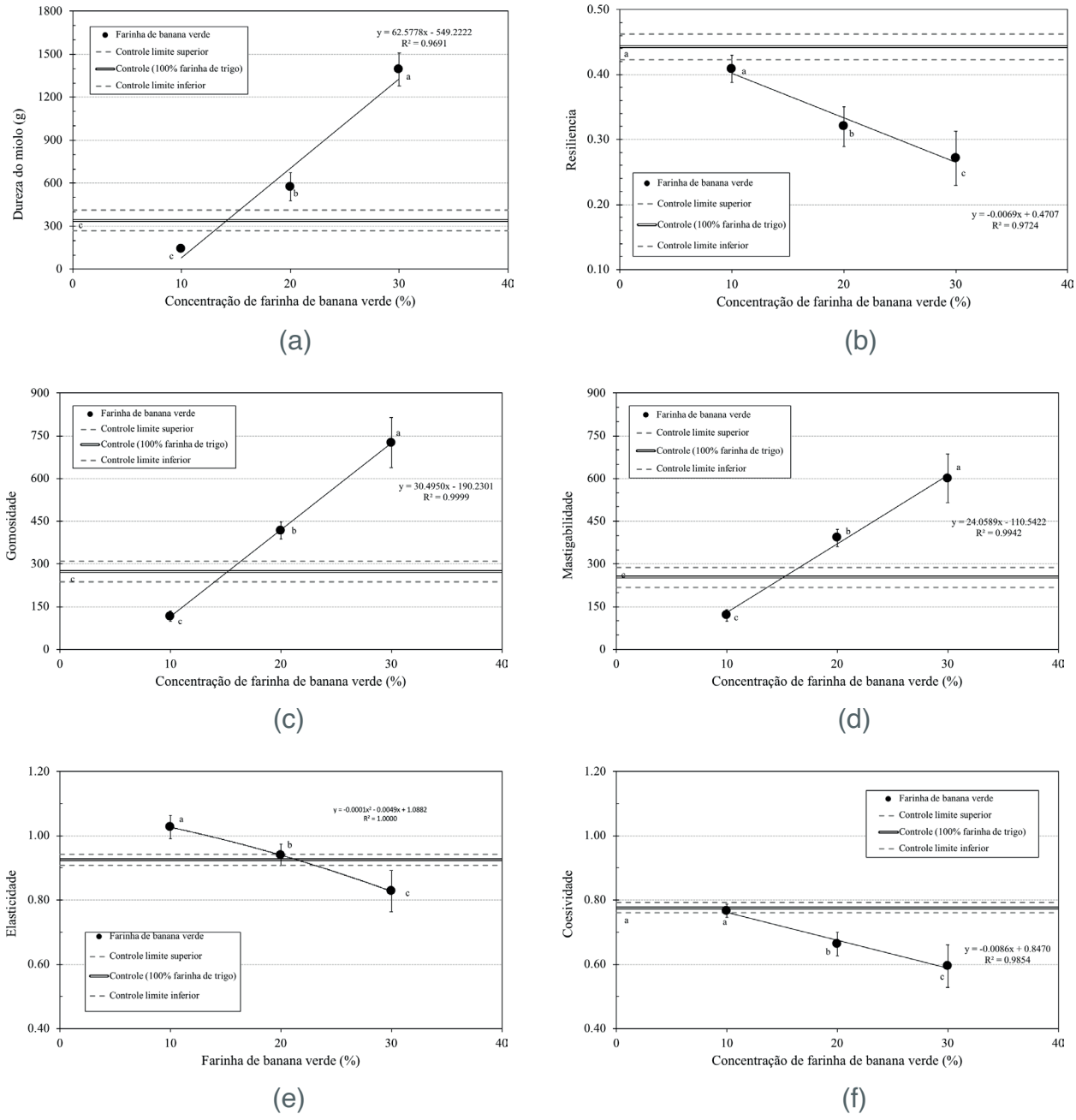
Propriedades de textura

Os resultados de perfil de textura obtido para as diferentes formulações de pães podem ser observado na Figura 4. O aumento da concentração de farinha de banana verde provocou aumento significativo na dureza do miolo dos pães (Figura 4a). A substituição de farinha de trigo por farinha de banana verde na concentração de 10% provocou uma redução significativa nos valores de dureza dos pães, em relação ao pão controle, produzido somente com farinha de trigo. Por outro lado, as substituições com 20 e 30 % apresentaram um efeito significativo negativo sobre a dureza dos pães, uma vez que provocaram um aumento significativo nos valores de dureza. Além disso, através dos resultados apresentados na Figura 4a foi definir um modelo de ajuste linear para a resposta dureza em função da concentração de farinha de banana verde incorporada, o que pode permitir identificar faixas de substituição de maior interesse para a resposta avaliada.

Observando a Figura 4, pode-se dizer do perfil de textura das amostras de pão controle e com 10, 20 e 30 % de substituição de farinha de trigo por farinha de banana verde, que: as forças aplicadas no teste foram crescentes conforme o aumento da substituição da farinha, o que era esperado já que o teste de dureza apresentou o mesmo comportamento. Os parâmetros de mastigabilidade e gomosidade foram crescentes também, correspondendo ao resultado das forças,de farinha de trigo, já que a força aplicada nas amostras foi crescente conforme maior a substituição. A mastigabilidade do pão também aumentou com o aumento da substituição da farinha de banana verde conferindo aos pães textura mais firme. Já a resiliência, elasticidade e coesividade diminuíram ao aumentar a substituição de farinha de banana verde. Além disso, todas as respostas permitiram o ajuste de um modelo linear para

a respectiva resposta em função do aumento da concentração de farinha de banana verde incorporada, o que pode permitir identificar faixas de substituição de maior interesse. A firmeza da massa pode ser um indicativo do enfraquecimento da estrutura proteica, prejudicando a retenção de gases e comprometendo o volume do pão. Esse fato está diretamente relacionado a proporção de glúten que diminui com o aumento da concentração de farinha de banana verde. Além disso, a grande concentração de fibras acarreta textura ainda mais firme como evidenciado por Alcantara et al. (2020).

Figura 4. Dureza (a), resiliência (b), gomosidade (c), mastigabilidade (d), elasticidade (e) e coesividade (f) dos pães produzidos a partir das diferentes formulações avaliadas. * Diferentes letras para a mesma resposta indicam diferença estatística entre as diferentes amostras ($p<0.05$).



CONCLUSÃO

Considerando os resultados apresentados no presente trabalho, pode-se concluir que a substituição parcial da farinha de trigo por farinha de banana verde para a produção de pão francês é possível, considerando o nível de substituição de até 10%. Além disso, verificou-se que apesar do aumento da concentração de farinha de banana verde provocar um aumento na força aplicada para a sua mastigação, estes valores permaneceram na faixa de valores observados para o pão controle quando a concentração de farinha de banana verde se manteve em 10%. Portanto, pode-se concluir que a produção de pães francês com 10% de farinha de banana verde possibilita a produção de pães com características próximas ao tradicional "pão francês", e que podem, portanto representar ainda estratégia econômica para o mercado de padarias e confeitarias brasileiras.

REFERÊNCIAS

1. AACC Approved Methods of Analysis, 11th Edition, 55-50.01, 2010.
2. ABIP - Associaç ão Brasileira Da Indústria De Panificação (2020). Perfil da panificação. Disponível em: http://www.abip.org.br. Arquivo capturado em 04 de setembro de 2020.
3. Alcântara, R. G., de Carvalho, R. A., & Vanin, F. M. (2020). Evaluation of wheat flour substitution type (corn, green banana and rice flour) and concentration on local dough properties during bread baking. Food Chemistry, 126972.
4. Barcenas, M.E., Rosell, C.A. (2005). Effect of HPMC addition on the microstructure, quality and aging of wheat bread. Food Hydrocolloids, v.19(6), p.1037-1043.
5. Bredariol, P., Spatti, M., & Vanin, F. M. (2019). Different baking conditions may produce breads with similar physical qualities but unique starch gelatinization behaviour. Lwt, 111, 737-743.
6. El-Dash, A., Cabral, L. C., Germani, R. (1994). Uso de farinha mista de trigo e soja na produção de pães. In: EMBRAPA. Coleção Tecnologia de Farinhas Mistas. Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, v.3.
7. Faisant, N., Gallant, D. J., Bouchet, B., & Champ, M. (1995). Banana starch breakdown in the human small intestine studied by electron microscopy. European Journal of Clinical Nutrition, p. 98–104.
8. Felippe, J. J. (2005). O pão branco, a farinha branca e os doces facilitam o aparecimento do câncer. Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Biomolecular, www. medicinabiomolecular. com. br. Biblioteca de Câncer.
9. FENALCEBRA - Federação Nacional das Associações de Celíacos do Brasil (2014). Números sobre a doença celíaca no Brasil e no mundo. Campanha reconhecer, II Congresso Internacional de Nutrição Especializada – COINE. Rio de Janeiro.

10. Gallagher, E., Gormley, T.R., Arendt, E.K. (2004). Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. Trends in Food Science & Technology, v.15, p.143–152.

11. Guerreiro, L. (2006). SBRT Sistema Brasileiro de Respostas Técnicas. Dossiê técnico, p.6-8.

12. JACOB, H. E. Seis mil anos de pão: a civilização humana através de seu principal alimento. São Paulo: Nova Alexandria, 2003;

13. Lara, E.; Cortéz, P.; Briones, V.; Perez, M. (2011). Structural and physical modifications of corn biscuits during baking. Food Science and Technology, v.44, p.622-630.

14. Lobo, R.A., Silva, L. M. G. (2003). Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. **Revista de Nutrição**, v.16.

15. Maberly, G. (2003). Enriching lives through flour fortification. Disponível em:<http://www.sph.emory.edu/wheatflour/Training/Resources/Tech_Resources.htm>. Acesso em: 19 jul. 2012.

16. Mohamed, A., Xu, J., & Singh, M. (2010). Yeast leavened banana-bread: Formulation, processing, colour and texture analysis. **Food Chemistry**, 118(3), 620-626.

17. Mondal, A., & Datta, A. K. (2008). Bread baking–A review. **Journal of Food Engineering**, 86(4), 465-474.

18. Pereira, D.K. (2007). Amido resistente, a última geração no controle de energia e digestão saudável. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.27, p. 88-90.

19. Ramos, P.D., Leonel, M.,Leonel, S. (2009). Amido resistente em farinhas de banana verde, p.479- 480.

20. Rodríguez-Ambriz, S. L., Islas-Hernández, J. J., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., & Bello-Pérez, L. A. (2008). Characterization of a fibre-rich powder prepared by liquefaction of unripe banana flour. **Food Chemistry**, 107(4), 1515-1521.

21. Sabanis, D., Tzia, C. (2009). Effect of rice, corn and soy flour addition on characteristics of bread produced from diferente wheat cultivars. **Food Bioprocess Technology**, v.2(1), p.68-79.Vanin, F. M., Lucas, T., & Trystram, G. (2009). Crust formation and its role during bread baking. **Trends in Food Science & Technology**, 20(8), 333-343.

22. Vanin, F.M., Michon, C., Trystram, G., Lucas, T. (2010). Simulating the formation of bread crust in a DMTA rheometer. **Journal of Cereal Science**, v.51, p.277-283.

23. Vasconcelos, A.C., Pontes, D.F., Garruti, D.S., Silva, A.P.V. (2006). Processamento e aceitabilidade de pães de forma a partir de ingredientes funcionais: farinha de soja e fibra alimentar. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v.17 (1), p.43-49.

24. Walter,M., Silva,da P.L, Emanuelli,T. (2005). Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. Ciência Rural, v. 35. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0103-84782005000400041&script=sci_arttext>

28

Qualidade pós-colheita de rúcula oriunda de cultivo convencional e hidropônico armazenada sob refrigeração

- Lays **Maransatto**
  UTFPR
- Rafaela **Prata**
  UTFPR
- Gláucia Cristina **Moreira**
  UTFPR

10.37885/201102179

RESUMO

A busca por uma alimentação saudável vem aumentando o consumo de hortaliças folhosas com destaque para a rúcula, pois, a mesma apresenta em sua composição alto teor nutricional, além de sabor e aroma agradável. O objetivo deste trabalho foi comparar os componentes colorimétricos e a perda de massa fresca de rúcula de diferentes sistemas de cultivo (convencional e hidropônico) quando armazenadas sob refrigeração. Após a colheita e transporte até o Laboratório de Vegetais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Câmpus Medianeira), as rúculas foram armazenadas sob refrigeração a 5ºC ± 1ºC por um período de nove dias na própria embalagem proveniente do seu respectivo produtor. Foram realizadas as seguintes análises neste experimento: perda de massa fresca e componentes colorimétricos (parâmetros L*, a*, b*). As análises foram realizadas a cada três dias. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade, por meio do programa Infostat. Ao final dos 9 dias de armazenamento, a rúcula em cultivo convencional apresentou maior perda de massa fresca com relação à cultivada sob sistema hidropônico. Para os componentes colorimétricos (parâmetros L*, a*, b*), as folhas de rúcula cultivada em sistema convencional apresentaram valores superiores estatisticamente quando comparadas as do cultivo hidropônico.

Palavras-chave: Eruca Sativa, Coloração, Pós-Colheita, Qualidade.

INTRODUÇÃO

Frutas e hortaliças são alimentos indispensáveis para a composição de um padrão de uma alimentação saudável. Esses alimentos possuem baixa densidade energética, além de diversos elementos que são essenciais para a saúde, como vitaminas, minerais, fibras e outros compostos bioativos que favorecem a manutenção da saúde e do peso corporal (DA SILVA; CLARO, 2019). Assim, de forma a alcançar uma alimentação saudável, tem-se tornado um hábito cada vez mais praticado o consumo de hortaliças folhosas (DAL'SOTTO, 2013).

Dentre as hortaliças, há um grande destaque no consumo da rúcula (*Eruca sativa*). É uma brássica folhosa que é muito apreciada na forma de salada, apresentando em sua composição nutricional, altos teores de potássio, enxofre, ferro e de vitaminas A e C, além de apresentar sabor picante e aroma agradável (GUARDABAXO et al., 2020; TRANI; PASSOS, 1998).

O cultivo da hortaliça, tem aumentado em muitos países da Europa, e no Brasil o consumo de rúcula tem sido crescente, principalmente na região sudeste do país (MENIN et al., 2015). Assim, destaca-se a necessidade no aprimoramento de técnicas de produção que possibilitem a obtenção de um produto de melhor qualidade (ALVES et al., 2012).

O desgaste ambiental dos últimos anos tem motivado a preocupação a respeito da sustentabilidade das atividades humanas. Parte considerável dos ecossistemas terrestres vem sendo ocupada e modificada pelo homem de forma intensiva e o ritmo de exploração dos recursos naturais parece exceder a capacidade de regeneração de muitos desses ecossistemas, portanto novas alternativas surgem para diminuir esse impacto. A hidroponia se constitui em uma alternativa, quando viável de ser implementada, para a conservação do solo e preservação dos mananciais de água (SILVA, 2009). Além disso, destacam-se vantagens diante do cultivo a campo como menor exposição a intempéries e eventos fitossanitários, encurtamento do ciclo de cultivo e maior produtividade (ZEN; BRANDÃO, 2019). Ainda, o produto oferecido pela hidroponia facilita o controle de aspectos de qualidade, oferecendo assim produtos com melhor aparência, mais maciez, limpeza e integridade física (LOPES et al., 2010). É uma técnica que oferece muitas possibilidades de uso, sendo uma alternativa para pequenos produtores, gerando emprego e renda (JESUS FILHO, 2009).

Assim, devido ao aumento considerável de consumidores de hortaliças e a sua importância para a saúde humana, faz-se necessário a realização de estudos que avaliem a qualidade destes alimentos.

OBJETIVO

Comparar os componentes colorimétricos e a perda de massa fresca de rúcula cultivada nos sistemas convencional e hidropônico, e armazenada sob refrigeração.

MÉTODOS

Amostragem

As rúculas foram adquiridas de produtores locais da cidade de Medianeira-PR e transportadas até o Laboratório de Vegetais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Câmpus Medianeira). As mesmas foram armazenadas sob refrigeração a 5 ± 1ºC por um período total de 9 dias na própria embalagem proveniente do seu respectivo produtor e analisadas a cada 3 dias.

Análise Estatística

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com dois tratamentos e quatro dias de armazenamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%, por meio do software Infostat.

Perda de Massa Fresca

A determinação da perda de massa fresca foi realizada pesando-se dez amostras (pés) de rúcula em balança semi-analítica Tecnal (Modelo B-TEC-500) para cada tipo de cultivo. Os resultados foram expressos em porcentagem, considerando-se a diferença entre o peso inicial e aquele obtido a cada intervalo de tempo de amostragem.

Determinação da Cor

A cor foi determinada através de colorímetro Konica Minolta, Japão, avaliando-se as coordenadas L* (*lightness* – luminosidade), variando de 0 a 100 (preto a branco); a* (*greeness* – esverdeado/*redness* avermelhado) que indica coloração do verde (valores negativos) ao vermelho (valores positivos) e b* (*blueness* – azulado/*yellowness* – amarelado) indicando a coloração do azul (valores negativos) ao amarelo (valores positivos). Os parâmetros L*, a* e b* foram determinados de acordo com a International Commission on Illumination (CIE, 1996). Paras as análises foram utilizadas 10 folhas para cada repetição, totalizando três repetições por tipo de cultivo para cada dia de avaliação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Perda de Massa Fresca

Os resultados referentes à perda de massa fresca das rúculas produzidas através de dois diferentes tipos de cultivo e armazenadas sob refrigeração encontram-se na tabela 1.

Tabela 1. Valores médios de perda de massa fresca (porcentagem) em rúcula *in natura* e armazenadas a 5 ± 1 °C durante 9 dias.

Sistema de cultivo	Dias de armazenamento		
	3	6	9
Convencional	2,53 a	5,14 a	8,11 a
Hidropônico	1,03 a	2,74 a	4,36 b

Médias seguidas de mesma letra em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si, pelo Teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

Determinação da Cor

Os resultados referentes à colorometria para os componentes L*, a* e b* em rúculas produzidas através de dois diferentes tipos de cultivo e armazenadas sob refrigeração encontram-se na tabela 2, 3 e 4.

Tabela 2. Valores médios de colorimetria para o componente colorimétrico L* em rúcula *in natura* e armazenada a 5 ± 1°C durante 9 dias.

Sistema de cultivo	Dias de armazenamento				Média
	0	3	6	9	
Convencional	47,58 ± 1,16	50,78 ± 1,19	54,85 ± 3,88	58,07 ± 1,15	52,88 a
Hidropônico	44,9 ± 2,95	48,11 ± 0,91	49,13 ± 0,65	49,85 ± 2,56	48,00 b

Médias seguidas de mesma letra em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si, pelo Teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

Tabela 3. Valores médios de colorimetria para o componente colorimétrico a* em rúcula *in natura* e armazenada a 5 ± 1 °C durante 9 dias.

Sistema de cultivo	Dias de armazenamento				Média
	0	3	6	9	
Convencional	-19,27 ± 1,23	-19,59 ± 0,64	-17,97 ± 2,00	-18,65 ± 1,24	-18,87 a
Hidropônico	-21,04 ± 0,51	-21,24 ± 0,28	-21,07 ± 0,65	-20,78 ± 0,40	-21,18 b

Médias seguidas de mesma letra em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si, pelo Teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

Tabela 4. Valores médios de colorimetria para o componente colorimétrico b* em rúcula *in natura* e armazenada a 5 ± 1 °C durante 9 dias.

Sistema de cultivo	Dias de armazenamento				Média
	0	3	6	9	
Convencional	30,10 ± 0,64	33,02 ± 2,60	39,36 ± 4,84	43,67 ± 2,76	36,54 a
Hidropônico	32,11 ± 1,30	32,46 ± 0,42	32,48 ± 1,44	32,91 ± 1,30	32,49 b

Médias seguidas de mesma letra em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si, pelo Teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

DISCUSSÃO

As hortaliças folhosas são compostas principalmente por água, constituindo de 85 a 95% de sua composição. Assim, o murchamento devido à grande perda de água durante seu armazenamento é o atributo de qualidade marcante, pois, do ponto de vista comercial, o aspecto murcho afeta intensamente a escolha de compra. Vale salientar que a ocorrência da redução da massa remanescente ao longo do armazenamento é normal, pois, durante este período o produto perde água para o ambiente, sendo mais acentuada em hortaliças folhosas devido a sua composição (NUNES, 2011).

Observa-se através da tabela 1 que houve perda de massa fresca das plantas na pós colheita para os dois tipos de cultivo avaliados. Neste trabalho, os valores de perda de massa fresca das rúculas *in natura* variaram de 1,03 a 8,11 %, ocorrendo o aumento da perda de massa no decorrer dos dias em ambos os tipos de cultivo.

No nono dia de armazenamento sob refrigeração, a rúcula produzida através do sistema convencional, apresentou maior perda de massa fresca com relação à hidropônica ($p < 0,05$). Vale salientar que a redução do teor de água em vegetais armazenados resulta em perda de massa e de qualidade, pois ocorrem reações metabólicas que alteram a textura do produto (GALVÃO, 2009).

Quando o resfriamento é realizado de modo correto, reduz a incidência de doenças e retarda a perda de frescor e de qualidade, inibindo o crescimento de microrganismos, restringindo as atividades enzimáticas e respiratória e inibindo a perda de água (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Segundo Cantwell (2001), o ideal é que a rúcula seja armazenada a 0ºC com umidade relativa entre 95 e 100% por 7 a 10 dias.

A cor é uma das características de qualidade mais importante das folhas de rúcula, já que as folhas com coloração verde uniforme intensa são altamente atrativas. Qualquer alteração da cor verde normal pode ser um fator limitante para sua comercialização. Assim, um dos principais problema pós-colheita desse vegetal é sua rápida senescência, expressa principalmente com o amarelecimento de suas folhas (resultado da degradação da clorofila) (GUTIÉRREZ et al., 2015).

Os parâmetros de cor da superfície das folhas de rúcula cultivada em dois diferentes sistemas foram avaliados durante seu armazenamento sob refrigeração. O valor inicial de luminosidade (L*) variaram entre 47,58 ± 1,16 e 58,07 ± 1,15 para as amostras cultivadas em sistema convencional ao longo dos 9 dias de armazenamento e de 44,9 ± 2,95 a 49,85 ± 2,56 para as amostras cultivadas por hidroponia. A luminosidade (L *) aumentou com o tempo, sugerindo amarelecimento incipiente das folhas ao final do armazenamento para ambos os sistemas, porém, é possível verificar uma variação maior deste parâmetro para as amostras cultivadas por sistema convencional (tabela 2).

Com relação ao componente colorimétrico a* observa-se na tabela 3 que os valores encontrados neste experimento foram de – 17,97 a – 21,24. É possível afirmar que houve preponderância da cor verde em ambas as amostras de rúculas, pois, a leitura do colorímetro demonstrou valores negativos para estas coordenadas.

Para a cromaticidade b* (tabela 4) as amostras de rúcula apresentaram valores entre 30,10 a 43,67 indicando coloração amarela na rúcula. A rúcula cultivada em sistema convencional apresentou maiores diferenças para este parâmetro ao longo dos 9 dias de armazenamento, com valores superiores no último, indicando o aumento da coloração amarela. Já para as rúculas produzidas através do cultivo hidropônico, os valores permaneceram praticamente inalterados, indicando uma menor depreciação, pois, a clorofila é outro parâmetro utilizado para verificar o amadurecimento de frutas e hortaliças. Durante o seu armazenamento ocorre mudança da cor verde para amarela devido à degradação da clorofila, indicando que o produto está maduro e a depreciação da aparência em hortaliças folhosas (NUNES, 2011).

CONCLUSÃO / CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao final dos 9 dias de armazenamento, a rúcula cultivada sob sistema convencional apresentou maior perda de massa fresca quando comparada a cultivada sob sistema hidropônico. Logo, o sistema de cultivo influenciou na perda de massa fresca, quando a rúcula foi mantida armazenada sob refrigeração.

Para a rúcula cultivada em sistema hidropônico, foi possível verificar ao final do armazenamento, valores menores para os componentes colorimétricos L* e b*, indicando possivelmente uma menor senescência em virtude de uma menor degradação das clorofilas presentes em suas folhas. Assim, é possível verificar que as rúculas cultivadas em sistema hidropônico apresentaram maior qualidade no pós colheita, baseado nos parâmetros analisados.

REFERÊNCIAS

1. ALVES, R. F.; LINHARES, P. C. F.; PEREIRA, M. F. S.; FILHO, J. L.; SOUSA, A. J. P.; PAIVA, A. C. C. Desempenho agronômico da rúcula sob diferentes proporções de jitirana e flor-de-seda em sistema orgânico. **Revista Agropecuária Científica no Semi-Árido**. Campina Grande - PB, v. 8, n. 4, p.107-112, 2012.

2. CANTWELL, M. Características y condiciones recomendadas para el almacenamiento por tiempo largo de frutas y hortalizas frescas. **Postharvest Technology**, 2001 Disponível em: <http://postharvest. ucdavis. edu/Produce/storage/span_dg. shtml> Acesso em:17/11/2020.

3. CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. e atual. Lavras: UFLA, 783 p, 2005.

4. CIE – **Commission Internationale de l'Eclairage.** Colorimetry. Vienna: CIE publication, 2ed, 1996. https://doi.org/10.1002/col.5080130115

5. DAL'SOTTO, T. C. **Estudo de viabilidade econômica para implantação de um sistema de cultivo hidropônico em uma propriedade rural no oeste do Paraná**. 2013. 64 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2013. Disponível em: < http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/1663> Acesso em: 17/11/2020.

6. GALVÃO, H. L. **Conservação pós-colheita de quiabo e jiló**. 2009. 136f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa-MG, 2009. Disponível em: < https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/1116> Acesso em: 17/11/2020.

7. GUARDABAXO, C. M. S.; ASSIS, K. C. C.; FIGUEIREDO, F. C.; SILVA, L. F. Cultivo da rúcula em sistema hidropônico sob diferentes concentrações de sais. **Revista Brasileira de Engenharia de Biossistemas**, v. 14, n. 3, p. 274-282, 2020. Disponível em: < http://seer.tupa.unesp.br/index.php/BIOENG/article/view/918> Acesso em: 17/11/2020.

8. GUTIÉRREZ, D. R.; CHAR, C.; ESCALONA, V. H.; CHAVES, A. R.; RODRÍGUEZ, S. D. C. Application of UV-C radiation in the conservation of minimally processed rocket (Eruca sativa Mill.). **Journal of food processing and preservation**, v. 39, n. 6, p. 3117-3127, 2015.

9. JESUS FILHO, J. D. **Hidroponia – Cultivo sem solo**. Viçosa-MG, 300 p, 2009. LOPES, C.A.; QUEZADO-DUVAL, A.M.; REIS, A. **Doenças da alface**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2010. 68p. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/33888838.pdf >Acesso em: 17/11/2020.

10. MENIN, L. F.; RAMBO, J. R.; FRASSON, D. B.; PEREIRA, T. A. X.; SANTI, A. Influência das fases lunares no desenvolvimento das culturas de rúcula (Eruca sativa Hill) e rabanete (Raphanus sativus L.). **Revista Brasileira de agroecologia**, v. 9, n. 3, 2015. NUNES, C. J. S. **Qualidade e vida útil da rúcula orgânica armazenada sob refrigeração**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal do Acre, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Rio Branco-AC. 2011. 56p.

11. PAULA JÚNIOR T.J.; VENZON, M. **101 Culturas: manual de tecnologias agrícolas.** Belo Horizonte: EPAMIG. 2007. 800 p.

12. PURQUEIRO, L. F. V. **Crescimento, produção e qualidade de rúcula** (Eruca sativa Miller) em função do nitrogênio e da densidade de plantio. 2005. Tese (Doutorado em Agronomia--Horticultura). Disponível em: < https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/103253/purquerio_lfv_dr_botfca.pd f?sequence=1&isAllowed=y > Acesso em: 17/11/2020.

13. SILVA, F. V. **Cultivo hidropônico de rúcula (Eruca sativa Mill) utilizando águas salinas**. 2009. 69 p. Tese de Doutorado – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ/USP, 2009. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11143/tde-16032010-151140/en.php > Acesso em: 17/11/2020.

14. TRANI, P. E.; PASSOS, F.A. Rúcula (Pinchão). In: FAHL, J.I.; CAMARGO, M.B.P.; PIZINATTO, M.A.; BETTI, J.A.; MELO, A.M.T.; DEMARIA, I.C.; FURLANI, A.M.C. (Ed.) I**nstruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. Campinas: IAC, 1998. p.241-242.

15. ZEN, H. D.; BRANDÃO, J. B.. Competitividade da produção hidropônica de hortaliças folhosas no Brasil. **Revista de Política Agrícola**, v. 28, n. 1, p. 115, 2019. Disponível em: <https://seer.sede.embrapa.br/index.php/RPA/article/view/1381/pdf> Acesso em: 17/11/2020.

29

Qualidade sensorial de linguiça frescal de carne de coelho formulada com diferentes fontes de lipídeos

- Davi Custódio de **Souza**
  IFNMG
- Iago **Mendes**
- José Aparecido Martins da **Silva**
  IFNMG
- Larissa Gonçalves **Freitas**
  IFNMG
- Raiane Tainá Guimarães **Ribeiro**
  IFNMG
- Flávia Michelon Dalla **Nora**
  UFSM
- Clara Mariana Gonçalves **Lima**
  IFNMG
- Silvani **Verruck**
  UFSC
- Márcia Antunes dos Santos **Rodrigues**
  IFNMG
- Thiago Moreira dos **Santos**
  IFNMG
- Daniela **Caetano**
  IFNMG

10.37885/201001786

RESUMO

A cunicultura vem ganhando grande espaço na produção de proteína animal, devido principalmente à elevada qualidade da carne e potenciais aplicações para o desenvolvimento de produtos cárneos. Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar sensorialmente a aceitabilidade três formulações de linguiça frescal de carne de coelho adicionadas de diferentes fontes de lipídeos. Para tanto, a gordura suína, óleo de canola e óleo de coco foram empregados nas formulações, as quais foram avaliadas sensorialmente por um painel constituído por 101 provadores não treinados. Foi realizada a avaliação da aceitação das formulações em relação aos atributos maciez, sabor e aceitação global, empregando, para isso, o teste de escala hedônica estruturada com 9 pontos. Além disso, o teste de intenção de compra/consumo foi aplicado empregando uma escala de 5 pontos. A formulação de linguiça frescal com óleo de coco foi a menos aceita quando comparada com as demais formulações em relação aos 3 atributos avaliados. Vale salientar que considerando a média das pontuações atribuídas às formulações, todas apresentaram valores correspondendo a “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. No que diz respeito a intenção de consumo, a formulação contendo óleo de canola foi a que obteve maior intenção de compra, sendo que aproximadamente 70% dos provadores indicaram os termos “provavelmente compraria” e “certamente compraria” ao produto avaliado. Neste sentido, linguiças à base de carne de coelho com diferentes fontes de lipídeos mostram-se promissoras quanto à inserção no mercado consumidor. As formulações de linguiça frescal à base de carne de coelho com gordura suína e óleo de canola foram aceitas sensorialmente e apresentaram as maiores porcentagem para os atributos de intenção de compra “provavelmente compraria” e “certamente compraria”.

Palavras-chave: Óleo de Canola, Óleo de Coco, Gordura Suína, Novo Produto, Análise Sensorial, Escala Hedônica.

INTRODUÇÃO

Devido às demandas mais frequentes de mercado, há um aumento na competitividade, que leva a necessidade do desenvolvimento de novos produtos por parte das indústrias (DUTRA et al., 2017; TEIXEIRA et al., 2019; SILVA et al., 2020). Assim, de acordo com Cano (2008), o que irá influenciar no desenvolvimento desses produtos serão os próprios clientes, fornecedores, concorrentes e até mesmo os colaboradores dentro das indústrias. Nessa linha de pensamento, se encaixa a indústria processadora de carnes, que vem buscando atender a demanda de produção de alimentos que tragam comodidade e praticidade no preparo para os consumidores, o que basicamente nos leva aos produtos prontos e semiprontos, com algum grau de processamento.

Neste contexto, a carne de coelho vem ganhando espaço em pesquisas científicas, pois visto suas peculiaridades e seus aspectos favoráveis como, por exemplo, ser sustentável, possuir elevado valor nutricional, produção em curto espaço de tempo, elevada produtividade, possibilidade de aproveitamento de subprodutos, reduzida necessidade de água e causar menor impacto ambiental (MACHADO; 2012; COTRIM, 2015). Outra característica importante a ser observada é a qualidade, tendo em vista que a carne de coelho é considerada um alimento de maior massa magra e saudável, quando comparada às carnes bovinas, ovina e suína. Além disso, é facilmente digerida, apresenta baixo teor calórico, gorduras e colesterol além de ser saborosa e recomendada por nutricionistas quando comparadas a outras carnes (HERNÁNDEZ et al., 2007). No entanto, vale enfatizar que mesmo neste cenário ainda há pouco consumo da carne de coelho no Brasil, visto que este produto ainda está pouco difundido por falta da oferta de produtos e por necessidade de organização da cadeia produtiva (BONAMIGO et al, 2017).

Sob essa perspectiva, torna-se necessário estudos acerca dos produtos alimentícios obtidos da cunicultura para que intensifique sua aceitação no mercado interno. Nesse sentido,, a análise sensorial constitui uma ciência que analisa, evoca, interpreta e mede reações das características dos alimentos e materiais que são percebidas pelos sentidos da audição, gosto, olfato, tato e visão, sendouma ferramenta importante para a avaliação de alimentos, permitindo assim, obter várias informações sobre produtos. Neste contexto, os testes sensoriais afetivos são uma alternativa adequada quando se quer obter a percepção dos consumidores em relação a um produto e, os testes afetivos de aceitação indicam a opinião do consumidor frente a um determinado produto. (IAL, 2008).

Considerando os aspectos relacionados com a necessidade de novos produtos na área de carnes e o grande potencial da cunicultura, foi realizada a aplicação de testes sensoriais afetivos para avaliar a qualidade sensorial de linguiças de carne de coelho do tipo frescal obtidas através do processamento empregando formulações com diferentes fontes de lipídeos.

MATERIAL E MÉTODOS

Desenvolvimento das formulações de linguiça frescal à base de carne de coelho

O experimento foi realizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais - *Campus* Salinas. Para o processamento da linguiça frescal, foram utilizados coelhos das raças Nova Zelândia Branco, Borboleta, Nova Zelândia Preto (mestiço) e Chinchila com idade de 90 a 120 dias, pesando em média 2,0 kg, provenientes do setor da Unidade de produção de Zootecnia I UEPI da referida instituição de ensino.

Após a realização da etapa de abate, desossa e remoção de aparas, a carne obtida foi cortada em pequenos pedaços. Com o objetivo de avaliar a influência do tipo de gordura utilizada, foram desenvolvidas 3 formulações de linguiça (F1, F2 e F3), nas quais o teor de gordura foi fixado em 8,8% e de carne limpa de 79,5%. Conforme é mostrado na Tabela 1, foram utilizadas as seguintes fontes de lipídeos: gordura suína; óleo de canola e óleo de coco.

Tabela 1. Formulações de linguiça frescal de carne de coelho.

Ingredientes (%)	F1	F2	F3
Carne limpa	79,5	79,5	79,5
Gordura animal (suína) Óleo de canola	8,8 -	- 8,8	-
Óleo de coco	-	-	8,8
Água	8,8	8,8	8,8
Sal	1,3	1,3	1,3
Alho	0,4	0,4	0,4
Ervas Finas	0,4	0,4	0,4
Emulsificante	0,2	0,2	0,2
Pimenta do reino	0,2	0,2	0,2
Alecrim	0,1	0,1	0,1
Coentro seco	0,1	0,1	0,1

Para o preparo das formulações, foi seguido o fluxograma indicado pela EMBRAPA (2007), no qual após a obtenção da carne de coelho, foi realizado o preparo da massa com adição dos ingredientes e aditivos, embutimento e preparo de gomos, seguido do descanso do produto a 3 °C para cura. Todas as etapas de processamento foram conduzidas na Unidade de Processamento de Carnes e, posteriormente, foram embaladas para realização dos testes microbiológicos e sensoriais. Neste sentido, foram obtidos 3 tratamentos, sendo eles: tratamento 1 (T1): linguiça de coelho frescal com 8,8% gordura suína, tratamento 2 (T2): linguiça de coelho frescal com 8,8% óleo de canola e tratamento 3 (T3): linguiça de coelho frescal com 8,8% óleo de coco. As amostras foram assadas em forno a 220 °C por 30 minutos, e posteriormente, foi realizada a análise sensorial.

Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas em Laboratório de Microbiologia, utilizando as metodologias preconizadas pela *American Public Health Association* (APHA, 2015). As amostras foram avaliadas quanto à presença de coliformes fecais e *Salmonella* spp. previamente a avaliação sensorial.

Coliformes foram determinados pela técnica de tubos múltiplos e quantificados por Número Mais Provável (NMP). A análise de *Salmonella spp*. foi realizada através do pré-enriquecimento com água peptonada tamponada, seguido da semeadura em meios seletivos e diferencias conforme APHA (2015).

Análise Sensorial

Foi realizado o recrutamento por meio de questionário relativo a dados demográficos dos participantes, disponibilidade de tempo e frequência de consumo do produto. Assim, um painel constituído por 101 provadores não treinados de idades variadas variando de 14 a 40 anos, sendo majoritariamente com faixa etária entre 14 e 18 anos (49,5%) do sexo masculino (71%) e que consumiam frequentemente (94,1%) o produto analisado.

As análises sensoriais foram feitas em cabines individuais de um laboratório sensorial . Foram aplicados testes de aceitação empregando escala hedônica e o teste de intenção de compra para as amostras de linguiça de coelho. As amostras foram codificadas usando três dígitos aleatórios e foram apresentadas aos provadores de forma monádica, sequencial e balanceada. Uma porção de 25 g de cada tipo de linguiça foi fornecida aos provadores, os quais foram orientados a realizar a avaliação quanto à sua percepção do produto, analisando os atributos maciez, sabor e impressão global, com o objetivo de verificar qual o grau de aceitação das amostras, bem como, qual apresentava o melhor conjunto de características sensoriais.

Durante as análises sensoriais, os provadores receberam para cada teste uma ficha de avaliação, na qual era solicitado que indicassem o seu julgamento sobre cada amostra através de uma escala hedônica de 9 pontos, variando de “desgostei muitíssimo” a “gostei muitíssimo”, correspondendo as notas 1 e 9, respectivamente. Além disso, foi realizada a aplicação de um teste de intenção de compra, o qual tem por objetivo demonstrar o interesse do provador em consumir, adquirir ou comprar o produto. Para tanto, o teste foi aplicado através de uma escala de 5 pontos variando “certamente compraria” a “certamente não compraria”, e ponto intermediário “talvez comprasse/talvez não comprasse”, indicando a possível atitude do consumidor acerca do produto.

A avaliação estatística dos dados foi conduzida por meio de análise estatística descritiva e submetidos análise variância (ANOVA) e posterior comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância empregando o software Microsoft Excel versão 2010 (MEILGAARD, 1988).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises microbiológicas mostrar que as linguiças estavam adequadas para o consumo uma vez que não foi observado crescimento microbiano.

Após a avaliação das três amostras pelos 101 provadores, os resultados foram tabulados e analisados estatisticamente e, os resultados obtidos em relação aos atributos maciez, sabor e impressão global no teste de aceitação empregando a escala hedônica são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados obtidos no teste de escala hedônica aplicada a 101 provadores.

Atributo	Formulações		
	Gordura suína (T1)	Óleo de canola (T2)	Óleo de coco (T3)
Maciez	7,22[a]	7,34[a]	6,19[b]
Sabor	6,94[b]	7,05[b]	7,97[a]
Impressão Global	7,00[a]	7,33[a]	5,17[b]

*Letras iguais na mesma linha indicam não haver diferença significativa a p>0,05.

De acordo com os dados obtidos, em geral, é possível verificar que quase todas as formulações receberam, em média, o termo hedônico “gostei regularmente”, que é representado pela nota 7. Resultado similar foi obtido em um estudo avaliando hambúrgueres de carne de coelho conduzido por Cotrin (2015), no qual empregando uma escala hedônica não estruturada obteve média dos resultados de aceitabilidade do produto correspondendo aos termos “gostei ligeiramente” a “gostei moderadamente” para atributos como sabor, cor, textura, suculência e aceitação global (COTRIN, 2015). Outro estudo similar avaliando a aceitabilidade de carne de coelho foi conduzido e aplicado a 330 consumidores, no qual métodos de preparo diferentes foram avaliados. Neste estudo, a carne de coelho foi submetida a diferentes tipos de cocção e, a aceitação da carne foi considerada, em média, como “gostei muito”, indicando uma boa aceitabilidade dos consumidores. Ainda neste estudo, é relatado pelos consumidores que a carne apresenta características sensoriais muito similares a carne de frango (SCOTELLANO, 2013).

Entretanto, quando comparadas as formulações avaliadas neste trabalho por testes estatísticos, somente houve diferença significativa da amostra contendo óleo de coco como fonte de gordura em relação as demais. Com base nos dados apresentados na Tabela 2,

verifica-se que a aceitação das linguiças empregando óleo de coco foi maior em relação ao atributo sabor. No entanto, no que diz respeito ao atributo maciez, a linguiça na qual foi empregado o óleo de coco como fonte de lipídeos foi menos aceita pelos provadores o que, pode ter influenciado na pior opinião em relação a impressão global, a qual estatisticamente diferiu significativamente a 5% das demais formulações, indicando aceitação pior do que as formulações T1 e T2. Ainda sobre a impressão global, o valor médio indicado pelos provadores indica o termo "nem gostei, nem desgostei" para a formulação T3, enquanto que para as demais formulações (T1 e T2) o termo indicado, em média, referente a nota 7 é "gostei regularmente", indicando que, os provadores apresentaram indiferença sobre a linguiça composta com óleo de coco. Este fato pode ter sido influenciado pelo atributo maciez, que também foi menos aceito pelos provadores.

Ainda de acordo com os dados, é possível verificar que as formulações empregando gordura suína e óleo de canola mostraram-se com aceitabilidade similar quanto à maciez, não diferindo ao nível de 5% de significância.

Após a obtenção da opinião dos provadores em relação as características sensoriais das formulações, um teste de intenção de compra foi executado, com o principal objetivo de verificar qual é a real vontade destes provadores em consumir, adquirir ou comprar o produto que está sendo oferecido. Neste teste, foi empregada uma escala de 5 pontos, no qual foi feito o seguinte questionamento: "Baseado na impressão global do produto, indique a sua atitude de compra com relação a amostra". Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Intenção de compra da linguiça de coelho com diferentes fontes de lipídeos.

Nota – termo hedônico	Porcentagem (%)		
	Gordura Suína (T1)	Óleo de Canola (T2)	Óleo de coco (T3)
1 - Certamente não compraria	8,9	5,9	25,7
2 - Provavelmente não compraria	6,9	5,0	26,7
3 - Tenho dúvidas se compraria	29,7	19,8	20,8
4 - Provavelmente compraria	29,7	29,7	15,9
5 - Certamente compraria	24,8	39,6	10,9

A menor aceitação global da formulação contendo óleo de coco como fonte de gordura é corroborada com a intenção de compra deste produto. Isso pode ser observado quando são analisados os resultados apresentados na Tabela 3, os quais indicam a porcentagem de provadores que indicaram cada termo hedônico. É possível observar que a linguiça empregando óleo de coco foi a mais rejeitada pelos provadores, sendo que mais de 50% dos provadores indicaram termos com expressão adversa a compra, representados por "certamente não compraria" e "provavelmente não compraria". Além disso, aproximadamente 21% dos provadores possui dúvidas em relação a compra deste produto. A intenção de

comprar, representada pelos termos “provavelmente compraria” e “certamente compraria”, foi indicada por aproximadamente 27% dos provadores, indicando assim uma baixa vontade de consumo por parte dos provadores.

Em contrapartida, quando se trata das linguiças referente às formulações T1 e T2, resultados similares foram encontrados, o que indica uma maior vontade de consumo destas formulações. É possível observar que a formulação contendo óleo de canola obteve respostas positivas de intenção de compra de aproximadamente 70% dos provadores, enquanto a que apresentava em sua composição gordura suína recebeu aproximadamente 55%. No que diz respeito aos termos em os provadores não tem intenção de comprar ou consumir o produto, caracterizados por “certamente não compraria” e “provavelmente não compraria”, 16% e 11% dos provadores atribuíram estes termos para a formulação T1 e T2, respectivamente. Isso corrobora os resultados de aceitabilidade em relação à impressão global do produto apresentada na Tabela 2.

Os resultados das amostras com gordura suína (T1) e óleo de canola (T2) corroboram com os resultados obtidos por Tavares et. al (2007). No referido estudo, os autores formularam um hambúrguer empregando carne de coelho e os resultados da análise sensorial mostraram que o produto desenvolvido foi classificado em “gostei moderadamente” e “gostei muito” (TAVARES et al., 2007).

CONCLUSÃO

A carne de coelho possui grande potencial para ser utilizada no desenvolvimento de produtos cárneos como, por exemplo, a linguiça frescal. A utilização de óleo de coco (F3) não constitui uma boa abordagem tendo em vista que os resultados mostraram aceitação inferior e baixa intenção de compra quando comparado às formulações com gordura suína (F1) e óleo de canola (F2).

Poucos estudos na temática em questão foram encontrados, o que torna necessária a condução de pesquisas para a elaboração destes produtos cárneos aliados à análise sensorial, com o objetivo de fornecer aos consumidores novos produtos. Vale ressaltar que a carne de coelho requer pequena área de produção e possui elevada produtividade com possibilidade de aproveitamento de resíduos. Isto faz com que seja uma atividade de baixo impacto ambiental aliada a obtenção de carnes com elevada qualidade nutricional.

AGRADECIMENTOS

Ao IFNMG - Campus Salinas pelo apoio e oferta da estrutura física necessária para a realização do experimento.

REFERÊNCIAS

1. American Public Health Association (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: APHA, 2015.

2. BONAMIGO, Andrei et al. Produção da carne cunícula no Brasil como alternativa sustentável. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 10, n. 4, p. 1247-1270, 2017.

3. CANO, C. C. **Análise do processo de desenvolvimento de novos produtos na indústria avícola.** 2008. 104 p. Dissertação (Mestrado em Administração e Negócios) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2008.

4. COTRIM, E. S. **Produção de hambúrguer com carne de coelho (oryctolagus cuniculus) adicionado de farinha de banana verde.** 2015. 57p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal da Bahia. Salvador, 2015.

5. DUTRA, M. P. et al. Combined effects of gamma radiation doses and sodium nitrite content on the lipid oxidation and color of mortadella. **Food Chemistry**, v. 237, p. 232–239, 2017.

6. HERNÁNDEZ, P. Carne de conejo, ideal para dietas bajas en ácido úrico. **Rev. Científica de Nutrición** , v. 154, n. 8, p. 33-36, 2007.

7. INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físico para análise de alimentos**. São Paulo, 2008.

8. MACHADO, L. C. Opinião: panorama da cunicultura brasileira. **Revista Brasileira de Cunicultura**, v.2, n.1, p.1-17, 2012.

9. MEILGAARD, M. et al. **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton: CRC Press, Inc, 1988.

10. SCOTELLANO, L. Aproveitamento da carcaça de colho (*Oryctolagus cuniculus*) para o desenvolvimento de cortes cárneos e elaboração de carne mecanicamente separada (CMS). 2013. 73p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 2013.

11. SILVA, Josiane Ferreira et al. Bilayer goat's milk yogurt with tamarind (Tamarindus indica L.) and wild passion fruit (Passiflora cincinnata Mast) jam: Characterization and acceptability. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e46996139-e46996139, 2020.

12. TAVARES, R.S., CRUZ, A.D., OLIVEIRA, T.S., BRAGA, A., R., Processamento e aceitação sensorial do hambúrguer de coelho (*Orytolagus cunicullus*). **Food Science and Technology.** Campinas, v.27, n.3, p. 633-636, jul/set., 2007.

13. TEIXEIRA, Ana Karine Mendes et al. Whole grain bread preserved with lemon juice: a comparative study/Pão integral conservado com suco de limão: um estudo comparativo. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 12, p. 33381-33391, 2019.

30

Queijos comerciais desidratados por processo de micro-ondas a vácuo: análise de textura

- Neila Silvia Pereira dos Santos **Richards**
  UFSM
- Isadora Andrade Monteiro **Barreto**
  ITP
- João Borges **Laurindo**
  UFSC

10.37885/201001770

RESUMO

A textura do queijo é um reflexo da sua estrutura, a nível molecular. Durante a fabricação de queijos, vários fatores podem contribuir para a textura do produto final, estes incluem o teor de umidade da coalhada, sua concentração em proteína e gordura. A secagem de alimentos por micro-ondas a vácuo é uma tecnologia emergente e promissora, porém deve-se conhecer a matriz a ser desidratada para que o produto final apresente a qualidade almejada. Este estudo teve como objetivo desidratar três tipos de queijos comerciais (provolone, muçarela e ricota) pelo processo de micro-ondas a vácuo, analisando os teores de umidade, proteína e gordura, além de avaliar a textura do produto final. Os resultados evidenciaram uma drástica redução no teor de umidade, e o aumento dos teores de proteína e gordura no produto final.

Palavras-chave: Gordura, Micro-Ondas, Muçarela, Proteína, Provolone, Ricota.

INTRODUÇÃO

Queijo é um produto lácteo nutritivo e versátil que desempenha um importante papel na alimentação humana há muitos séculos. Possui uma grande variedade de tipos que satisfazem os consumidores e são utilizados de diversas maneiras, seja em preparações culinárias ou na forma de porções. A estrutura do queijo é de uma matriz lipoprotéica, que dependendo do seu teor de umidade apresenta diferentes propriedades de textura. Mudanças na textura podem ser percebidas em queijos com diferentes tipos de leites, teores de gordura e proteínas, além do processo de fabricação a que foi submetido e ao grau de maturação. A qualidade do queijo é também dependente de suas propriedades de textura, aspecto visual e atributos nutricionais que são originados pela combinação de características bioquímicas, microbiológicas e tecnológicas (El-Bakry & Sheehan, 2014; Erbay et al., 2015).

A tendência no mercado mundial hoje está voltada para alimentos saudáveis, naturais e práticos, que demandem pouco tempo de preparação e que auxiliem na promoção da saúde e bem-estar (Monteiro et al., 2016; Monteiro et al., 2020).

Uma premissa importante na busca por tecnologias de secagem é de que os produtos resultantes sejam de alta qualidade nutricional e sensorial, uma vez que o processo não é apenas para conservação, mas também uma maneira de agregar valor à matéria-prima (Link et al., 2017).

A exigência dos consumidores para produtos de maior vida útil, melhor qualidade e a necessidade de economizar energia tem incentivado as indústrias de alimentos na busca de tecnologias emergentes, tais como o micro-ondas, visando o desenvolvimento de novos produtos (Castell-Palou, et al., 2011; Link et al., 2018).

A remoção de água tem sido muito utilizada para preservar os alimentos, porém, a secagem convencional demanda tempo e há perdas significativas dos nutrientes, dependendo do processo. A natureza e a geometria do material a ser seco é um fator importante na concepção de um processo de secagem, uma vez que as propriedades físicas e químicas do alimento desempenham um papel importante durante a desidratação por causa das possíveis mudanças que irão ocorrer, principalmente, os efeitos dessas mudanças sobre a remoção de água do produto (Bhandari et al., 2013; Philip et al., 2017).

As micro-ondas são ondas eletromagnéticas com comprimento de onda entre 1 mm e 1m e energia intensa. As moléculas dos alimentos, especialmente as moléculas de água, são dipolos elétricos e tendem a alinhar-se em direção à um campo elétrico. O campo elétrico produzido pelas micro-ondas transforma as moléculas de água energizadas em calor, ocorrendo desta forma a evaporação. Fatores como a matriz proteica (caseína ou proteínas do soro), teor de umidade e gordura devem ser considerados durante o processo de desidratação por micro-ondas (Ratti, 2009; Gurtler et al., 2014).

No processo a vácuo o alimento é seco sob pressão subatmosférica, podendo ser utilizado para alimentos termossensíveis que podem sofrer alguma avaria quando expostos a altas temperaturas (Barreto, 2016). Neste processo a taxa de evaporação é majorada devido à diminuição da temperatura de saturação da água, apresentando vantagens frente a outros processos de secagem, como, por exemplo, a secagem convectiva (Cuccurullo et al., 2017). Temperaturas de processamento mais baixas e taxas de secagem mais elevadas proporcionam produtos com melhor qualidade nutricional e sensorial (Link, 2016).

O processo de aquecimento por micro-ondas é volumétrico e seletivo e, se a secagem ocorrer sob vácuo, os vapores formados no interior do alimento irão gerar gradientes de pressão entre o interior e a superfície do produto. O efeito de expansão (*puffing effect*) é o resultado do gradiente causado pelo escoamento do vapor produzido e da água líquida presente nos poros da matriz do alimento (Monteiro et al., 2018).

Neste contexto, este trabalho objetivou estudar as propriedades mecânicas de textura de três amostras de queijos, sendo um de massa fresca, ricota, e dois de massa filada, muçarela e provolone. A atividade de água das amostras e os teores de umidade, proteína e gordura também foram determinados.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras comerciais de três diferentes tipos queijos (provolone, muçarela e ricota) (n=9) foram coletadas em supermercados da cidade de Florianópolis, SC, levadas ao Laboratório de Propriedades Físicas (PROFI) da UFSC e armazenadas por 24 horas sob refrigeração (5 °C). Para o processo de desidratação, as amostras foram cortadas com 37 mm de diâmetro e seis mm de espessura. A seguir, foram dispostas em bateladas no equipamento de micro-ondas e desidratadas. A potência de saída utilizada na secagem foi de 500 W, a frequência de 2,4 GHz. Nas amostras de queijos úmidos e secos analisou-se: teor de umidade (g/100g), proteína (g/100g), gordura (g/100g) e atividade de água (IAL, 2008). Foram calculados as médias (triplicatas) e os respectivos desvios-padrão para as amostras de queijos analisadas.

As propriedades mecânicas de textura dos queijos foram analisadas por meio de teste de penetração com *probe* cilíndrica de dois mm de diâmetro, em analisador de textura TA-XT2, da Stable Micro System, controlado por microcomputador. Para cada amostra de queijo foram realizadas três perfurações em cada amostra, em diferentes regiões. Foram analisadas as curvas força x deformação das amostras secas e, em todos os testes de perfuração, as amostras foram deformadas 70% da sua espessura inicial (Barreto, 2016).

RESULTADOS

Os queijos foram caracterizados antes e depois do processo de secagem, conforme mostrado na tabela 1.

Tabela 1. Resultados médios dos teores de umidade (g/100g), proteína (g/100g), gordura (g/100g) e atividade de água de amostras de queijos comerciais submetidos a processo de desidratação por micro-ondas.

Queijos/ Análises	Provolone		Muçarela		Ricota	
	Úmido	Seco	Úmido	Seco	Úmido	Seco
Umidade (g/100g)	41,28±1,04	0,98±0,60	47,75±2,17	10,80±1,02	65,95±0,46	6,37±0,60
Proteína (g/100g)	24,70±0,71	48,16±1,20	26,48±1,54	44,31±1,40	11,26±0,98	31,33±1,18
Gordura (g/100g)	21,67±1,03	43,54±0,77	23,61±2,30	40,63±1,75	13,98±1,21	27,81±1,36
Aw	0,973±0,02	0,264±0,03	0,974±0,01	0,417±0,01	0,995±0,02	0,327±0,03

Na Figura 1 estão representadas as curvas de força x deformação de amostras de queijos desidratados utilizando a técnica de micro-ondas, a uma potência nominal de 500 W, na Figura 2 fotos das amostras (estereoscópio ótico 10,5x) e na Figura 3 amostra de ricota antes e após o processo.

Figura 1. Curvas de força x deformação das amostras dos queijos provolone (A), muçarela (B), ricota (C) submetidos à secagem micro-ondas a vácuo. Comparativo (D) com os três comportamentos obtidos.

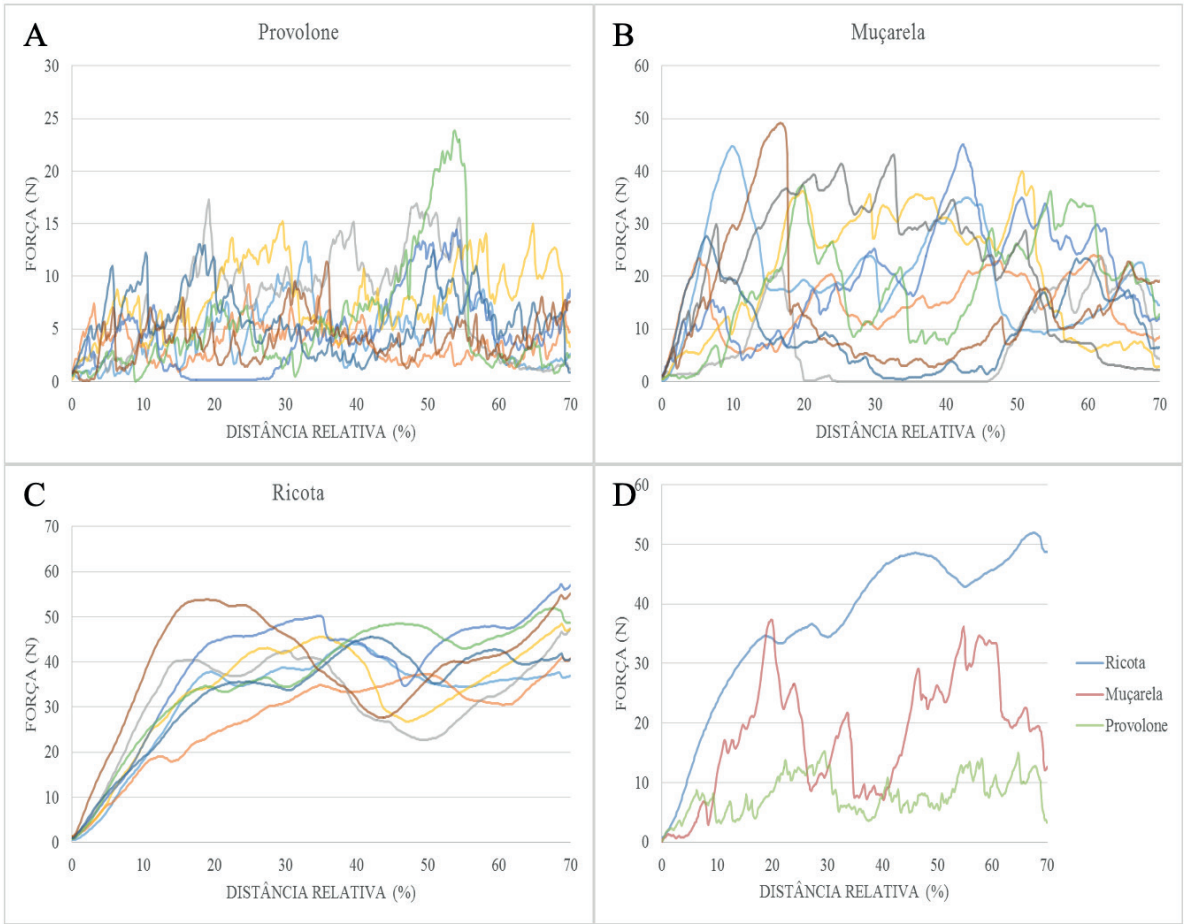
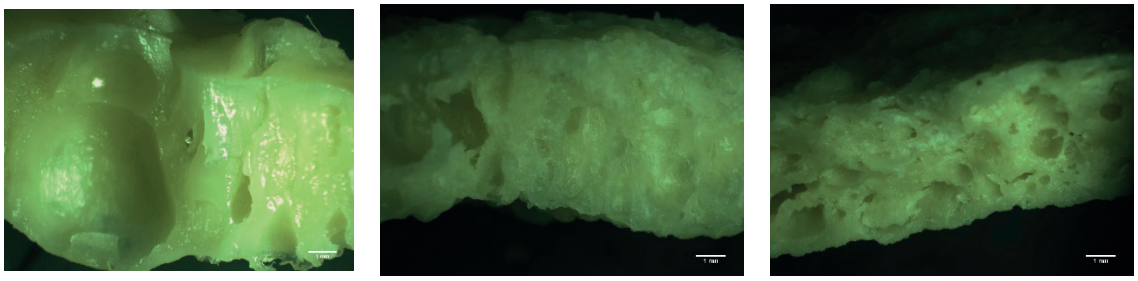


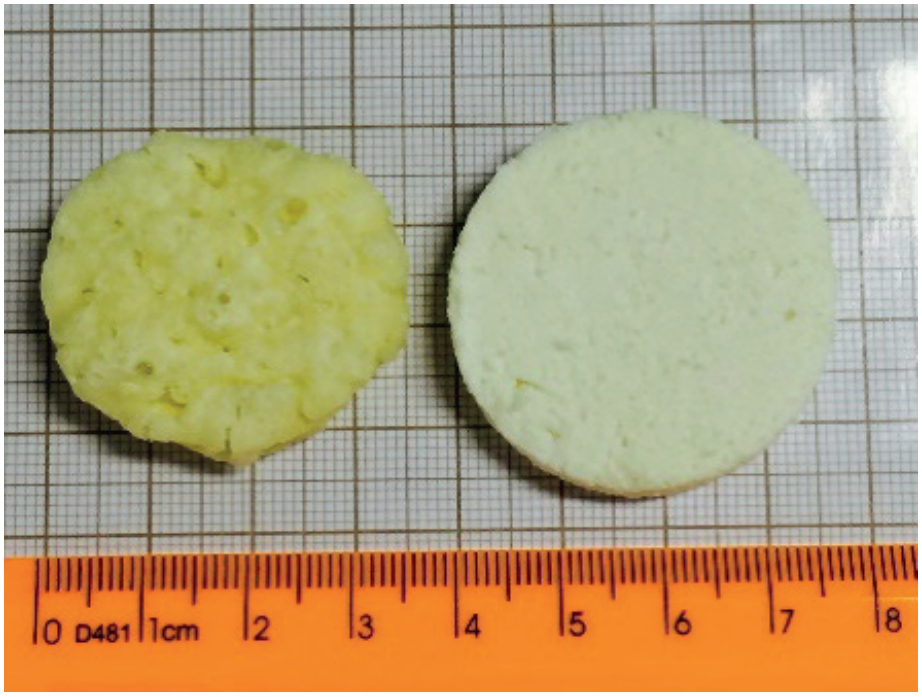
Figura 2. Fotos das amostras de queijos secos por processo de micro-ondas a vácuo (Provolone, Muçarela e Ricota) em estereoscópio ótico (10,5 x).



Provolone | Muçarela | Ricota

As amostras de muçarela e provolone apresentaram um aumento de volume quando comparada às amostras antes do processo; já a amostra de ricota, figura 3, mostrou encolhimento.

Figura 3. Amostra de ricota antes (direita) e após a secagem em micro-onda a vácuo (esquerda).



DISCUSSÃO

Para um alimento, a seleção do método de secagem mais adequado é geralmente baseada em fatores que incluem as características da matéria-prima e a qualidade do produto final. O teor de umidade final do produto seco também é um fator preponderante na escolha do método, sendo este teor próximo ou abaixo de 5% para assegurar a estabilidade adequada do produto e a extensão de sua vida útil (Ratti, 2009).

Os resultados mostraram uma drástica redução no teor de umidade das amostras de queijos, porém, das amostras analisadas, somente a de provolone obteve um teor de umidade abaixo de 5%.

Para as amostras de provolone e muçarela observou-se a concentração do teor de proteínas e gordura em torno de 94,98%, já para a ricota esta concentração foi de 100%. Estes dados mostram a eficiência do processo na remoção de água e concentração dos componentes da matriz (queijo).

Analisando as curvas é possível observar que foram necessárias forças de menor intensidade para perfurar as amostras de muçarela e provolone, de 20 N e 8 N, respectivamente, ao contrário da ricota onde as forças foram de aproximadamente 35 N para serem perfuradas pela *probe*. A necessidade de menores forças de penetração se deve ao baixo teor de umidade e firmeza das amostras. Quando as amostras apresentam alto teor de umidade, ocasiona uma plastificação, ou seja, maior mobilidade molecular, conferindo característica "borrachuda".

Nos gráficos de textura pode-se observar que as amostras de provolone e muçarela apresentaram diversos picos nas curvas, devido à ruptura das paredes celulares. Dessa forma, evidenciando que o produto apresenta características de crocância e estão associados à estrutura frágil da matriz porosa (Laurindo & Peleg, 2007). Para um produto ser crocante, em termos físicos, deve apresentar uma estrutura firme, mas ao mesmo tempo frágil, para que, ao ser submetido a uma força, ocorra a fratura e sua desintegração.

Neste estudo, o queijo provolone apresentou maior característica de crocância, pois as curvas apresentaram um maior número de picos. Mazumder et al. (2007) estudaram textura realizando testes de compressão uniaxial em *snacks* de milho extrusados e apontaram que um bom indicador do comportamento crocante de uma amostra é o número de picos principais, os quais são sensíveis ao teor de umidade da amostra, principalmente quando este é maior que 4% (base úmida).

Na maioria dos queijos a principal estrutura constituinte é a matriz de caseína, na qual os glóbulos de gordura são aprisionados. A água e/ou soro é ligada à caseína e preenche os interstícios da matriz. Esta estrutura de rede é afetada pelo teor relativo de proteína, gordura, bem como pelas atividades bioquímicas que ocorrem continuamente durante o armazenamento do produto (Gunasekaran, 2003). A ricota, por sua matriz protéica (proteínas do soro) ser diferente das outras amostras, mais frágil, apresentou textura "borrachuda" e dureza 150% maior que a dureza do provolone, ou seja, não seguiu o padrão de crocância das outras amostras estudadas.

A secagem por este processo, micro-ondas a vácuo, produz a formação de estrutura porosa devido ao aquecimento volumétrico causado pela micro-ondas e a baixa pressão que força a saída do vapor do interior para a superfície da amostra, provocando o *puffing effect*, como observado na figura 2.

O encolhimento da amostra de ricota reduziu seu volume, resultando em um produto com estrutura porosa mais compacta, provocado, provavelmente, pela sua constituição proteica, sendo formada por albuminas e globulinas, homoproteínas ou proteínas simples que apresentam a forma globular, diferente das caseínas que são proteínas conjugadas, sendo uma mistura de várias fosfoproteinas muito semelhantes, encontrada na forma de sal coloidal.

O teor de umidade no final do processo e as condições de secagem como umidade relativa, temperatura e tempo de processo tem influencia no encolhimento da matriz alimentícia (Link et al., 2018; Monteiro et al., 2018).

Nas figuras 2 e 3 pode-se observar os poros formados durante o processo de secagem, sendo a porosidade um parâmetro que representa a fração de espaços vazios em um sólido, sem explicar sobre a distribuição de tamanhos dos poros presentes na estrutura porosa das amostras. As distribuições de tamanhos de poros em uma amostra influencia suas propriedades mecânicas e principalmente a textura.

CONCLUSÕES

Os critérios de seleção para o uso de novas tecnologias continuam a ser os mesmos que para os convencionais, ou seja, diferentes fatores, relacionados com o produto a ser desidratado devem ser considerados, como, no caso de queijos, o teor de umidade, gordura e o tipo da matriz proteica, para que o produto apresente a qualidade almejada, tendo suas características físico-químicas, principalmente seus atributos de qualidade sensorial majorados. Dependendo da matriz alimentícia a secagem por micro-ondas a vácuo produz amostras porosas devido ao aquecimento volumétrico sob vácuo, o que resulta na expansão do produto. A secagem que queijos por micro-ondas é uma tecnologia inovadora e pode otimizar as técnicas de desidratação existentes, estendendo a vida útil dos queijos com alta umidade sem prejudicar sua qualidade sensorial, sendo uma alternativa viável para obtenção de queijo desidratado crocante com baixo teor de umidade e alta concentração de proteína.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo suporte financeiro- Bolsa de Pós-doutorado Senior do primeiro autor.

REFERÊNCIAS

1. BARRETO, I. M. A. Estudo da secagem com aplicação de micro-ondas para obtenção de batatas chips crocantes. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2016.

2. BHANDARI, B.; BANSAL, N.; ZHANG, M.; SCHUCK, P. **Handbook of food powders**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited. 2013. 660p.

3. CASTELL-PALOU, A., ROSSELLÓ, C., FEMENIA, A., BON, J., SIMAL, S. Moisture profiles in cheese drying determined by TD-NMR: Mathematical modeling of mass transfer. **Journal of Food Engineering**. n.104, p. 525-531, 2011.

4. CUCCURULLO, G.; GIORDANO, L.; METALLO, A.; CINQUANTA, L. Influence of mode stirrer and air renewal on controlled microwave drying of sliced zucchini. **Biosystems Engineering**, v. 158, p. 95-101, 2017.

5. EL-BAKRY, M.; SHEEHAN, J. Analysing cheese microstructure: A review of recent developments. **Journal of Food Engineering**. n 125, p.84-96, 2014

6. EL ZAHAR, K.; MOUNIR, S.; ALLAF, T.; ALLAF K. Fundamental Modeling, Functional Attributes, Porosity, Cohesivity index (Hausner ratio) and compressibility of Expanded-Granule Powder of Egyptian Ras Pure Cheese. **LWT – Food Science and Technology**. 2015. doi: 10.1016/j.lwt.2015.05.032.

7. ERBAY, Z.; KOCA, N.; KAYMAK-ERTEKIN, F.; UCUNCU, M. Optimization of spray drying in cheese powder production. **Food and Bioproducts Processing**. n.93, p.156-165, 2015.

8. GURTLER, J.B.; DOYLE, M.P.; KORNACKI, J.L. **The microbiological safety of low water activity**. London: Springer, 2014. 437p.

9. IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.**São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1064p.

10. LAURINDO, J.B.; PELEG, M. Mechanical Measurements in Puffed Rice Cakes, **Journal of Texture Studies**, v. 38, p. 619-634, 2007.

11. LINK, J. V. Aplicação de múltiplos ciclos de aquecimento-pulso de vácuo para a produção de fatias de manga (Mangífera indica L.) desidratadas. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2016.

12. LINK, J.V.; TRIBUZI, G.; LAURINDO, J.B. Conductive multi-flash drying of mango slices: Vacuum pulse conditions on drying rate and product properties. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 42, n. 2, 2018.

13. LINK, J.V.; TRIBUZI, G.; LAURINDO, J.B. Improving quality of dried fruits: A comparison between conductive multi-flash and traditional drying methods. **LWT-Food Science and Technology**, v. 84, p. 717-725, 2017.

14. MAZUMDER, P.; ROOPA, B. S.; BHATTACHARYA, S. Textural Attributes of a Model Snack Food at Different Moisture Contents, **Journal of Food Engineering**, v.79, p. 511–516, 2007

15. MONTEIRO, R.L.; GOMIDE A.I.; LINK, J.V.; CARCIOFI, B.A.M.; LAURINDO, J.B. Microwave vaccum drying of foods with temperature control by power modulation. **Innovative Food Science & Emerging Technologies,** v.65, https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102473

16. MONTEIRO, R.L.; LINK, J.V.; TRIBUZI, G.; CARCIOFI, B.A.; LAURINDO, J.B. Microwave vacuum drying and multi-flash drying of pumpkin slices. **Journal of Food Engineering**, v. 232, p. 1-10, 2018.

17. MONTEIRO, R.L., CARCIOFI, B.A.M., LAURINDO, J.B. A microwave multi-flash drying process for producing crispy bananas. **Journal of Food Engineering**, v. 178, p. 1-11, 2016.

18. PHILIPP, C.; BUCKOW, R.; SILCOCK, P.; OEY, I. Instrumental and sensory properties of pea protein-fortified extruded rice snacks. **Food Research International**, v. 102, p. 658-665, 2017.

19. RATTI, C. **Advances in food dehydration**. New York: CRC Press. 2009. 467p.

20. SAINT-EVE, A., PANOUILLÉ, M., CAPITAINE, C., DÉLÉRIS, I., SOUCHON, I. Dynamic aspects of texture perception during cheese consumption and relationship with bolus properties. **Food Hydrocolloids**. v.46, p.144-152, 2015.

31

Stability of bioactive compounds in fruit smoothies

- Sílvia Cristina Sobottka Rolim de **Moura**
  ITAL
- Elaine de Cássia Guerreiro **Souza**
  ITAL
- Fernanda Zaratini **Vissotto**
  ITAL
- Fabíola Guirau Parra **Toti**
  ITAL
- Shirley Aparecida Garcia **Berbari**
  ITAL
- Paulo **Alves Júnior**
  FEA/UNCAMP

doi 10.37885/201001884

ABSTRACT

Smoothies are drinks composed of a mixture of vegetables (fruits, vegetables), which can be added or not by milk or yogurt, being a high creamy, healthy beverage and a good source of energy, vitamins, and minerals. Samples of three commercial smoothies: Yellow Fruits (YF), Red Fruits (RF), and Green Vegetables (GV) stored in a glass packaging (260 mL) were characterized for pH, soluble solids (°Brix), water activity (aw), density, rheology and thermal properties, and stored at controlled temperatures of 10 °C and 25 °C in the absence of light. During the period of 180 days, the samples were evaluated for color, polyphenol and anthocyanin contents, and sensorially monitored by odor, taste, overall quality and color characteristics. The smoothies showed similar physicochemical and thermophysical properties to pulp fruit and juice concentrates. The rheological behavior of the samples followed the power law model and was adjusted to the Arrhenius model. All the samples showed a reduction in bioactive compounds, change in color, taste and odor, with these being more significant at the room temperature.

Keywords: Smoothie; Rheology; Phenolic Compounds; Shelf-Life; Sensory Evaluation.

INTRODUCTION

An increasing search of the population for topics related to health, correct nutrition and well-being has been recently observed. These topics are directly reflected in the food industry, with the increasing implementation of higher nutritional value products and redevelopment of products aiming to meet this healthiness trend (São Paulo, 2010).

Smoothies are fruit- and/or vegetable-based products and may be considered as additive-free and sugar free products, being of high nutritional interest and convenience to the consumer.

In a market where consumers seek for high quality and suitable products, with a simple composition, minimally processed and at a high organoleptic and nutritional quality, smoothies have a prominent place (Keenan et al., 2012).

The stability or shelf-life of a food is defined as the period of time during which it can be stored under certain temperature, humidity, light, etc. conditions, suffering small changes which are considered as acceptable by the manufacturer, the consumer, and the food legislation in force (Moura & Germer, 2010).

Several changes may occur in food during processing and storage when it is exposed to different environmental conditions that may trigger a series of reactions, leading to its degradation and consequent rejection by consumers. Quality changes in fruit-based drinks involve physicochemical, microbiological and sensory changes usually related to heat treatment, chemical composition and initial quality of the drink, oxygen dissolved and present in free space, storage temperature, package and surface of contact, among others (Singh, 2014).

Measurement of equipment used in food processing, mainly that working with pumping and fluids influenced by temperature, requires precise data of thermal properties (density, thermal conductivity, thermal diffusivity and specific heat), as well as rheological properties specially involved in pumping and fluid transportation during the production line and the way these properties behave during process according to the temperature (Mulvaney et al., 2000).

Natural dyes belong to two main classes: carotenoids and flavonoids, with anthocyanins belonging to the latter. They are liable for a wide range of colors present in fruits, flowers and leaves, varying from bright red to purple and blue, and are found in many dark fruits such as raspberries, blackberries, cherries, grapes, and strawberries (Delgado-Vargas & Paredes-López, 2002).

Anthocyanin color is unstable and susceptible to changes due to several factors, such as: structure and concentration of anthocyanins present in fruits, pH, temperature, light, presence of acids, sugars, phenols, metallic ions, in addition to substances called copigments (Delgado-Vargas & Paredes-López, 2002). The temperature may also be liable for anthocyanins degradation with a consequent reduction of their color, in addition of providing

the appearance of mould (Oms-Oliu et al., 2012). In general, extracts stored at low temperatures are more stable in comparison with those stored at room temperature. In addition, exposure to light should also be avoided for these extracts, since UV radiation interacts in extract promoting reactions, such as copigmentation with other compounds, consequently changing the stability of anthocyanins and forming oxidative degradation products which are brown colored (Amr & Al-Tamimi, 2007).

The objective of the study in question was the characterization with respect to physico-chemical, thermophysical and rheological properties of fruit smoothies' samples, considering a growing demand of their consumption. A study of smoothies' stability as for color, antioxidant compounds and sensory characteristics for 180 days when stored at the temperatures of 10 °C and 25 °C in the absence of light was also conducted.

MATERIALS AND METHODS

Material

Commercial smoothies samples of 03 flavors: YF (yellow color, containing apricot, mango, *acerola*, passion fruit, and *cupuaçu*), RF (red color, containing strawberry, plum, cherry, raspberry, apple, cranberry, and pomegranate) and GV (green color, containing kiwi, pineapple, lemon, green tea, mint, and chlorophyll) were stored in 260 g glass bottles, with the label as a plastic coating on the entire bottle. The samples were stored in BOD chambers simulating the storage at room temperature (25 °C) and under refrigeration (10 °C) in the absence of light.

Methods

Determination of pH

Conducted in a pH meter (Digimed, model DM-20, Brazil) (Instituto Adolfo Lutz, 1985). The mean value was calculated from three measurements from each sample.

Soluble solids (SST)

Determined in an optical refractometer (ATAGO, model PAL-α, Japan) (Instituto Adolfo Lutz, 1985). The mean value was calculated from three measurements from each sample.

Activity of water (Aw)

Analyzed directly in a water activity meter (Aqualab, series 3TE, model cx-2, Brazil), at a constant temperature of 25°C. The mean value was calculated from three measurements from each sample.

Instrumental color

Conducted directly in a instrumental color equipment (Minolta, model CR-400, Japan), by using rectangular coordinates – CieLab: L* representing luminosity, a* representing the green-red axis, and b* representing the yellow-blue axis. The mean value of each parameter was calculated from four measurements from each sample. Other parameters were also calculated: ΔE (Equation 1), Chroma (Equation 2) and Hue (Equation 3).

$$\Delta E = \sqrt[2]{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (1)$$

$$Chroma\ or\ Saturation = C^* = \sqrt{\left(a^{*2} + b^{*2}\right)} \quad (2)$$

$$Hue = H^* = artan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (3)$$

Total polyphenols

The analysis was conducted according to Folin-Ciocalteu method, with extraction in a single phase using acetone 70% and standard curve calibration with gallic acid. The analytical values are expressed in gallic acid equivalents (Kiralp & Toppare, 2006). The mean value was calculated from three measurements from each sample.

Total anthocyanins

Conducted as DPPH methods, with acidified hydroalcoholic extraction (Association of Official Analytical Chemists, 2006).

The mean value was calculated from three measurements from each sample.

Density (ρ)

Conducted as per fluid displacement methodology in pycnometers, described in rule no. 985.19 of AOAC (Williams, 1990) at four different temperatures (10, 30, 60 and 90 °C), kept constant by using ultra thermostatic bath (Marqlabor, model BUT-10, Brazil). The mean

value was calculated from three measurements from each sample and compared to a model proposed by Peacock (1995) (Equation 4) with calculation of relative error (Equation 5).

Peacock (1995)

$$\rho = 10001 + SST\left(\frac{SST+200}{54000}\right)\times\left[1-0.036\frac{(T-20)}{(160-T)}\right] \qquad \left(kg/m^3\right) \qquad (4)$$

where: SST = soluble solid content (°Brix); T = temperature (°C).

$$Relative\,error\,(\%) = \left(\frac{theoretical\,value - experimental\,value}{experimental\,value}\right)\times 100 \qquad (5)$$

Specific heat (Cp)

The determination of specific heat was conducted through an adaptation of Hwang and Hayakawa method described in Rahman (2009) in a mixture calorimeter. The mean value was calculated from three measurements from each sample. For specific heat calculation the Equation 6 is applied, which is obtained through energy balance.

$$Cp = \frac{(Hk + Cpw\times Ww)\times\left[Tfw - Tow - \left(\frac{dT}{dt}\right)te\right] + Cps\times Ws\left[Tfw - Toc - \left(\frac{dT}{dt}\right)te\right]}{Wc\left[(Toc - Tfw) + \left(\frac{dT}{dt}\right)te\right]} \qquad (6)$$

where: Cp = specific heat (KJ/KgºC) of the sample; Hk = heat capacity of the calorimeter (KJ/°C); Cpw = specific heat of distilled water (KJ/Kg°C); Ww = mass of distilled water (Kg); Tfw = temperature corresponding to the beginning of the straight part of the time × temperature curve of distilled water (°C); Tow = initial temperature of distilled water (°C); dT/dt = slope of the time × temperature curve of distilled water (°C/s); te = time corresponding to Tfw of the time × temperature curve of distilled water (s); Cps = specific heat of the polyethylene bag (KJ/Kg°C); Ws = mass of the polyethylene bag (Kg); Wc = mass of the sample (Kg); Toc = initial temperature of the sample (°C).

Thermal diffusivity (α)

The method used to determine the thermal diffusivity is based on the Dickerson method described in Rahman (2009). The mean value was calculated from three measurements from each sample. The thermal diffusivity is calculated by the following Equation 7.

$$\alpha = \frac{A\times R^2}{4\times(T_{ext} - T_{int})} \qquad (7)$$

where: α = thermal diffusivity; A = rate of bath temperature increase (°C/s); R = cell radius (m); (T_{ext} - T_{int}) = difference between external and internal temperature of the cell (°C).

Thermal conductivity (k)

Determined after knowing the density (ρ), thermal diffusivity (α) and specific heat (Cp) of the product by using the ratio (Equation 8).

$$k = \rho \times Cp \times \alpha \quad (8)$$

Rheological behavior

Rheological determinations were made in a rotational programmable rheometer (Brookfield, model DVIII+, USA) by using a small sample adaptor, a cylindrical spindle (S15 specification) coupled into a bath with thermostatic control (Brookfield, TC-500, EUA).

The apparent viscosity behavior was verified at three predetermined temperatures, 25, 50 and 90 °C. The rheometer programming was set to 20 rpm for 120 seconds to each temperature and apparent viscosity data (μ) was collected on each case. The Arrhenius Equation 9 was used to check data adjustment.

$$\ln \mu = \ln \mu_0 + \frac{E_a}{R \times T} \quad (9)$$

where: μ_0 = initial apparent viscosity (Pa); Ea = activation energy (KJ/mol); R = 8.314 (J/mol.Kelvin); T = temperature (Kelvin).

The rheological behavior of the fluid was verified at three temperatures, 25, 50 and 90 °C, with programming appropriately set for deformation rates from 0 to 50 s^{-1}. Shear stress data were obtained for each deformation rate applied.

Data obtained in experiments was statistically analyzed by computer programs (STATISTICA, version 10, StatSoft), adjusting to theoretical models of Ostwald-de-Waelle or Power Law (Equation 10) and Herschel-Bulkley (Equation 11).

$$\sigma = K(\gamma)^n \quad (10)$$

$$\sigma = \sigma_o + K(\gamma^n) \quad (11)$$

where: σ = shear stress (Pa); Υ = deformation rate (s-1); K = consistency index (Pa.s)n; n = behavior index; σo = initial shear stress (Pa); η = plastic viscosity (Pa).

Sensory evaluation

For sensory evaluation of smoothies and the stability study, a team of 15 trained panelists and the quantitative descriptive analysis method (QDA) were used. Two samples (stored at 10° and 25 °C in the absence of light) of each kind of smoothie were used, in a total of 6 samples. Five evaluations were conducted in a period of 180 days. The evaluations occurred on the 0th, 49th, 91st, 130th and 180th day of storage. 12-point horizontal structured scales were used to assess the aroma attributes ranging from strong to weak, color ranging from clear to intense, taste ranging from strange to characteristic, and overall quality ranging from bad to good. Samples were given to the tasters in white plastic glasses at a temperature of 10

°C. The results were analyzed through analysis of variance ($p < 0.05$) and the Tukey's test (Bender et al., 1982).

RESULTS AND DISCUSSION

Samples characterization

Table 1 shows data from analyses composing the physicochemical and thermal characterization of the samples.

Low pH values refer to products composed of citric fruits, also being one safety parameter applicable to food products. The heat treatment industrially applied to these products is pasteurization (100 °C for 30 seconds), using a tubular heat exchanger and hot filling in glass bottles. This treatment together with pH characteristics of the product assures microbiological stability at room temperature, even at a high activity of water.

The values of soluble solids (SST) of the samples correspond to those observed by Nunes (2012), who mentions values from 11 to 15 °Brix for samples of products classified as smoothies, with no sugar.

Experimental data collected by Rahman (2009) and Souza (2008) on thermal properties of juices and fruit pulps have shown to be very similar to the values of Table 1. Considering the soluble solid contents, the specific heat values of Table 1 have reached differences between 5 and 15%.

Figure 1 shows the relationship between density and temperature of the three samples analyzed. Data observed demonstrates a decrease of density reaching the linear behavior as the temperature increases.

Table 2 shows that in comparison with the density prediction model proposed by Peacock (1995) (4), density values of the samples evaluated have relative errors (5) not exceeding 0.5%, at a temperature range from 30 to 90 °C. Such fact can be assumed from the contribution of the soluble solids in this property.

Table 1. Physicochemical and thermophysical characteristics of the smoothies.

Sample	GV	YF	RF
pH	3.45 ± 0.01	3.59 ± 0.02	3.56 ± 0.01
Aw	0.987 ± 0.01	0.986 ± 0.01	0.988 ± 0.02
SST (°Brix)	14.07 ± 0.9	13.54 ± 0.4	13.82 ± 0.6
Cp (kJ/Kg.°C)	3.18 ± 0.11	3.11 ± 0.09	3.09 ± 0.15
$\alpha .10^7 (m^2/s)$	1.30 ± 0.08	1.29 ± 0.11	1.31 ± 0.05
k (W/m.°C)	0.436	0.423	0.425

Figure 1. Density of smoothie samples versus temperature.

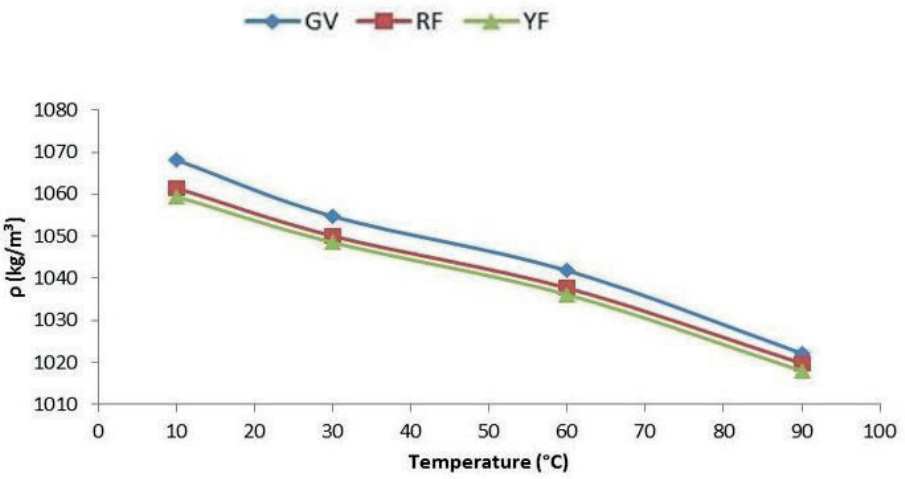


Table 2. Experimental and theoretical values of smoothie's density, at a temperature range from 30 to 90 °C.

Sample	SST (°Brix)	$\rho_{experimental}$ (Kg/m³)	$\rho_{Equation\ 4}$ (Kg/m³)	Error (%)
T = 30 °C				
GV	14.07	1054.73	1052.85	-0.18
RF	13.82	1050.06	1051.80	0.17
YF	13.54	1048.53	1050.63	0.20
T = 60 °C				
GV	14.07	1041.82	1040.57	-0.12
RF	13.82	1037.68	1039.53	0.18
YF	13.54	1036.12	1038.37	0.22
T = 90 °C				
GV	14.07	1022.17	1017.77	-0.43
RF	13.82	1019.78	1016.75	-0.30
YF	13.54	1017.99	1015.62	-0.23

Table 3. Adjustment to Power Law model for GV, RF, and YF smoothie samples.

GV	K(Pa.s)^n	n	R^2
25 °C	8.198	0.5836	0.97
50 °C	4.775	0.7771	0.99
90 °C	1.409	0.9045	0.96
RF	**K(Pa.s)^n**	**n**	**R^2**
25 °C	7.611	0.6076	0.94
50 °C	4.078	0.7932	0.98
90 °C	1.048	0.9496	0.97
YF	**K(Pa.s)^n**	**n**	**R^2**
25 °C	7.912	0.5912	0.95
50 °C	3.734	0.7881	0.97
90 °C	1.665	0.9155	0.96

By using STATISTIC 10 program, Table 3 shows suitability of shear stress and shear rate to the Ostwald-de-Waelle model or Power Law (10), as well as the parameters related to this model for the three smoothie samples. The Ostwald-de-Waelle model or Power Law have exhibited a good suitability, with coefficient values (R^2) higher than 0.94.

It still can be noted that, in all cases, the (n) values are lower than "1", demonstrating the fluids have a rheological behavior defined as pseudoplastic non-Newtonian one.

The rheological behavior is the classification of the fluid as per its response to a change in the deformation rate (Moura et al., 2008). The pseudoplastic non-Newtonian fluids tend to reduce the apparent viscosity as the deformation rate increases (Mulvaney et al., 2000).

According to Bennet & Myers (2009), the non-Newtonian fluids can be well represented by theoretical models; the pseudoplastic and dilatant ones are generally well represented by the Power Law (equation X), while the Bingham plastics fluids and general Bingham ones are well represented by Herschel-Bulkley (equation XI).

In all samples analyzed, the temperature increase was reflected in a reduction of the consistency index (*K*), as well as in an increase in the behavior index (n) (Table 3). The same behavior was observed by Zainal et al. (2000) in an assessment of the temperature effect (65 to 85 °C) in the consistency index and behavior index in guava juice (9 to 11 °Brix). These authors found an exponential decrease in the consistency index and an exponential growth of the behavior index as the temperature increases.

The rheological behavior observed complies with what has been reported by Diamante & Umemoto (2015) in their evaluation of rheological properties of fruit and vegetable products. The authors have collected and analyzed data from over 30 recent publications on rheological properties of fruit-based products. The Herschel-Bulkley model and the Power Law were used to describe most part of the behavior of products with a pseudoplastic behavior at $n < 1$.

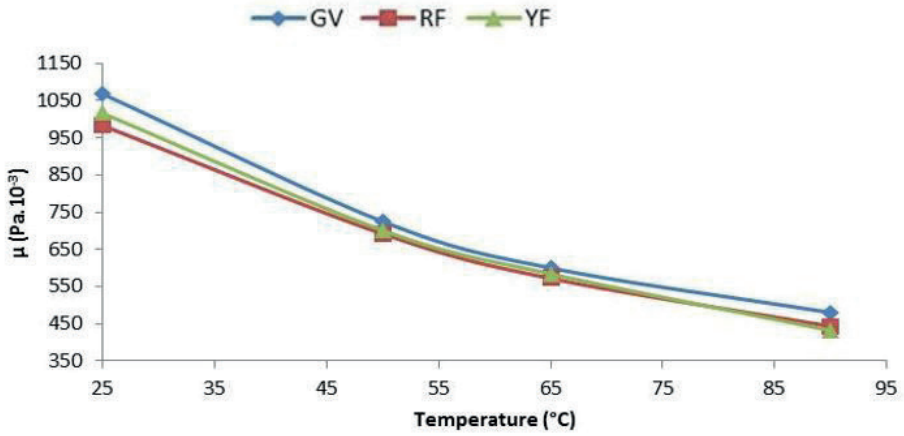
The evaluation of apparent viscosity behavior of the samples according to a temperature change is represented in Figure 2. Again, a similar behavior of the samples is observed. The initial apparent viscosity of the samples is quite close to the expected values in the production of milk and pulp drinks, demonstrating the texture similarity between both products. The variation of the viscosity as the temperature increases has shown a non-linear behavior.

Apparent viscosity versus temperature data was also adjusted according to the Arrhenius equation (IX). Activation energy values have fallen within the range of 18.7-20.1 KJ/mol. The higher the activation energy, the higher the temperature effect on viscosity (Pereira et al., 2014; Diamante & Umemoto, 2015). The higher the activation energy, the higher the temperature effect on apparent viscosity (Barbosa-Cánovas et al., 1993; Rao & Rizvi, 1995).

Lower activation energy values as those found in fruit topping (Rao & Rizvi, 1995) are reflected in a lower change in fluid viscosity with temperature increase, resulting in

heating processes slightly facilitated and with a reduced impact in organoleptic characteristics of the product.

Figure 2. Apparent viscosity behavior versus temperature of smoothie samples.



Evaluation of sample stability

Anthocyanin and polyphenol contents

For total polyphenol values, gallic acid was used as a standard compound for the elaboration of a standard curve with values from 20 μg/mL to 200 μg/mL, resulting in the equation: ($y = 0.005x+0.148 – R^2 = 0.989$). Table 4 shows the data compilation of total polyphenol analyzes for the samples, considering the 45-day storage time.

A relative degradation with time higher than with storage temperature is observed, even though the variation in storage condition has increased the total polyphenol degradation.

According to data presented by Faller & Fialho (2009), the mean values of polyphenol contents in fruits are 85.1 (mgEAG /100 g) for pineapple, 110.5 (mgEAG /100 g) for mango, 114.6 (mgEAG /100 g) for orange and 15.3 (mgEAG/100 g) for papaya. Considering the smoothies are composed by mixtures of fruits, they have values of polyphenol similar to pineapple (18% lower) when observed at the initial time point (70 mgEAG /100 g).

When assessed as for the total concentration of phenolic compounds, the three samples had a similar behavior, with a higher degradation of such compounds being found at higher temperatures.

Figure 3 is shown as an example of total polyphenols degradation with time for the YF sample. At 45 days of storage, the sample had a reduction in the polyphenol content from 14 to 28% for samples stored at 10 and 25 °C.

Rodríguez-Verástegui et al. (2016) studied the change in polyphenol content of two vegetable smoothies composed of tomato, red pepper, broccoli and carrot when stored at 5 and

20 °C. The initial polyphenol content was from 40.4 to 46.2 mgEAG/100 g and, after 40 days of storage, the polyphenol content had a reduction from 13-18% at 5 and 20 °C, respectively.

Teixeira et al. (2008) report maximum values of anthocyanins in *in natura* samples of 21.68 (mg/100 g) for strawberry, 12.67 (mg/100 g) for pomegranate and 14.72 (mg/100 g) for *acerola*.

Table 4. Result of smoothies' total polyphenol contents evaluation in mg EAG/100 g.

Sample	Time point 0	45 days (10 °C)	45 days (25 °C)
GV	73.45 ± 0.11	61.84 ± 0.08	59.31 ± 0.12
RF	66.38 ± 0.18	49.98 ± 0.03	44.51 ± 0.21
YF	71.72 ± 0.23	58.32 ± 0.12	50.44 ± 0.09

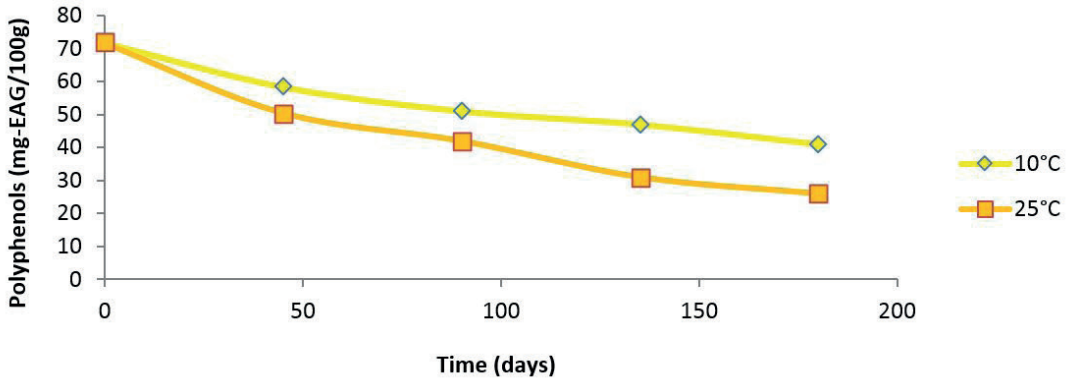
By comparison, initial anthocyanin contents present in the drink are slightly lower (40 to 63%) than those present in *in natura* fruits. Such issue may be transposed by the fragility of these compounds to exposure at high temperatures; therefore, a thermal processing applied to the product can be liable for the reduction in total anthocyanin values in relation to *in natura* fruits. The thermal treatment applied to these products was 100 °C/30sec, which has also affected the anthocyanin content.

Figure 4 refers to quantification data of total anthocyanins applied to RF smoothie at a 180 -day observation period. Anthocyanin degradation was 56% soon in the first 45 days the samples were exposed to non-refrigerated storage conditions.

Rodríguez-Verástegui et al. (2016) have reported a reduction of 56% in antioxidant activity of vegetable smoothies composed of tomato, red pepper, broccoli and carrot when stored at 20 °C after 40 days.

Refrigerated conditions have provided anthocyanin retention in the same period of time up to 95% superior to that stored at room temperature. When stored at room temperature and protected from light after 180 days, the sample shows an anthocyanin quantity relative to less than 1% of the amount present in the original sample.

Figure 3. Total polyphenol concentration versus storage time and temperature for the YF sample.



In the anthocyanin content stability study of traditional and light blackberry jams stored at 10 and 25 °C (Moura et al., 2012), reductions in anthocyanin content were observed in both kinds of jam, with lower contents found in traditional jam stored at 10 °C (reduction of 36%) and higher ones in light jam stored at 25 °C (reduction of 82.6%).

Instrumental color

Table 5 shows the values found in instrumental color measurement of the samples at the time point 0 and having the 45-day storage time.

The instrumental color evaluation has shown there was little change in color parameters ($\Delta E < 5.1$) evaluated after 45 days of storage, and such change was more significant at the highest temperature. It should also be emphasized that the highest color changes, mainly in H* parameter, were found in YF.

Once the entire period of instrumental color evaluation has elapsed (180 days), significant differences in color were found in all samples stored at room temperature from the 60th day of observation, and the first changes among the refrigerated ones were noted on 180 days.

Figure 4. Total anthocyanin quantity versus storage time and temperature for the RF sample.

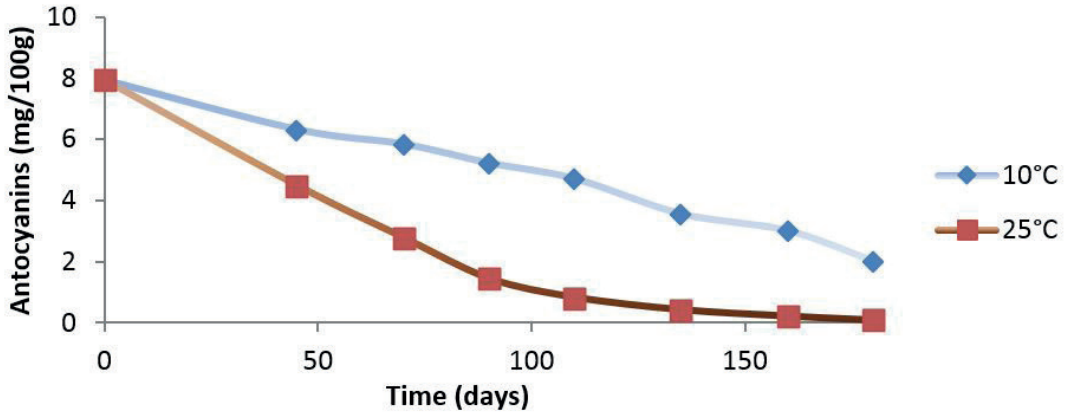


Table 5. Result of instrumental color evaluation of smoothies in time zero and time 45 days.

Sample	L*	a*	b*	H*	C*	ΔE
GV (0 days)	36.50 ± 0.31	-4.35 ± 0.08	9.26 ± 0.09	-2.13	10.23	
GV (45 days-25 °C)	34.82 ± 0.22	-3.11 ± 0.06	9.10 ± 0.24	-2.93	9.62	2.09
GV (45 days-10 °C)	36.36 ± 0.13	-4.12 ± 0.09	9.22 ± 0.06	-2.24	10.10	0.27
RF (0 days)	30.45 ± 0.29	9.51 ± 0.03	6.21 ± 0.07	0.65	11.36	
RF (45 days-25 °C)	29.73 ± 0.11	7.06 ± 0.09	6.01 ± 0.06	0.85	9.27	2.56
RF (45 days-10 °C)	31.81 ± 0.01	10.32 ± 0.11	6.92 ± 0.15	0.67	12.43	1.73
YF (0 days)	40.72 ± 0.23	0.97 ± 0.12	6.15 ± 0.11	4.07	16.63	
YF (45 days-25 °C)	38.76 ± 0.08	0.39 ± 0.12	13.12 ± 0.25	33.64	13.13	5.08
YF (45 days-10 °C)	39.87 ± 0.06	0.74 ± 0.24	15.94 ± 0.08	21.54	15.96	3.35

Table 6. Sensory results of color atribute and characteristic taste of smoothies and statistical analysis of variance and Tukey's means.

Color					
Sample	**0 days**	**49 days**	**91 days**	**130 days**	**180 days**
RF 10 °C	7.6 ± 2.4 Aa	8.0 ± 1.5 Aa	7.4 ± 1.9 Aa	7.7 ± 2.6 Aa	7.7 ± 2.7 A
RF 25 °C	7.6 ± 2.4 Aa	8.0 ± 1.9 Aa	9.6 ± 1.2 Bb	10.8 ± 1.7 Cc	-
YF 10 °C	7.4 ± 1.7 Aa	6.9 ± 1.3 Aa	7.4 ± 1.4 Aa	7.1 ± 2.1 Aa	7.2 ± 2.2 A
YF 25 °C	7.4 ± 1.7 Aa	7.1 ± 2.1 Aa	8.2 ± 2.3 Bb	8.8 ± 2.1 Bb	-
GV 10 °C	7.1 ± 1.6 Aa	7.2 ± 1.2 Aa	6.8 ± 1.5 Aa	6.9 ± 1.5 Aa	7.0 ± 1.6 A
GV 25 °C	7.1 ± 1.6 Aa	6.8 ± 2.2 Aa	7.8 ± 2.9 Bb	7.9 ± 2.4 Bb	-
Taste					
Sample	**0 days**	**49 days**	**91 days**	**130 days**	**180 days**
RF 10 °C	8.4 ± 2.5 Aa	8.1 ± 1.9 Aa	7.9 ± 1.9 Aa	7.4 ± 2.6 Ba	7.5 ± 2.7 B
RF 25 °C	8.4 ± 2.5 Aa	9.3 ± 2.5 Bb	5.8 ± 2.6 Cc	4.6 ± 2.3 Dd	-
YF 10 °C	7.7 ± 2.9 Aa	7.6 ± 2.4 Aa	7.1 ± 2.3 Aa	7.1 ± 1.2 Aa	7.2 ± 1.3 A
YF 25 °C	7.7 ± 2.9 Aa	7.9 ± 2.2 Aa	6.7 ± 2.7 Ba	6.9 ± 2.5 Ba	-
GV 10 °C	6.6 ± 3.9 Aa	6.8 ± 2.4 Aa	7.0 ± 1.2 Aa	7.0 ± 3.3 Aa	6.9 ± 3.2 A
GV 25 °C	6.6 ± 3.9 Aa	7.7 ± 2.6 Bb	6.4 ± 1.6 Aa	5.6 ± 2.7 Cc	-

Values expressed as mean ± standard deviation. Tukey's Test conducted at a minimum significant difference at an error level of 5%. On each column, means followed by equal capital letters are not significantly different among each other at a 5% level for time, and means followed by equal lower-case letters are not significantly different among each other at a 5% level for temperature.

Different physicochemical parameters were evaluated in commercial smoothies having fruits or vegetables (Nunes et al., 2016). The authors have concluded that very little changes in color (L*, chroma and hue) are observed on 21 days of storage at 4°C, in a glass door refrigerator.

The color of the studied samples is inherent to the raw material used in their production. Natural pigments are highly susceptible to degradation and chemical transformation, with elevated reaction kinetics when exposed to light and temperature (Wallace, 2010). The glass bottle used for packaging the smoothies is coated of a plastic film, in an attempt to protect the product from light.

Sensory evaluation

With respect to sensory monitoring of the samples, it was important to highlight the attribute of change in characteristic color noted throughout the observation period, as well as the change in characteristic taste.

Table 6 shows the results of sensory color and characteristic taste of smoothie samples stored at both temperatures, in which higher values refer to a darkening of the samples and the occurrence of strange or non-characteristic tastes of the drink.

It was observed the samples kept at a temperature of 25°C start to show significant differences ($p > 0.05$) in color from 91 days of observation, while those stored under refrigeration do not show such differences in the observation window studied (130 days).

Taste deterioration and the occurrence of a strange taste could be substantially observed from 49 days, being extremely pronounced in RF samples. All samples stored at 25°C were rejected in the 180-day observation time point, precluding the conduction of sensory analyses at such time.

CONCLUSIONS

The results of physicochemical and thermophysical properties have shown good similarity to pulp and juice data found in the literature, since the solids contents are very similar.

The samples analyzed were classified as pseudoplastic as per the Power Law model and making an appropriate adjustment to the Arrhenius equation.

During the period observed, a small instrumental change in color of the samples and a significant reduction of total polyphenol and anthocyanin contents were noted.

The temperature had a great influence on stability and degradation kinetics of bioactive compounds, and had an impact in sensory characteristic changes of the products.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank CNPq Institution for granting a fellowship in Scientific Initiation Program.

REFERÊNCIAS

1. Amr, A., & Al-Tamimi, E. (2007). Stability of the crude extracts of *Ranunnculus asiaticus* anthocyanins and their use as food colorants. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(8), 985-991. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01334.x.

2. Association of Official Analytical Chemists – AOAC. (2006). *Official methods of analysis* (20th ed.). Arlington: AOAC.

3. Barbosa-Cánovas, G. V., Ibarz, A., & Peleg, M. (1993). Propiedades reológicas de alimentos fluidos. *Alimentaria*, 4, 39-59.

4. Bender, F. E., Douglas, L. W., & Kramer, A. (1982). Factorial experiments. In F. E. Bender, L. W. Douglas & A. Kramer. *Statistical methods for food agriculture* (chap. 9, 345 p.) Westport: Avi Publishing Company.

5. Bennet, C. O., & Myers, J. E. (2009). Fenômenos de transporte, quantidade de calor e massa. In Z. Berk. *Food process engineering and technology* (603 p.) Amsterdam: Academic Press.

6. Delgado-Vargas, F., & Paredes-López, O. (2002). *Natural colorants for food and nutraceutical uses* (328 p.). Coimbra: CRC Press. http:// dx.doi.org/10.1201/9781420031713.

7. Diamante, L., & Umemoto, M. (2015). Rheological properties of fruits and vegetables: a review. *International Journal of Food Properties*, 18(6), 1191-1210. http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2014.898653.

8. Faller, A. L. K., & Fialho, E. (2009). Polyphenol availability in fruits and vegetables consumed in Brazil. *Revista de Saúde Pública*, 43(2), 211-218. PMid:19225692. http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102009005000010.

9. Instituto Adolfo Lutz – IAL. (1985). *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos* (Vol. 1, 3rd ed., 195 p.). São Paulo: IAL.

10. Keenan, D. F., Brunton, N. P., Gormley, T. R., Butler, F., Tiwari, B. K., & Patras, A. (2012). Effect of thermal and high hydrostatic pressure processing on antioxidant activity and colour of fruit smoothies. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(4), 551-556. http:// dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2010.07.003.

11. Kiralp, S., & Toppare, L. (2006). Polyphenol content in selected turkish wines, an alternative method of detection of phenolics. *Process Biochemistry*, 41(1), 236-239. http://dx.doi.org/10.1016/j. procbio.2005.06.011.

12. Nunes, M. A. M. (2012). *Determinação da capacidade antioxidante e parâmetros físico-químicos em smoothies: estabilidade ao longo do tempo de armazenamento* (Master's thesis). Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Porto.

13. Moura, S. C. S. R., & Germer, S. P. M. (2010). *Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados* (Manual Técnico, Vol. 6, 4rd ed., 96 p.). Campinas: ITAL.

14. Moura, S. C. S. R., Tavares, P. E. R., Germer, S. P. M., Nisida, A. L. A. C., Alves, A. B., & Kanaan, A. S. (2012). Degradation kinetics of anthocyanin of traditional and low-sugar blackberry jam. *Food Bioprocess Technology*, 5(6), 2488-2496. http://dx.doi.org/10.1007/ s11947-011-0578-7.

15. Moura, S. C. S. R., Vissotto, F. Z., Almeida, M. E. M., & Fefim, D. A. (2008). Comportamento reológico de soluções modelo de geleias e doces em massa *light. Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, 2(2), 165-174.

16. Mulvaney, S. J., Rizvi, S. S. H., & Sharma, S. K. (2000). *Food process engineering* (pp. 20-186). New York: John Wiley & Sons.

17. Nunes, M. A., Costa, A. S. G., Barreira, J. C. N., Vinha, A. F., Alves, R. C., Rocha, A., & Oliveira, M. B. P. P. (2016). How functional foods endure throughout the shelf storage? Effects of packing materials and formulation on the quality parameters and bioactivity of smoothies. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 70-78. http:// dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.061.

18. Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., Elez-Martínez, P., & Martín-Belloso, O. (2012). Stability of health-related compounds in plant foods through the application of non thermal processes. *Trends in Food Science & Technology*, 23(2), 111-123. http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2011.10.004.

19. Peacock, S. (1995). Predicting physical properties of factory juices and syrups. *International Sugar Journal*, 97(1162), 571-577.

20. Pereira, C. G., Resende, J. V., & Giarola, T. M. O. (2014). Relationship between the thermal conductivity and rheological behavior of acerola pulp: effect of concentration and temperature. *LWT - Food Science and Technology*, 58(2), 446-453. http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.016. </jrn>.

21. Rahman, S. (2009). *Food properties handbook* (2nd ed., pp. 861). Boca Raton: CRC Press. http://dx.doi.org/10.1201/9781420003093.

22. Rao, M. A., & Rizvi, A. A. H. (1995). *Engineering properties of foods* (2nd ed., pp. 531). New York: Academic Press.

23. Rodríguez-Verástegui, L. L., Martínez-Hernández, G. B., Castillejo, N., Gómez, P. A., Artés, F., & Artés-Hernández, F. (2016). Bioactive compounds and enzymatic activity of red vegetable smoothies during storage. *Food Bioprocess Technology*, 9(1), 137-146. http:// dx.doi.org/10.1007/s11947-015-1609-6.

24. São Paulo, Governo do Estado. (2010). *Brasil Food Trends 2020* (173 p.). São Paulo: FIESP/ITAL.

25. Singh, R. P. (2014). Scientific principles of shelf life evaluation. In C. M. D. Man & A. A. Jones (Eds.), *Shelf life evaluation of foods* (1st ed., pp. 3-24). London.

26. Souza, D. (2008). *Estudo das propriedades físicas de polpas e néctares de pequenos frutos* (Master's thesis). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

27. Teixeira, L. N., Stringheta, P. C., & Oliveira, F. A. (2008). Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. *Ceres*, 55(4), 297-304.

28. Wallace, T. C. (2010). *Analysis of procyanidins and anthocyanins in food products using chromatographic and spectroscopic techniques* (Master's thesis). Graduate Program in Food Science and Technology, The Ohio State University, Ohio.

29. Williams, S. (1990). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (14th ed., pp. 1141). Arlington: AOAC.

30. Zainal, B. S., Rahmana, R. A., Ariffa, A. B., Saaria, B. N., & Asbib, B. A. (2000). Effects of temperature on the physical properties of pink guava juice at two different concentrations. *Journal of Food Engineering*, 43(1), 55-59. http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774(99)00132-6.

32

Superfície de aço inoxidável funcionalizada com prata por pulverização catódica

- Fernanda Toloi **Torqueti**
  UFTM
- Gabriela Lino **Freitas**
  UFTM
- Deusmaque Carneiro **Ferreira**
  UFTM
- Rogério Valentim **Gelamo**
  UFTM
- Letícia Dias dos Anjos **Gonçalves**
  UFTM
- Lucas Donizete **Silva**
  UFU
- Vitor Tomaz Guimarães **Naves**
  UFTM
- Emiliane Andrade Araújo **Naves**
  UFTM

doi 10.37885/201102177

RESUMO

Superfícies antiaderentes, com aquelas depositadas com nano camadas de prata, tem sido aplicada para prevenir a formação de biofilmes bacterianos em diferentes superfícies. Nesse contexto, o estudo objetivou funcionalizar a superfície de aço inoxidável com prata e avaliar a capacidade antimicrobiana dessa superfície sobre bactérias patogênicas. Para tanto, substratos de aço inoxidável AISI 304 foram utilizados com e sem a presença de filmes finos de prata e expostos à presença de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os materiais foram também analisados com auxílio do goniômetro para investigar a energia de superfícies, por Microscopia de Força Atômica (AFM) para caracterizar as superfícies quanto à sua morfologia e por Voltametria cíclica para comprovação da presença de prata. Os resultados de adesão bacteriana mostraram que houve menor número de células aderidas de *S. aureus* na superfície de aço inoxidável funcionalizada quando comparado à *E. coli*. O uso de AFM permitiu a medida da espessura do filme de prata depositado que foi de 31 nm. As superfícies de aço inoxidável, tanto controle como as funcionalizadas com a prata, foram consideradas hidrofóbicas. No entanto, é possível afirmar que o tratamento das superfícies de aço com prata contribuiu para o aumento da hidrofobicidade das superfícies. Com o auxílio da voltametria cíclica, observou-se que houve modificação na superfície do cupom de aço inox após o procedimento de pulverização catódica com prata, comprovando que a prata ficou depositada sobre a superfície do cupom de aço inox após o procedimento de pulverização catódica.

Palavras-chave: Adesão, Prata, Sputtering, Voltametria Cíclica.

INTRODUÇÃO

A segurança alimentar está relacionada com a capacidade de promover de modo eficaz a produção e a importação de produtos seguros e de alta qualidade. O controle de cada país sobre a mesma é um dos principais componentes decisivos para a segurança econômica, visto que a ocorrência de doenças provocadas por alimentos contaminados pode proporcionar um impacto econômico significante (Chorna, Yanushkevych, &Afanasieva, 2018).

A indústria de alimentos deve atuar sempre de forma preventiva para atenuar o risco de adesão microbiana nas superfícies processadoras de alimentos e reduzir a formação de biofilmes, já que esses podem contaminar os alimentos pós-processo e conduzir à ocorrência de surtos de origem alimentar (Júnior et al., 2018). Além disso, a formação de biofilmes para a indústria de alimentos, pode causar vários problemas como, prejuízo do processo de cloração da água, diminuição da transferência de energia na forma de calor em trocadores de calor, redução do fluxo em tubulações e aumento do risco de corrosão dos equipamentos (Li et al., 2019).

Para se evitar esses problemas, a etapa de sanitização é de fundamental importância e visa eliminar os micro-organismos patogênicos e reduzir os alteradores a níveis considerados seguros (Andrade, 2008). A sanitização mais empregada na indústria de alimentos é a adição dos compostos clorados inorgânicos. No entanto, essa cloração pode possibilitar a hipercloração da água residual que, associada ao alto conteúdo de carbono orgânico, pode resultar em concentrações elevadas de trihalometanos e outros subprodutos da sanitização, os quais são prejudiciais ao organismo humano (Tsagkari & Sloan, 2019; Hernández-Pimentel et al., 2020).

Além dos efeitos ao organismo humano, a formação desses compostos clorados tem sido alvo também de preocupação ambiental, visto que podem proporcionar um desequilíbrio dos ecossistemas, alterar a oxigenação da água e poluir rios, lagos e mares. Portanto, torna-se evidente a necessidade de utilização de novos agentes antimicrobianos para redução da carga microbiana de superfícies de processamento de alimentos (Floriano, 2017). Assim fica evidente a necessidade de pesquisar alternativas eficientes do ponto de vista tecnológico e econômico para redução da adesão microbiana, sem causar efeitos deletérios à saúde humana e ao meio ambiente (Ölmez & Kretzschmar, 2009).

Nessa perspectiva, materiais com novas propriedades têm sido criado e aplicado em diversos campos, como o uso da prata na medicina para reduzir infecções, bem como prevenir a formação de biofilmes bacterianos em superfícies de próteses, cateteres, materiais odontológicos e na indústria de alimentos em superfícies de processamento (Wei et al., 2015; Abeleda et al., 2020, Takamiya et al., 2021). Essas superfícies funcionalizadas por compostos policatiônicos, como os íons de prata, são capazes de penetrar na parede celular bacteriana e ter um efeito antimicrobiano (Shrestha & Kishen, 2016; Baptista et al., 2018).

O motivo fundamental da maioria das aplicações de coberturas antimicrobianas é a promessa de materiais com funcionalidades melhoradas e uma possível redução do uso de substâncias químicas cloradas que são prejudiciais à saúde humana e a qualidade ambiental (Chaudhryet al., 2010). Esse motivo torna-se de grande importância na área de alimentos, uma vez que uma superfície funcionalizada com antimicrobiano a base de prata pode reduzir o uso de sanitizantes químicos na segunda etapa do processo de higienização.

OBJETIVO

Funcionalizar a superfície de aço inoxidável com prata por *sputtering* e avaliar a capacidade antimicrobiana dessa superfície sobre bactérias patogênicas. Para tanto, substratos de aço inoxidável AISI 304 foram utilizados com e sem a presença de filmes finos de prata e expostos à presença de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os materiais foram também analisados com auxílio do goniômetro para investigar a energia de superfícies, por Microscopia de Força Atômica para caracterizar as superfícies quanto à sua morfologia e por Voltametria cíclica para comprovação da presença de prata.

MÉTODOS

As superfícies utilizadas para a adesão das células bacterianas foram cupons de aço inoxidável austenítico AISI 304 com dimensões de 10 x 10 x 1 mm. Os cupons foram doados pela empresa APERAM Ltda.

Preparo dos cupons de aço inoxidável

Inicialmente, as superfícies de aço inoxidável AISI 304 foram higienizadas por imersão em detergente neutro durante 1 h, enxaguadas com água destilada esterilizada, secas e limpas com álcool 70 % (v/v). Após a higienização, os cupons foram novamente lavados com água destilada esterilizada, secos por 2 h a 60 ºC e autoclavados a 121 ºC por 15 minutos.

Funcionalização das superfícies de aço inoxidável com prata

Os filmes de prata foram depositados sobre os cupons de aço inoxidável pela técnica de *sputteting* (Machuno et al., 2016). A fim de obter filmes de alta qualidade, prata (Ag) padrão de 2 polegadas de diâmetro e 99,9% de pureza adquirido de Kurt Lesker foi usada em uma câmara a 0,006 mTorr de pressão residual. A deposição foi realizada em Argônio (99,99%) a 5,0 mTorr durante 2 minutos e resultou em filmes com excelente aspecto visual.

Medida da espessura do filme de prata depositado sobre os cupons de aço inoxidável

A microscopia de força atômica foi utilizada para medir a espessura do filme de prata depositado sobre os cupons de aço inoxidável. O equipamento utilizado foi Microscópio Shimadzu SPM 9700, as medidas foram realizadas no modo dinâmico através de *cantilever* de silício (Si) fornecido pela empresa NT-MDT. As imagens foram tratadas de modo a se obter as espessuras e rugosidades das superfícies com o software Gwyddion.

Efeito antimicrobiano das superfícies funcionalizadas com prata

Estirpes de *Escherichia coli* (ATCC 11229) e de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), foram ativadas, duas vezes em caldo BHI e incubados de 18-24 h em estufa a 36 ± 1° C. A seguir, os cupons funcionalizados com prata e controle (sem revestimento), previamente higienizados, foram adicionados em tubos *falcon* contendo caldo BHI. Em cada tubo foi acrescentado 1 mL da cultura bacteriana de *E. coli* e de *S.aureus*. Os tubos foram incubados sob agitação de 120 rpm, a 37 ºC para *S. aureus* e para *E.coli* por 72 h, sendo que a cada 24 h o meio era trocado. Em seguida, os cupons foram removidos e lavados com tampão fosfato salino (PBS pH 7,4, 0,1 M) esterilizado, removendo-se assim as células não aderidas (Marques, 2005). Na sequência, os cupons foram imersos no tampão fosfato salino com a finalidade de remover as células sésseis por meio de agitação em *vortex* (Velp Scientifica) durante 1 min. Diluições foram preparadas a partir deste último tampão e alíquotas foram plaqueadas em ágar padrão para contagem (PCA), determinando-se o número de unidades formadoras de colônias por centímetro quadrado (UFC.cm^{-2}) aplicando a equação 1 . Todo o procedimento foi realizado em duplicata, sendo três repetições.

$$\text{Contagem}\left(\text{UFC}/\text{cm}^2\right) = \frac{C \cdot V_R}{V_A \cdot A} \quad (1)$$

Em que: *C*: média do número de unidades formadoras de colônias (UFC); *VR*: Volume usado na *rinsagem* (mL); *VA*: Volume usado no plaqueamento (mL); *A*: área do cupom (cm²).

Voltametria cíclica

Para a análise dos efeitos da deposição de prata nas superfícies de aço inoxidável (eletrodo de trabalho) foi empregada a voltametria cíclica, utilizando como eletrólito suporte a solução aquosa de KOH 0,1 molL^{-1}, eletrodo de referência foi o Ag/AgCl em KCl 3 molL^{-1} e o contra eletrodo foi o de platina, área geométrica de 2 cm^2.O potenciostato utilizado na aplicação das técnicas voltamétricas foi o CH Instruments modelo 760C, Metrohm Autolab, Nova 2.0.

Detecção de resíduos de prata em leite integral e leite desnatado

Com o objetivo de observar a lixiviação da prata para o alimento, utilizaram-se amostras de leite integral UHT e leite desnatado UHT em contato com cupons de aço inoxidável funcionalizados com prata. A imersão dos cupons com o leite ocorreu durante 48 horas de acordo com a metodologia adaptada Brasil (1998). Após o contato, a quantificação dos íons prata (Ag^{+}) nas amostras de leite foi realizada pelo método da voltametria de redissolução anódica (Riley&Watson, 1987).

Simulação de limpeza CIP

A simulação da limpeza CIP foi realizada para observar a estabilidade da prata na superfície funcionalizada, após o contato com os detergentes de limpeza. Desta forma, o experimento foi conduzindo simulando 06 meses de limpeza CIP com uso de hidróxido de sódio 1,5 % (m,v)(Vetec Química Fina Ltda), à 80 ° C e ácido nítrico (SIGMA-ALDRICH) a 0,5 % (v,v) à 70 °C (Andrade, 2008). Para perfazer o tempo de 06 meses, cupons higienizados foram colocados em imersão no hidróxido de sódio (NaOH) por 42 horas e imersos em ácido nítrico (HNO_3) por 6 horas. Após a exposição, os cupons foram enxaguados com água destilada por 5 minutos e conduzidos para análise por voltametria cíclica (item 2,5). A estabilidade da prata na superfície do aço inoxidável foi avaliada a partir da sobreposição dos voltamogramas cíclicos dos cupons funcionalizados e não funcionalizados antes e após a simulação da limpeza CIP.

Medida da hidrofobicidade do cupom

Os ângulos de contato das amostras de cupom de aço inoxidável controle e funcionalizados foram medidos por meio da gota séssil com auxílio do equipamento goniômetro. Três líquidos com polaridades diferentes foram usados (água destilada, formamida (PA) e α-bromonaphthaleno (PA) para o cálculo da energia da superfície.

Determinação da energia livre de interação e da variação da energia livre de adesão

Para o cálculo da variação da energia de interação hidrofóbica, aplicou-se a teoria dos componentes de tensão interfacial (VAN OSS, 1994). Após as aproximações das equações envolvidas na teoria, a energia da superfície (ys), seja ela da bactéria ou das superfícies de processamento de alimentos, resultou da combinação de três contribuições (equação 2):

$$\gamma_s = \gamma_s^{LW} + \left(\gamma_s^{+}\gamma_s^{-}\right)^{1/2} \quad (2)$$

Em que γ^{LW} representa o componente da interação de Lifshit-van der Waals, γ^{+} refere-se ao componente da interação de ácido de Lewis e γ^{-} é o componente da interação da base de Lewis. Aplicando uma gota de um liquido no equilíbrio com a superfície, os componentes, γ_s^{LW}, γ_s^{+} e γ_s^{-} foram calculados (Equação 3) usando as medidas do ângulo de contato.

$$\gamma_1^{ToT}(1+\cos\theta) = 2\sqrt{\gamma s^{LW}\gamma_1^{LW}} + 2\sqrt{\gamma_s^{-}\gamma_1^{+}} + 2\sqrt{\gamma_s^{+}\gamma_1^{-}} \quad (3)$$

Em que γ_1^{ToT} é a tensão superficial do liquido usado na medida, θ é o ângulo de contato medido e S e l indicam superfície e líquido, respectivamente. Para determinar esses componentes da energia livre da superfície: γ_s^{LW} e os parâmetros γ_s^{+} e γ_s^{-} de uma superfície, foi medido o ângulo de contato de pelo menos três líquidos com conhecidos componentes de tensão interfacial (γ_s^{LW}, γ_s^{+} e γ_s^{-}).

A energia livre de adesão ($\Delta G_{adhesion}$) foi calculada com base nas medidas do ângulo de contato e nos valores dos componentes das tensões interfaciais obtendo os valores para ΔG_{bls}^{LW} e ΔG_{bls}^{AB}.

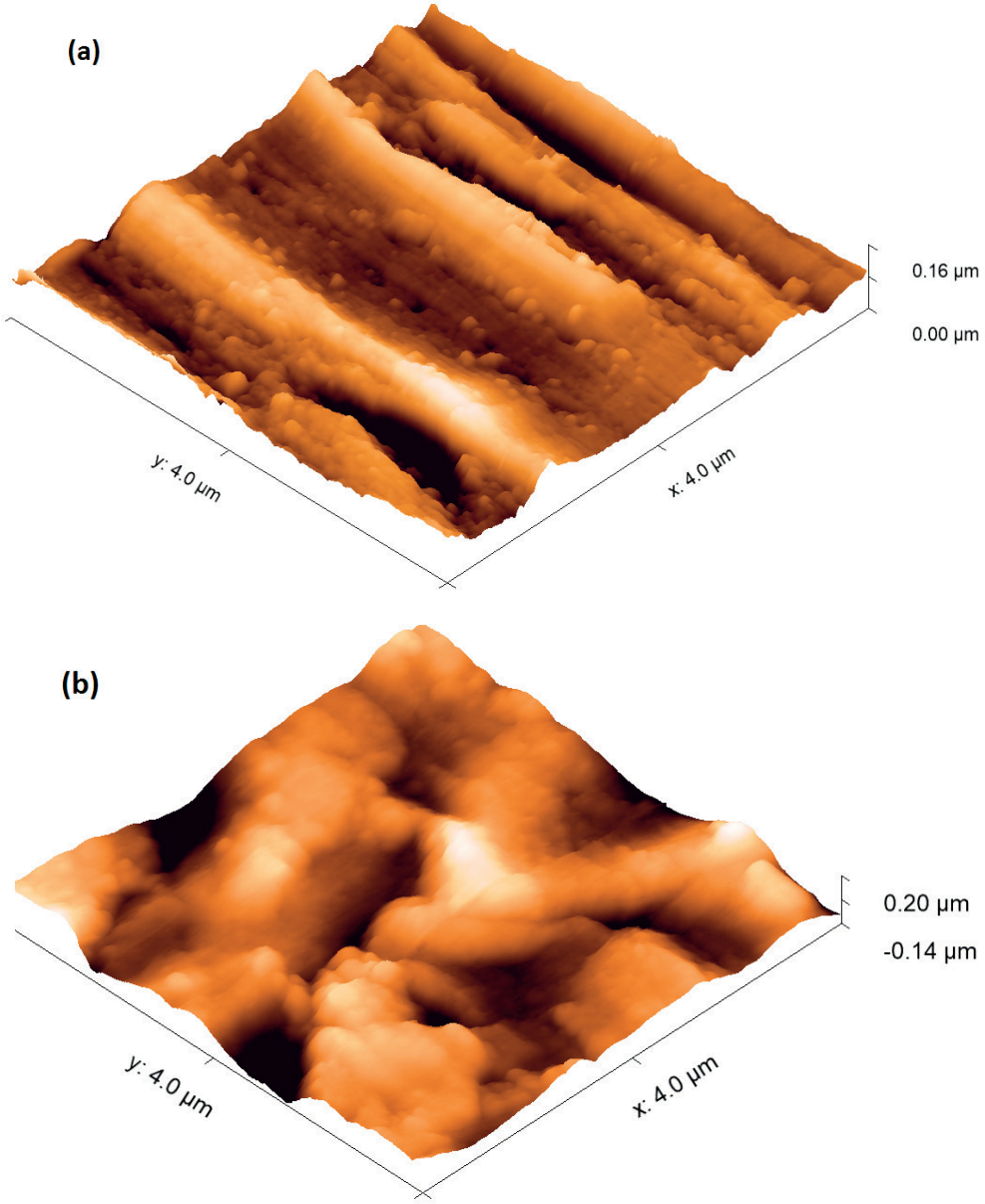
Delineamento experimental

O delineamento para o experimento foi inteiramente casualizado. A contagem das bactérias nos cupons foi expressa como Log de UFC. cm^{-2}. Os dados foram analisados por meio da Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram comparadas usando teste Tukey a 5% de probabilidade. O experimento foi realizado em três repetições. As análises foram feitas com auxílio do *software* estatístico STATISTICA,versão 8.0.

RESULTADOS

As morfologias representativas das superfícies do aço controle (sem filme) e do aço recoberto com filme de prata são mostradas na Figura 1. Uma análise criteriosa envolveu a estimativa de rugosidade média em medidas feitas por AFM em diversos pontos da superfície das amostras e resultou nos valores de 6.6 ± 2,56 nm e 12.8 ± 5,7 nm para as amostras controle e recobertas com filme de prata, respectivamente, indicando que o depósito de prata contribui para uma superfície mais rugosa. O uso de AFM permitiu ainda a medida da espessura do filme de prata que neste caso foi de 31 nm.

Figura 1. Imagem topográfica obtida por AFM para o substrato de Aço inox controle (a) e para aço recoberto com filme de prata (b).



A Tabela 1 apresenta os resultados de adesão bacteriana em cupons de aço inoxidável funcionalizados com prata.

Tabela 1. Média do Log do número de células aderidas (UFC.cm^2) de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em superfícies funcionalizadas com prata.

Tratamentos	Cupom Controle	Cupom Prata	Redução Decimal
Adesão de *E. coli*	6,99^a	6,06^a	0,93
Adesão de *S. aureus*	7,41^a	5,93^b	1,77

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Já a Tabela 2 apresenta os resultados da variação da energia livre da interação hidrofóbica (ΔG_{sas}^{TOT}) obtida por meio dos valores dos ângulos de contato.

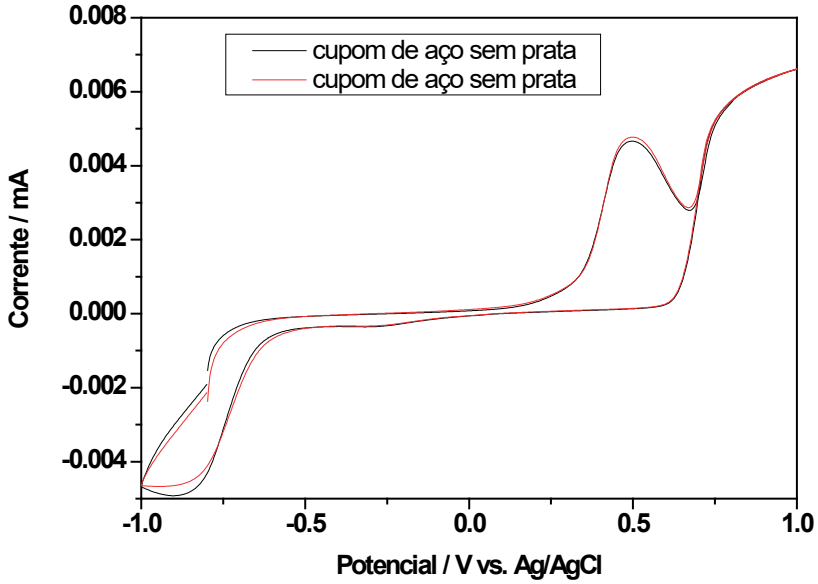
Tabela 2. Valores dos componentes apolares (ΔG_{sas}^{LW}) e polares (ΔG_{sas}^{AB}) da energia livre total de interação das superfícies funcionalizadas de aço inoxidável

Superfícies	ΔG_{sas}^{LW} (mJ/m²)	ΔG_{sas}^{AB} (mJ/m²)	ΔG_{sas}^{TOT} (mJ/m²)
Aço inoxidável/ controle	-2,34098	-18,549	-20,889[a]
Aço inoxidável/ prata	-12,713	-36,5716	-49,284[b]

Médias seguidas por letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

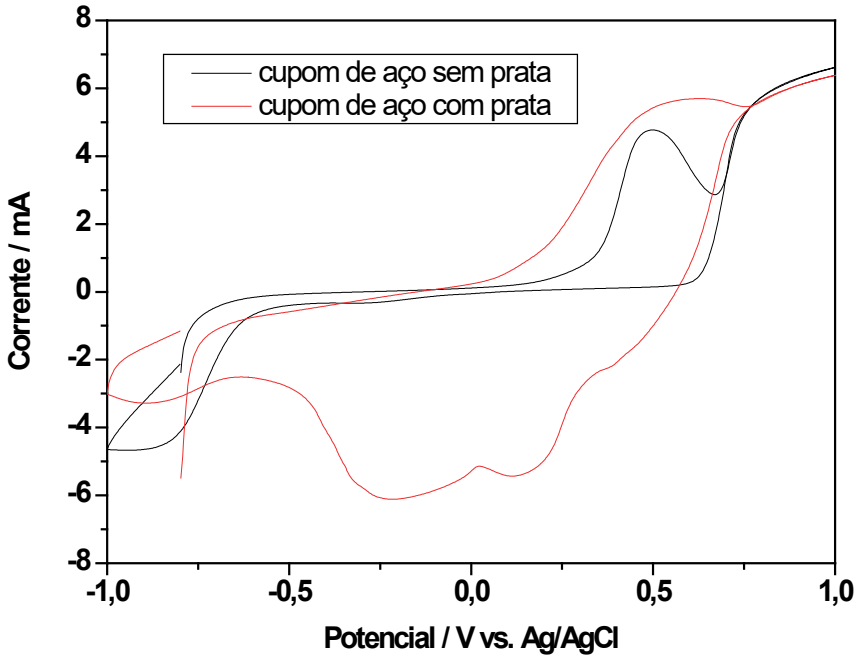
Quanto ao estudo de voltametria cíclica, sabe-se que os cupons de aço inox devem apresentar respostas eletroquímicas semelhantes para serem utilizados nos experimentos de deposição de prata por pulverização catódica. A Figura 2 mostra o perfil eletroquímico de dois cupons de aço em solução aquosa de KOH 0,1 mol.L^{-1}.

Figura 2. Voltametria cíclica do aço inox em solução aquosa de KOH 0,1 mol L^{-1}.Número de ciclo = 1; v= 50 mV s^{-1}, janela de potencial -1 a + 1V.



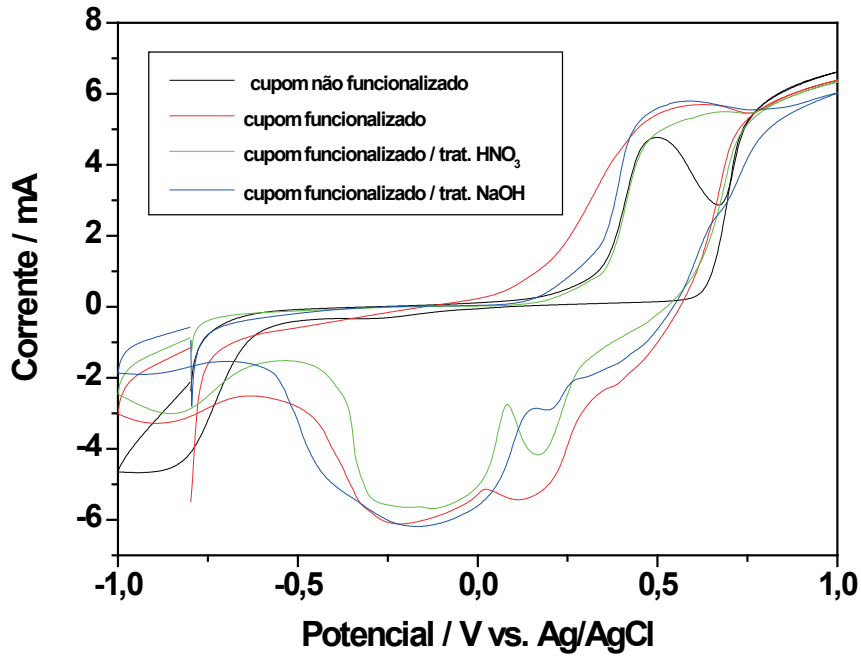
A Figura 3 mostra a região de atividade eletroquímica do cupom de aço funcionalizado com prata comparado com o cupom de aço não funcionalizado com prata em solução de KOH 0,1 mol.L^{-1}.

Figura 3. Voltametria cíclica dos cupons de aço inox não funcionalizados com prata (-) e funcionalizados com prata (-), em solução aquosa de KOH 0,1 mol L^{-1}.Número de ciclo = 1; v= 50 mV s^{-1}, janela de potencial -1 a + 1V.



A Figura 4 mostra a sobreposição dos voltamogramas cíclicos dos cupons de aço inox não funcionalizados, funcionalizados antes e após o tratamento com ácido nítrico e hidróxido de sódio (simulação de limpeza CIP).

Figura 4. Voltamogramas cíclicos do 1° ciclo de varredura obtidos em solução eletrolítica de KOH 0,1 mol L^{-1}; v= 50 mV s^{-1}, janela de potencial -1 a + 1V para os cupons de aço inox não funcionalizado **(-)**, funcionalizados com prata (-), após tratamento com HNO_3 (-) e NaOH (-).



DISCUSSÃO

A fotomicrografia obtida por meio da microscopia de força atômica da amostra controle, permite observar a presença de alguns precipitados que foram originados no processo de obtenção da liga de aço (Figura 1a). Alguns riscos são também observados e podem ter sua origem no processo de limpeza mecânica ou mesmo no processo de laminação da liga de aço. Já a amostra recoberta com filme de prata (Figura 1b) apresentou uma ligeira mudança na superfície com a presença de aglomerados sobre a superfície que são devido ao processo de nucleação na fase de vapor, efeito comum no processo de deposição por *sputtering* (Machuno et al, 2016).

Os resultados de adesão bacteriana em cupons de aço inoxidável funcionalizados com prata apresentados na Tabela 1 mostraram que houve menor número de células aderidas de *S. aureus* na superfície de aço inoxidável quando comparado à *E. coli*. Outros trabalhos relatam resultado diferente do observado nesse estudo, sendo as bactérias Gram-negativas mais susceptíveis à ação da prata e as Gram-positivas menos susceptíveis, sugerindo um efeito protetor promovido pela camada mais espessa de peptideoglicano nas Gram-positivas (Zilio et al., 2020; Ji et al., 2020).

Alguns mecanismos de ação de íons Ag^+ sobre micro-organismos têm sido propostos, como a possibilidade de ligação extracelular ou precipitação do referido íon na parede e membrana celular (Franci et al., 2015). O íon Ag^+ poderá interagir com proteínas celulares, incluindo enzimas, levando à inativação das proteínas, provocando a letalidade das células (Gomaa 2017). Outra ação proposta refere-se à interação do íon Ag^+ com o ácido desoxirribonucléico (DNA) por meio de deslocamento das ligações de hidrogênio entre as bases purínicas e pirimidínicas impedindo sua replicação. Por último é também aceito que o íon Ag^+ se liga a grupos doadores de elétrons, como aminas, hidroxilas e fosfatos que contêm nitrogênio, oxigênio e enxofre (Deng et al., 2015). Dentre os mecanismos, foram relatados como os principais, os danos diretos na membrana celular e a geração de espécies reativas de oxigênio pelos íons de prata (Ontong et al., 2020).

Assim, a espécie do micro-organismo em contato com a prata é de grande importância no mecanismo de reação envolvida. As bactérias são classificadas em Gram-positivas ou Gram-negativas em função da diferença na arquitetura da parede celular. Considerando as bactérias desse estudo, tem-se *E.coli* como Gram-negativa e *S. aureus*, como Gram-positiva. A parede celular de Gram-positiva consiste de uma camada espessa de peptideoglicano (~30 nm), enquanto a parede celular da Gram-negativa apresenta estrutura e composição da membrana mais complexa. Na Gram-negativa, a camada de peptideoglicano é mais fina (~10 nm) e a superfície externa da célula possui uma membrana consistindo de proteínas, lipopolissacarídeos e fosfolipídeos (Ubbink, e Schar-zammaretti, 2007; Beveridge,

1999). A superfície do peptideoglicano de bactéria Gram-positiva é coberta, principalmente, por polissacarídeos neutros e ácidos, grande número de diferentes proteínas e ácidos teicoicos (Jefferson, 2004).

Dessa forma, a interação do íon Ag^+, para a redução da carga microbiana, pode ter ocorrido com os grupos carboxil e fosforil, os quais conferem à superfície celular uma densidade de carga negativa. De acordo com Langley & Beveridge (1999) quando a superfície celular está em contato direto com o ambiente, os grupos carregados dentro da camada da superfície são capazes de interagir com os íons ou moléculas carregadas presentes no meio externo. Portanto, os cátions podem tornar-se atraídos eletrostaticamente e ligarem-se na superfície celular. Os locais responsáveis pela ligação com metais no micro-organismo são provavelmente nestes grupos carboxil dentro do peptideoglicano, assim como nos grupos fosforil de ácidos teicoicos e teicurônicos presentes nas superfícies bacterianas (Katsikogianni & Missirlis, 2004).

Trabalho semelhante na literatura foi realizado, mas com implantação de outros íons. Os autores Zhao *et al*. (2008) implantaram os íons N^+, O^+, SiF_3^+ na superfície do aço inoxidável. De acordo com os pesquisadores, os íons implantados tornam a superfície menos atrativa para a bactéria afetando o processo de adesão e isso é possível em razão da implantação do íon reduzir a energia livre da superfície. Neste estudo, a dose e a energia de implantação dos íons foram de 10^{16} íons/cm^2 e 30 KeV, respectivamente. Os autores também observaram que a superfície com a presença do íon SiF_3^+ apresentou a melhor redução da adesão bacteriana. Neste estudo, a adesão bacteriana reduziu com a diminuição da energia da superfície. As superfícies com íons implantados apresentaram melhores resultados que as superfícies controle, quanto à adesão. Os autores concluíram que a superfície de aço inoxidável com SiF_3^+ pode exercer importante função na redução de células aderidas.

Novello (2012) avaliou a capacidade de adesão de *Listeria monocytogenes* CECT 4031 T em superfícies de aço inoxidável austenítico AISI 304 implantadas com íons Ag^+ com energias de 70 e 200 keV. Os autores observaram que a energia de implantação influenciou a eficiência antimicrobiana, sendo que o melhor resultado para a superfície de aço AISI 304 foi com a implantação em que se aplicou 70 keV. Nessa superfície houve redução de mais de dois ciclos log enquanto que na superfície com energia de 200 keV, a adesão não diferiu da superfície controle.

A média da redução microbiana alcançada nesse estudo para as duas bactérias foi de 1,35 reduções logarítmicas; essa redução não caracteriza a superfície como sanitizante, ou seja, não se pode afirmar que a superfície funcionalizada é alternativa ao uso do cloro. Pode-se inferir que a funcionalização da superfície pode contribuir para menor adesão de células microbianas e consequentemente pode diminuir o risco de contaminação dos alimentos que

entrarem em contato com a superfície funcionalizada. Ademais, considerando a redução média de 1,35 ciclos logarítmicos, pode-se optar pelo uso de um sanitizante diferente dos clorados inorgânicos para complementar a eficiência da etapa de sanitização, obtendo-se um sinergismo positivo, reduzindo também a possibilidade de formação de trihalometanos.

Zilio et al., (2020) observaram a presença de prata nas superfícies de aço inoxidável AISI 304 a uma profundidade de até 5 nm da superfície e a concentração mais alta foi de aproximadamente 1,7 nm de profundidade quando a prata foi aplicada com energia de 2 keV. Novello (2012) observou a presença de prata nas superfícies de estudo (aço inoxidável AISI 304) a uma profundidade de 25 nm quando a prata foi aplicada com energia de 200 keV e de 15 nm quando aplicada com energia de 70 keV. Tendo em vista que o bombardeamento proposto por Novello (2012) é obtido com técnicas de maior complexidade que inviabilizam sua aplicação em larga escala, o método aqui proposto, utilizando *sputtering*, técnica propícia e reconhecida para a deposição de filmes em grandes áreas e quantidades (Machuno et al, 2016), viabiliza assim o processo industrialmente.

A partir de Tabela 2 é possível verificar que as s superfícies de aço inoxidável tanto controle como as funcionalizadas com a prata foram consideradas hidrofóbicas por apresentarem o valor ΔG_{sas}^{TOT} negativo. Além disso, verificou-se que houve diferença ($p < 0,05$) entre os valores de ΔG_{sas}^{TOT} encontrados paras as superfícies funcionalizadas quando comparadas às superfícies controles, sendo possível afirmar que o tratamento das superfícies de aço com prata contribuiu para o aumento da hidrofobicidade das superfícies. O aumento no valor da hidrofobicidade proveniente da funcionalização da superfície com prata pode ser justificado pela redução na energia potencial de solvatação quando se tem prata iônica interagindo com a água. Nessa interação, o maior raio de interação do íon (Ag^+) com a molécula de água ocasiona a redução na energia potencial da interação íon-dipolo (Equação 4) e consequentemente no aumento da hidrofobicidade (Atkins& Jones, 2006).

$$E_p \propto \frac{|Z| \cdot \mu}{r^2} \quad (4)$$

Em que, *Ep* significa a energia potencial de solvatação, Z a carga do íon, μ o momento de dipolo elétrico da molécula polar (H_2O), r é o raio de hidratação do íon (Ag^+).

O parâmetro ΔG^{TOT} calculado expressou a variação da energia livre de interação interfacial entre as moléculas do material imersas em água, e é a mais apropriada medida da hidrofobicidade, sendo considerado um critério quantitativo. Esse critério quantitativo define a superfície quanto à hidrofobicidade de forma eficiente, uma vez que leva em consideração as interações do tipo van der Waals, interações eletrostáticas, além das forças de interação de caráter polar podendo estas ser atrativas ou repulsivas.

Essas superfícies funcionalizadas com antimicrobianos são promissoras para uso na indústria de alimentos, uma vez que a adesão e a formação de biofilme podem reduzir a

eficiência de transferência de energia na forma de calor em trocadores térmicos; diminuir o fluxo em tubulações; desencadear processos corrosivos e, principalmente, se tornarem fontes de contaminação microbiana. Sob o aspecto microbiológico, a adesão pode constituir-se de micro-organismos alteradores e/ou patogênicos, que resultam em sérios problemas de higiene, de saúde pública ou de ordem econômica (Beech, 2004; Masaaki, 2006, Araújo *et al.*, 2010).

Quanto ao estudo de voltametria cíclica, a análise conjunta dos VC, a partir da Figura 2, mostrou que os picos de corrente anódicos são semelhantes para os dois cupons de aço inox sem prata, área eletroativa com boa reprodutibilidade. A partir dos VC (Figura 2) observa-se que no primeiro ciclo (varredura direta) ocorre a oxidação do ferro (elemento majoritário da composição química do aço inoxidável austenítico AISI 304) em potencial de + 0,50 V, que se refere à formação do íon Fe^{2+} (Gentil, 2007). Na varredura inversa desse mesmo ciclo não foi possível identificar o aparecimento dos picos de redução.

Pode-se observar (Figura 3) que há modificação na superfície do cupom de aço inox após o procedimento de pulverização catódica com prata. Verifica-se que no primeiro ciclo (varredura direta) ocorre a oxidação do ferro (+0,5V), já na varredura inversa desse mesmo ciclo aparecem picos alongados de redução (+ 0,25 a - 0,25V), que se referem a redução dos materiais depositados na superfície do aço inox por pulverização catódica, íons Ag^{+} e impurezas na superfície do cupom de aço.

Os valores de corrente para o cupom de aço modificado são diferentes dos valores de corrente para o cupom não funcionalizado, o que implica que a prata fica depositada sobre a superfície do cupom de aço inox após o procedimento de pulverização catódica com aumento (85%) da área eletroativa do cupom de aço inox.

Por fim, observou-se também que houve maior similaridade no comportamento eletroquímico entre os cupons de aço funcionalizados com filme de prata antes e após a simulação da limpeza CIP, em relação ao cupom não funcionalizado (Figura 4). Com isso, verifica-se que não houve lixiviação da prata na simulação de limpeza CIP. Sendo assim, a pulverização catódica pode ser empregada na indústria de alimentos para depositar prata nas superfícies de processamento de alimentos sem restrição em utilizar a limpeza CIP.

Após o contato do cupom de aço funcionalizado com as amostras de leite integral UHT e leite desnatado UHT, não foi possível quantificar os íons Ag^{+}, uma vez que todas as análises ficaram abaixo do limite de quantificação (0,002 µg L^{-1}) da voltametria de redissolução anódica para análise de metais (Riley&Watson, 1987).

CONCLUSÃO / CONSIDERAÇÕES FINAIS

As amostras de aço inox foram eficientemente funcionalizadas com recobrimento de prata usando pulverização catódica. A funcionalização das superfícies de aço inoxidável mostrou ser eficiente para redução da carga microbiana aderida, o que reduz o risco de pós-contaminação de produtos na indústria de alimentos. O recobrimento manteve as características morfológicas das superfícies das amostras funcionalizadas. Um ligeiro aumento na rugosidade média das amostras foi observado nas amostras funcionalizadas.

Do ponto de vista eletroquímico, observou-se que houve modificação na superfície do cupom de aço inox após o procedimento de pulverização catódica, ou seja, a prata permaneceu depositada sobre a superfície do cupom de aço inox após o procedimento de pulverização catódica com aumento da área eletroativa do cupom de aço inox. Os resultados, portanto, indicam o potencial do uso das amostras funcionalizadas com prata na indústria de alimentos a fim de reduzir a quantidade de cloro inorgânico aplicado, comumente, na etapa de sanitização. Além disso, o processo de pulverização catódica pode ser usado em escala industrial reduzindo custos de produção uma vez que não são usados processos químicos nesse processo.

REFERÊNCIAS

1. Andrade, N. J. (2008). Higiene na Indústria de Alimentos. São Paulo: Varela. Abeleda, H.E.P., Javier, A. P., Murillo A. Q. M., Baculi, R. Q. Alpha-amylase conjugated biogenic silver nanoparticles as innovative strategy against biofilm-forming multidrug resistant bacteria. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 29, p.101784. (2020). Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101784.

2. Araújo, E. A., Andrade, N. J., Carvalho, A. F., Ramos, A. M., Silva, C. A. S., Silva, L. H. M. Aspectos coloidais da adesão de micro-organismos. **Química Nova**, 33 (9), 1940-1948. (2010). Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010000900022.

3. Atkins, P. W., Jones, L. **Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente**. (3.ed.). (2006). Porto Alegre: Bookman.

4. Baptista, P.V., McCusker, M. P., Carvalho, A., Ferreira, D. A., Mohan, N. M., Martins, M., Fernandes, A. R. Nano-Strategies to Fight Multidrug Resistant Bacteria “A Battle of the Titans.” **Frontiers in Microbiology**, (2018). Disponível em: http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.01441.

5. Beech, I. B. Corrosion of technical materials in. the presence of biofilms- current understanding and state-of-the art methods of study. ***International Biodeterioration & Biodegradation*****,** 53, 177-183. (2004). Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0964-8305(03)00092-1.

6. Beveridge, T. Structures of gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles. **Journal of. Bacteriology***,* 181, 4725. (1999).

7. Brasil, 1998. Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Aprova: Regulamentos Técnicos: *Disposições Gerais para Embalagens e Equipamentos Plásticos em contato com alimentos e seus Anexos*. Portaria n. 912/ MS de 13/11/98. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 18 de novembro de 1998.

8. Chaudhry, Q., Scotter,M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L., Aitken, R., Watkins, R. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. **Food additives and contaminants***,* 25 (3), 241-258. (2010). Disponível em: https://doi.org/10.1080/02652030701744538.

9. Chorna, T., Yanushkevych, D., Afanasieva, V. Modern aspects of safety assessment of foodstuff. **Traektoria Nauki: Section Chemistry**, 20, 4000-4012. (2018).

10. Deng, X., Yu Nikiforov, A., Coenye, T., Cools, P., Aziz, G., Morent, R., Leys, C. Antimicrobial nano-silver non-woven polyethylene terephthalate fabric via an atmospheric pressure plasma deposition process. **Scientific Reports**, 5(1).(2015). Disponível em: http://doi:10.1038/srep10138

11. Floriano, L. (2017). **Modelagem matemática da inativação de penicillium expansum em suco de maçã por radiação ultravioleta.** 2017. 62 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

12. Franci, G., Falanga, A., Galdiero, S., Palomba, L., Rai, M., Morelli, G., Galdiero, M. Silver Nanoparticles as Potential Antibacterial Agents. **Molecules,** 20(5), 8856–8874. (2015). Disponível em http://doi:10.3390/molecules20058856 .

13. Gentil, V. **Corrosão.** (5. ed.). Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos. (2007).

14. Gomaa, E. Z. Silver nanoparticles as an antimicrobial agent: A case study on Staphylococcus aureus and Escherichia coli as models for Gram-positive and Gram-negative bacteria. The Journal of General and Applied Microbiology, 63(1), 36–43. Disponível em: (2017). http://doi:10.2323/jgam.2016.07.004

15. Hernández-Pimentel, V. M., Regalado-González, C., Nava-Morales, G. M., Meas-Vong, Y., Castañeda-Serrano, M. P., García-Almendárez, B. E. Effect of neutral electrolyzed water as antimicrobial intervention treatment of chicken meat and on trihalomethanes formation. **Journal of Applied Poultry Research**, 29(3), 622–635. (2020). Disponível em: http://doi:10.1016/j.japr.2020.04.001

16. Jefferson, K. K. (2004). What drives bacteria to produce a biofilm?***FEMS Microbiology Letters****,* 236 (2), 163 -173. https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.06.005.

17. Júnior, J.F.Q. F., Naves E. A. A., Bernardes P. C., Ferreira D. C, Dos **Anjos** L. D., Gelamo R.V., de Sá J.P., & de Andrade N. J. Stainless steel and polyethylene surfaces functionalized with silver nanoparticle. ***Food Science and Technology International***, 24(1), 87-94. (2018). Disponível em: https://doi.org/10.1177/1082013217731414.

18. Katsikogianni, M.,& Missirlis, Y. F. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions (2004). *European. Cells and Materials*, 8, 37.

19. Ji, H., Zhou, S., Fu, Y., Wang, Y., Mi, J., Lu, T., Lü, C. Size-controllable preparation and antibacterial mechanism of thermo-responsive copolymer-stabilized silver nanoparticles with high antimicrobial activity. (2020). **Materials Science and Engineering**: C, 110, 110735. **Disponível em:** http://doi:10.1016/j.msec.2020.110735

20. Langley, S.,&Beveridge, T. J. Effect of O-side-chain-lipopolysaccharide chemistry on metal binding. ***Applied and Environmental**. Microbiology,* 65, 489. (1999).

21. Li, G., Tang, L., Zhang, X., & Dong, JA review of factors affecting the efficiency of clean-in--place procedures in closed processing systems. **Energy**, 178, 57–71. http://doi:10.1016/j.energy.2019.04.123. (2019).

22. Machuno, L. G. B., Lima, A. B., Buso, R. R., Abdanur, R. M. F., Rangel, E. C., Gelamo, R. V. Desenvolvimento e avaliação de uma fonteDC de alta tensão para utilização emsistema de deposição de filmesfinos por pulverização catódica. *Revista Matéria*, 21 (2), 492 – 500. **Disponível em:** http://dx.doi.org/10.1590/S1517-707620160002.0046.

23. Μαρθυεσ , C. S. *Formação de Biofilmes por Staphylococcus* aureus na superfície de aço inoxidável e vidro e sua resistência a sanificantes químicos. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). UFLA (Universidade Federal de Lavras). 2020.

24. Μασαακι, M., J. Beneficial biofilm formation by industrial bacteria Bacillus subtilis and related species. ***Journal of Bioscience and Bioengineering**,* 101, 1-8. (2006). **Disponível em:** https://doi.org/10.1263/jbb.101.1.

25. Novello, J. C. L. Implantação de íons prata em aço inoxidável e infecção fágica para o controle de adesão e formação de biofilmes bacterianos na indústria de alimentos. (2012) (Tese de doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

26. Ölmez, H.,&Kretzschmar, U. Potencial alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. *Food Science and Technology,* 42(3),686-693.(2009).**Disponível em:** https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.08.001.

27. Ontong, J. C., Paosen, S., Shankar, S., & Voravuthikunchai, S. P. Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles using Senna alata bark extract and its antimicrobial mechanism through enhancement of bacterial membrane degradation. **Journal of Microbiological Methods,** 165, 105692. (2019). http://doi:10.1016/j.mimet.2019.105692

28. Riley, T., Watson, A. Polarographyc and other Voltammetric Methods, **London:John Willey & Sons.** (1987).

29. Shrestha, A., & Kishen, A. Antibacterial Nanoparticles in Endodontics: A Review. **Journal of Endodontics**, 42(10), 1417–1426. (2016). http://doi:10.1016/j.joen.2016.05.021

30. Takamiya, A. S., Monteiro, D. R., Gorup, L. F., Silva, E. A., de Camargo, E. R., Gomes-Filho, J. E., Barbosa, D. B**.** Biocompatible silver nanoparticles incorporated in acrylic resin for dental application inhibit *Candida albicans* biofilm. **Materials Science and Engineering:** C, 118, 111341. (2021). **Disponível em:** http://doi:10.1016/j.msec.2020.111341

31. Tsagkari, E., Sloan, W. T. Impact of Methylobacterium in the drinking water microbiome on removal of trihalomethanes. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 141, 10–16. (2019). **Disponível em:** http://doi:10.1016/j.ibiod.2018.07.015

32. Ubbink, J., Schar-zammaretti, P. Colloidal properties and specific interactions of bacterial surfaces. **Current Opinion in Colloid and Interface Science***,* 12, 263. (2007). **Disponível em:** https://doi.org/10.1016/j.cocis.2007.08.004.

33. Van Oss, C. J. Interfacial Forces in Aqueous Media. New York: Marcel Dekker, Inc., 1994. 440 p. (1994).

34. Wei, L., Lu, J., Xu, H., Patel, A., Chen, Z. S., Chen, Z.S., Chen, G. F. Silver nanoparticle: synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug Discovery Today*, 20 (5), 595-601. (2015). **Disponível em:** https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.11.014.

35. Zhao, Q.; Liu, Y.; Wang, C.; Peng, N. Jeynes, C. Reduction of bacterial adhesion on ion-implanted stainless steel surfaces. Medical Engineering & Physics, 30, 341-349. (2008). **Disponível em:** https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2007.04.004.

36. Zilio, R,; Kothe, C.,I., Zamboni, T.,P.,S.; Aguzzoli, C.; Casarin, L.,S.; Tondo, E.,C.; Silver implantation on AISI 304 stainless steel surface using low-energy doses and the antimicrobial effect against *Salmonella* Enteritidis and *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Science & Technology** 5(6) pp: 244-251. (2020)

SOBRE A ORGANIZADORA

Profª. Dra. Silvana Verruck

Possui graduação em Tecnologia em Alimentos pelo Instituto Federal Catarinense (2012), mestrado (2014) e doutorado (2019) pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina. Realizou pós-doutorado (PDJ-CNPq) pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (2019). Atualmente é Professora Adjunta A do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina. Atua como pesquisadora nas áreas de Ciência e Tecnologia de Alimentos, com ênfase em microbiologia de alimentos e tecnologia de produtos de origem animal, atuando principalmente nos seguintes temas: Digestibilidade de Alimentos, simulação do sistema gastrointestinal para avaliação de inativação/sobrevivência/interação de microrganismos patogênicos/probióticos em produtos lácteos, cárneos e de pescado, simulação do sistema gastrointestinal para avaliação do comportamento e biodisponibilidade de componentes em alimentos, microbiologia de alimentos, reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR), uso de corantes intercalantes de DNA para diferenciação de células viáveis e não viáveis por qPCR, qPCR multiplex, antioxidantes e antimicrobianos naturais para aplicação em derivados cárneos e lácteos, tecnologia de produtos lácteos, tecnologia de produtos cárneos, bactérias probióticas, modelagem de textura de queijos frescais, derivados de leite de búfala, derivados de leite de cabra e microencapsulação de bactérias probióticas. Participa da rede de pesquisa internacional em digestibilidade de alimentos (INFOGEST).

ÍNDICE REMISSIVO

A

Acceptability: 224, 227, 233, 288

Aceitabilidade: 7, 13, 14, 17, 19, 20, 24, 290

Ácidos Graxos: 46, 121, 126, 127, 128, 139, 140, 141, 142, 190, 206, 240, 244, 245, 248, 255, 258, 259, 270, 274, 297, 369, 377, 388

Adesão: 442, 448

Alimentos: 16, 23, 24, 28, 53, 54, 70, 76, 81, 88, 89, 100, 101, 110, 117, 145, 147, 149, 155, 161, 167, 168, 173, 186, 200, 201, 202, 208, 213, 214, 218, 235, 238, 240, 245, 249, 252, 265, 290, 293, 336, 337, 379, 380, 381, 383, 395, 413, 422, 455, 456, 457, 459

Alimentos Fermentados: 293

Alimentos Funcionais: 53, 240, 249, 252, 383

Alternative Pectin: 280

Análise Sensorial: 24, 72, 173, 174, 196, 198, 200, 290, 291

Análises Físico: 192, 194, 198

Antioxidante: 192, 194, 201, 312, 313, 314, 315, 383

Antioxidantes Naturais: 312, 313

Antocianinas: 46, 47, 367

Aproveitamento de Resíduo: 189

Aroma: 56, 69, 75, 107, 173, 287, 288

Associação de Palavras: 308

Aterosclerose: 45, 53, 54

Atividade Anti: 47, 246

Atividade Antibacteriana: 220, 221, 382

Atividade Antioxidante: 39, 46, 201, 245, 246, 379

B

Bactérias Ácido Láticas: 268

Batata: 114

Bioactive: 40, 153, 155, 260, 261, 291, 352, 440

Biscoito: 18

Boiled Potato: 355

Bread: 152, 224, 229, 395

C

Cacau: 91, 94, 96, 99, 101, 114

Café: 114, 177, 184, 185, 186

Cafeína: 176, 181, 343

Cajucultura: 14

Cancer: 147, 151, 152, 154, 355, 364, 383

Caracterização Físico: 76, 194

Chia: 18

Chlorogenic Acid: 186, 355, 360, 361, 362, 363, 364

Chocolate: 91, 98, 100, 101, 208

Clovamida: 339, 345

Coffea Arabica: 176, 178, 187

Coffea Canephora: 176, 178

Coloração: 397

Compostos Bioativos: 339, 368

Compostos Fenólicos: 245, 381, 383

Conservação: 403

Conservantes: 308, 311, 316

Consumo Alimentar: 89, 249, 320

Contaminantes de Processamento: 112

Conteúdo de Água: 386, 389, 390

Cor: 75, 399, 400

Covid: 254, 259

Cromatografia: 27

Cucurbita Moschata: 72

D

Diterpenos: 176

Doce: 72, 221

E

Eruca Sativa: 397, 398, 403, 404

Escala Hedônica: 107, 406

Espectrometria de Massas: 26, 342

Estudantes: 53, 78, 336

Etiologia: 238

Eugenia Dysenterica: 26, 27, 37, 38, 39, 40, 68, 70, 352

Extraction: 280, 284, 357

F

Farinha de Pescado: 189, 191

Fenólicos: 262, 367

Fibras: 61, 63

Fontes Naturais: 308

Free: 53, 149, 151, 364

Fruit Jelly: 280

Frutos Tropicais: 56

Funcionais: 53, 213, 214, 238, 367, 383

Funcional: 204, 214, 382

G

Geologia: 78, 79, 80, 82, 86, 87, 320, 321, 322, 324, 327, 328, 330, 331, 334

Gluten: 9, 223, 224, 227

Glúten: 14

Goiabeira: 383

Gordura: 406, 408, 410, 411, 418

Gordura Suína: 406, 410

H

Hábitos de Vida: 320, 324

Hidroxiecdisona: 339, 343

I

Ilex Paraguariensis: 346

Indústria: 16, 76, 91, 184, 185, 387, 394, 455

K

Kefir: 10, 263, 264, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 275, 277

Kjeldahl: 192, 209

L

Lanches: 78, 87

Legislação: 194, 199, 213

Leite: 10, 114, 269, 270, 272, 277, 307, 372, 374, 383, 384

Leveduras: 275

Life: 157, 277, 305, 363, 382

M

Malpighia Emarginata: 56, 57, 69

Mercado Panificação: 386

Metals: 149

Metatranscriptoma: 10, 292

Micro: 389, 417

Microextração em Fase Sólida: 56

Mitigação: 112

Muçarela: 418, 419

N

Native Potato: 355

O

Óleo: 257, 373, 406, 408, 410, 411

P

Paper Spray: 26, 38, 39, 41, 349, 350, 353

Passiflora Edulis: 72

Percepção: 10, 307, 308

Perfil Antropométrico: 10, 319, 320

Peroxidase: 165

Pescada Amarela: 189

Phenolic Compounds: 11, 40, 354, 358, 363

Pimenta: 217, 408

Pós: 53, 213, 336, 397, 403, 421, 459

Potencial Antioxidante: 53

Prata: 7, 11, 25, 338, 396, 442, 448

Probiótico: 266, 268, 269, 271, 272, 273

Processo: 168, 243

Processos de Membrana: 103

Produtos Alimentícios: 14

Prosopis Nigra: 9, 223, 224, 225, 226, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 236

Proteína: 84, 209, 258, 266, 418

Provolone: 418, 419

Q

Qualidade: 11, 68, 69, 166, 291, 379, 396, 397, 403, 405

Quantification: 39, 351

Queijos: 12, 297, 414, 418

Química: 28, 40, 58, 69, 70, 100, 101, 147, 149, 156, 185, 186, 200, 201, 219, 262, 341, 352, 379, 383, 446, 455

R

Resíduo: 14

Ricota: 418, 419

S

Saúde: 16, 23, 43, 45, 52, 53, 54, 82, 88, 101, 119, 147, 168, 200, 213, 214, 249, 250, 258, 265, 290, 308, 311, 313, 316, 322, 324, 334, 335, 336, 375, 380, 381, 382, 439, 456

Segurança Alimentar: 112, 308, 312, 314

Sensorial: 17, 23, 69, 74, 78, 80, 81, 88, 103, 106, 180, 280, 284, 287, 406, 409

Sensorial Analysis: 280, 284, 287

Sensory Evaluation: 291, 413, 430, 437

Shelf: 382, 440

Sólidos Totais: 103

Sputtering: 442

Substituição: 204

Superfruta: 254

T

Taninos: 213, 383

Tecnologia: 23, 24, 70, 76, 89, 91, 101, 110, 155, 168, 174, 186, 200, 201, 202, 208, 212, 213, 214, 262, 290, 337, 379, 380, 381, 394, 395, 408, 413, 457, 459

Temperatura: 59, 61, 164, 165

Tempero em pó: 189

Textura: 75, 107, 173, 386

Theobroma Cacao: 98, 291, 339, 340, 349, 350, 351, 352, 353

Toxicidade: 112

Tratamento Térmico: 112

U

Universitários: 320, 336

V

Voltametria Cíclica: 442, 444, 445, 449, 450

Volume: 235, 306, 386, 389, 391, 392, 445

follow us

www.editoracientifica.org contato@editoracientifica.org

ISBN 978-658719658-9

VOLUME 1

editora científica