SILVANI VERRUCK
Organizadora

AVANÇOS EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

VOLUME 2

editora científica

SILVANI VERRUCK
Organizadora

AVANÇOS EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

VOLUME 2

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 2 / Organizadora Silvani Verruck. – Guarujá, SP: Científica Digital, 2020.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
ISBN 978-65-87196-59-6
DOI 10.37885/978-65-87196-59-6

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**

APLICAÇÃO DE *PSYLLIUM* E GOMA XANTANA COMO AGENTES LIGANTES EM BARRAS DE CEREAIS SALGADAS

Janaína Melati; Eloíza Muzzolon; Gabrielly Mylena Benedetti Tonial; Luciano Lucchetta; Ivane Benedetti Tonial

DOI: 10.37885/201102195

CAPÍTULO 02 ..... **31**

ASSESSMENT OF METALLIC ELEMENTS CONTENTS IN BRAZILIAN SEASONINGS BY ATOMIC SPECTROMETRY

Náira da Silva Campos; Céphora Maria Sabarense; Rafael Arromba de Sousa

DOI: 10.37885/201102268

CAPÍTULO 03 ..... **44**

AVALIAÇÃO DA ENZIMA PEROXIDASE E DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DURANTE ETAPAS DE FERMENTAÇÃO DE *THEOBROMA CACAO*

Nayara Suelen Penelva Carneiro; Fernanda Durans Pessoa de Souza; Jesus Nazareno Silva de Souza; Helber Samom Cardoso da Costa

DOI: 10.37885/201102206

CAPÍTULO 04 ..... **55**

CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS ANTIOXIDANTES DE NOZ PECÃ (*CARYA ILLINOINENSIS*) OBTIDOS POR TECNOLOGIA LIMPA

Luiza Milioli Vieira; Maria Luiza Tonetto Silva; Bruno Luís Ferreira; Gabriela Polmann; Jane Mara Block; Itaciara Larroza Nunes; Maria Manuela Camino Feltes

DOI: 10.37885/201102201

CAPÍTULO 05 ..... **73**

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO CAROÇO DE AÇAÍ (*EUTERPE OLERACEA MART.*) TORRADO DESTINADO À PRODUÇÃO DE UMA BEBIDA QUENTE

Nizete Chaves Costa; Andréia Costa da Silva; Nadia Cristina Fernandes Correa; Vanessa Albres Botelho

DOI: 10.37885/201102243

CAPÍTULO 06 ..... **83**

COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO DE BATATA INGLESA E DOCE MINIMAMENTE PROCESSADAS

Érica Wanzeler Wanzeler

DOI: 10.37885/201102317

SUMÁRIO

CAPÍTULO 07 ..... **91**

COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE DE *TARAXACUM OFFICINALE*

Mariane Ferenz; Karine Angélica Dalla Costa; Jean Carlos Budke; Sheila Mello da Silveira

DOI: 10.37885/201102213

CAPÍTULO 08 ..... **106**

COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE BOLOS SEM GLÚTEN CONTENDO XANTANA ELABORADOS COM FARINHA DE BAGAÇO DE AZEITONA

Renata Fialho Teixeira; Clóvis Antônio Balbinot Filho; Miriane Lucas Azevedo; Fernanda Germano Alves Gautério

DOI: 10.37885/201102228

CAPÍTULO 09 ..... **121**

DEPLEÇÃO DO ANTICOCCIDIANO NICARBAZINA EM PEITO DE FRANGO

Vivian Feddern; Anildo Cunha Júnior; Vanessa Gressler; Gerson Neudí Scheuermann; Arlei Coldebella; Luizinho Caron; Danniele Miranda Bacila; Luciana **Igarashi-**Mafra

DOI: 10.37885/201101970

CAPÍTULO 10 ..... **132**

DESENVOLVIMENTO DE *BROWNIES* FUNCIONAIS COM SUBSTITUIÇÃO DO AÇÚCAR COMUM

Ana Luiza Almeida Umbelino; Edislene Joviana de Souza Tavares; Bruna Eugênia Ferreira Mota; Patrícia Aparecida Pimenta Pereira; Aureliano Claret da Cunha; Simone de Fátima Viana da Cunha

DOI: 10.37885/201102175

CAPÍTULO 11 ..... **148**

DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE DE CACHAÇAS DA REGIÃO DO NORTE DE MINAS GERAIS

Felipe Cimino Duarte; Roberta Magalhães Dias Cardozo; Henrique Ângelo de Melo; Ernando Gonçalves do Egito; Félix Moreira Ribeiro; Leonardo Lima da Paixão; Andressa Alves Nascimento; Richard Bispo Barbosa; Maria das Graças Cardoso

DOI: 10.37885/201102194

CAPÍTULO 12 ..... **165**

DISCRIMINAÇÃO ENTRE MÉIS DE ABELHA (*MELIPONA* SP E *APIS MELLIFERA*) COMERCIALIZADOS EM ITAITUBA - PA

Paulo Sérgio Taube Júnior; Victor Valentim Gomes; Jéssica Thaís Lemos Batista de Oliveira; Kely Prissila Saraiva Cordovil; Marcia Mourão Ramos Azevedo; Yan Vitor Silva Oliveira; Dairlane da Rosa Taube; Sorrel Godinho Barbosa de Souza; Kárita Juliana Sousa Silva; Eduardo Renan de Souza Miranda

DOI: 10.37885/201102227

SUMÁRIO

CAPÍTULO 13 ..... **179**

EFEITOS HIPOLIPIDÊMICO E ANTIOXIDANTE EM HAMSTERS PELA ADMINISTRAÇÃO DE SUBPRODUTOS DO PROCESSAMENTO DE UVAS

Emília Ishimoto; Silvio José Valadão Vicente

DOI: 10.37885/201102217

CAPÍTULO 14 ..... **202**

IMPACT OF WATER TEMPERATURE OF CHIMARRÃO ON PHENOLIC COMPOUNDS EXTRACTION

Tayse Ferreira Ferreira da Silveira; Adriana Dillenburg Meinhart; Thaís Cristina Lima de Souza; Elenice Carla Emídio Cunha; Maria Rosa de Moraes; Alexandre Lorini; José Teixeira Filho; Helena Teixeira Godoy

DOI: 10.37885/201102237

CAPÍTULO 15 ..... **217**

EMBALAGENS ATIVAS COMO NOVAS ABORDAGENS SUSTENTÁVEIS E AMBIENTALMENTE CORRETAS: UMA REVISÃO DA LITERATURA

Vitória Rodrigues Bittencourt; Laura Inês Grassi; Andressa Inês Schú; Flávia Michelon **Dalla** Nora

DOI: 10.37885/201102207

CAPÍTULO 16 ..... **233**

EMULSÕES ÁGUA EM ÁGUA: POTENCIAL APLICAÇÃO ALIMENTÍCIA

Bianca Hazt; Bernardo Mauad Régnier; Pedro Henrique Guedes; Rilton Alves de Freitas

DOI: 10.37885/201102233

CAPÍTULO 17 ..... **259**

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DA SEMENTE DA FRUTA DO CONDE

Camila Patricia Favaro; Ângela Claudia Rodrigues; Carolina Castilho Garcia

DOI: 10.37885/201102224

CAPÍTULO 18 ..... **274**

INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NOS TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS E DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE FLORES DE DUAS CULTIVARES DE JAMBU (*ACMELLA OLERACEA* (L.) R. K. JANSEN)

Ana Paula de Souza e Silva; Flávia Cristina Seabra Pires; Sérgio Henrique Brabo de Sousa; Maria Caroline Rodrigues Ferreira; Letícia Maria Martins Siqueira; Eduardo Gama Ortiz Menezes; Ivonete Quaresma da Silva de Aguiar; Andréia de Fátima Souza Araújo; Raul Nunes de Carvalho Junior

DOI: 10.37885/201102248

SUMÁRIO

CAPÍTULO 19 ..... **283**

OBTENÇÃO DE XAROPE DA SEIVA DO TRONCO DE PALMA (*ELAEIS GUINEENSES*) CLARIFICADA COM QUITOSANA

Rômulo Almeida Costa; Adriano de Figueiredo Marçal; Lucia de Fátima Alves Gomes; Vanessa Albres Botelho; Luiz Ferreira de França; Nadia Cristina Fernandes Corrêa

DOI: 10.37885/201102241

CAPÍTULO 20 ..... **294**

OBTÊNÇÃO E DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO ÓLEO DA AMÊNDOA DE INAJÁ (*MAXIMILIANAMARIPA* (*AUBL.*) *DRUDE*).

Brendo Luiz das Mercês Pinho Ataide; Elton Ferreira Vinagre; Maricely Janette Uría Toro

DOI: 10.37885/201102221

CAPÍTULO 21 ..... **305**

ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS MEDICINAIS ASSOCIADOS A BIOFILMES PARA PROTEÇÃO DE FRUTOS DE MAMOEIRO

Eduardo Oliveira Guilherme; Priscila Fonseca Costa; Dalmarcia de Souza Carlos Mourão; Pedro Raymundo Argüelles Osorio; Talita Pereira de Souza Ferreira; Gabriella Rayssa Antunes da Silva Oliveira; Gil Rodrigues Santos

DOI: 10.37885/201102278

CAPÍTULO 22 ..... **321**

PARÂMETROS DE ENCAPSULAÇÃO DE PECTINASE COMERCIAL EM ALGINATO DE CÁLCIO E SEU EFEITO NA ATIVIDADE CATALÍTICA

Lucia Maria Jaeger de Carvalho; Flávio de Souza Neves Cardoso; Maria Gabriela Bello Koblitz; Gisela Maria Dellamora Ortiz; José Luiz Viana de Carvalho

DOI: 10.37885/201102231

CAPÍTULO 23 ..... **336**

PEQUI (*CARYOCAR BRASILIENSE* CAMB.) – UMA REVISÃO

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

DOI: 10.37885/201102210

CAPÍTULO 24 ..... **345**

POTENCIAL DO PROCESSO DE CRIOCONCENTRAÇÃO PARA A CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA CASCA DA BETERRABA (*BETA VULGARIS* L.)

Rafaella Tonetto Byruchko; Giordana Demaman Arend; Silvani Verruck; Katia Rezzadori

DOI: 10.37885/201102193

SUMÁRIO

CAPÍTULO 25 ..... **354**

POTENCIAL NUTRICIONAL E TECNOLÓGICO DE MUCILAGEM DE CHIA (*SALVIA HISPÂNICA*, L.) PARA PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS

Aline Chitto Lopes; Maria Fernanda Ribas; Ana Claudia Lopes; Ivane Benedetti Tonial; Luciano Lucchetta

DOI: 10.37885/201102211

CAPÍTULO 26 ..... **377**

PRODUÇÃO DE FERMENTADO ALCOÓLICO DE MANDIOCABA COM PRÉ TRATAMENTO ENZIMÁTICO

Julyana Laura Medeiros Vaughan; Josyani dos Santos Gonçalves; Nadia Cristina Fernandes Corrêa; Vanessa Albres Botelho

DOI: 10.37885/201102240

CAPÍTULO 27 ..... **395**

QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS EM CEVADA PARA MALTEAÇÃO: COMPARAÇÃO DE MÉTODOS

Isabella de Oliveira Cenci; Bernardo Pontes Guimarães; Renato Fernando Amabile; Grace Ferreira Ghesti

DOI: 10.37885/201102203

CAPÍTULO 28 ..... **409**

RHEOLOGY AND TEXTURE APPLIED TO GOAT AND SHEEP MILK CHEESES: PRINCIPLES, APPLICATIONS AND FUTURE TRENDS

Vanessa Bonfim da Silva; Luana Sipaúba Moreno Barreto Bezerra; Beatriz Pinheiro de Oliveira Alves; Bruna Cerqueira dos Santos; Alessandra **Estrela-**Lima; Marion Pereira da Costa

DOI: 10.37885/201102262

CAPÍTULO 29 ..... **437**

SCREENING OF NEW SOURCES AND CONSUMPTION ESTIMATION OF RUTIN IN HERBS AND INFUSIONS

Adriana Dillenburg Meinhart; Fernanda Mateus Damin; Lucas Caldeirão; José **Teixeira-**Filho; Helena Teixeira Godoy

DOI: 10.37885/201102238

CAPÍTULO 30 ..... **453**

TECNOLOGIAS ENVOLVIDAS NO PROCESSAMENTO DE EMPANADOS

Eulália Lopes da Silva Barros; Noádia Genuario Barroso; Callebe Camelo-Silva; Márcio Augusto Ribeiro Sanches; Silvani Verruck; Márcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal

DOI: 10.37885/201102196

SUMÁRIO

CAPÍTULO 31 ..... **467**

THERMAL PEST CONTROL **EM UVAS "CHARDONNAY": CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DOS VINHOS**

Taísa Ceratti Treptow; Carine Gláucia Comarella; Fernanda Wouters Franco; Thaís de Oliveira Lopes; Tatiana Valesca Rodriguez Alicieo; Cláudia Kaehler Sautter

DOI: 10.37885/201102204

CAPÍTULO 32 ..... **483**

UTILIZAÇÃO DE FARINHA DE CASCA DE PITAIA VERMELHA (*HYLOCEREUS UNDATUS*) NA SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DE GORDURA EM BISCOITO TIPO COOKIE

Alana Zanchet; Simone Hickmann Flôres; Roberta Cruz Silveira Thys

DOI: 10.37885/201102197

SOBRE A ORGANIZADORA **503**

ÍNDICE REMISSIVO **504**

01

Aplicação de *PSYLLIUM* e goma xantana como agentes ligantes em barras de cereais salgadas

- Janaína **Melati**
  UTFPR
- Eloíza **Muzzolon**
  UTFPR
- Gabrielly Mylena Benedetti **Tonial**
  UTFPR
- Luciano **Lucchetta**
  UTFPR
- Ivane Benedetti **Tonial**
  UTFPR

doi 10.37885/201102195

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi testar a utilização de dois diferentes agentes ligantes, goma xantana e *psyllium* na elaboração de barras de cereais salgadas e avaliar suas características físicas, físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. Para isso duas formulações de barras de cereais salgadas foram desenvolvidas com variação apenas do agente ligante. Foram realizadas análises físicas de cor e textura; análises físico-químicas: umidade, cinzas, proteínas, lipídios, fibra bruta, carboidratos, valor calórico, teor de cloreto de sódio, pH e acidez; microbiológica: determinação de Coliformes termotolerantes, *Salmonella sp*. e *Bacillus Cereus* e a avaliação sensorial: teste de preferência, aceitação e intenção de compra. Os resultados mostraram que a coloração das barras tendeu ao amarelo, com maior força de cisalhamento para aquela formulada com goma xantana. Físico-quimicamente, apresentaram alto teor de proteínas, fibras e valor energético. Microbiologicamente as barras se mostraram aptas para o consumo humano e sensorialmente sugerem um futuro promissor para o mercado de consumidores diferenciados. De modo geral, os resultados demonstram a importância nutricional e funcional do produto elaborado, assim como sua potencialidade de uso e inovação dentro da gama de produtos ofertados nas indústrias de alimentos.

Palavras-chave: Barra de Cereais, Agentes Ligantes, Goma Xantana, *Psyllium*.

INTRODUÇÃO

As barras de cereais foram introduzidas no mercado alimentício como uma alternativa de alimento “saudável”, com o intuito de cuidar da saúde e manter uma dieta equilibrada (FREITAS; MORETTI, 2006) sendo lançada no Brasil no ano de 1992 (BARBOSA, 2006).

Atualmente, a preocupação dos consumidores com a saúde, aliada ao pouco tempo na dedicação do preparo de uma boa alimentação tem levado as pessoas buscarem alimentos mais saudáveis, rápidos e práticos (MELO et al., 2010). Dentro desta expectativa encontram-se as barras de cereais, que podem ser definidas como produtos obtidos da compactação de cereais, contendo frutas secas, castanhas, aromas e ingredientes ligantes (SARANTÓPOLUS et al., 2001; MATSUURA, 2005).

Há cada vez mais um crescente interesse dos consumidores por alimentos naturais, nutritivos, com bom aporte de carboidratos, proteínas, vitaminas, minerais, fibras e um balanceamento adequado de calorias (SIMÕES, 2010).

Para a elaboração das barras de cereais, alguns fatores devem ser considerados, como: o público consumidor; a matéria prima a ser utilizada; o sabor; aroma; textura; aparência e propriedades nutricionais que se deseja (LIMA, 2004).

As barras alimentícias de sabor salgado ainda se encontram de forma modesta no mercado alimentício, no entanto pode ser uma importante alternativa de alimentação para o público com restrição ao consumo de açúcares. Neste sentido, estudos relacionados ao desenvolvimento de barras de cereais salgadas podem ser o ponto de partida e incentivo para as indústrias de alimentos e promissor nos aspectos social e econômico.

As características tecnológicas deste tipo de produto (coesão, compactação e textura) podem ser dependentes do agente ligante utilizado na elaboração da barra. Dentre os agentes utilizados, encontra-se o amido modificado, o colágeno hidrolisado e goma xantana, além de outros (HADDAD, 2013).

A goma xantana é classificada como biopolímero, é um polissacarídeo de origem microbiana, sintetizado por bactérias, fungos e leveduras. São consideradas exopolissacarídeos (EPS), e possuem a capacidade de formar géis e soluções viscosas (MEDEIROS et al., 2000). Apresentam-se como uma alternativa às gomas tradicionais devido às suas propriedades reológicas, sendo amplamente utilizadas como espessantes, geleificantes, agentes de suspensão, colóides protetores e estabilizantes, nas indústrias de alimentos, farmacêutica, química e petroquímica (FARIA, 2005; BRANDÃO et al., 2008).

O *psyllium* (*Plantago psyllium L.*) é uma fibra extraída da casca da semente de *Plantago ovata* (HOJJATOLESLAMY et al., 2013). Embora pouco conhecido como agente ligante, pode apresentar vantagens como: aumentar o volume do produto, melhorar sua consistência, deixando-o mais macio, prevenir a separação de ingredientes e ainda conferir estabilidade

ao mesmo, uma vez que a sua viscosidade não é afetada pela temperatura (20 ºC e 50 ºC), pH (2 a 10) e concentração de NaCl (0,15 M). Estas propriedades, além de tantas outras, despertam o interesse pelo *psyllium* especialmente por parte das indústrias alimentícias (URVESH, 2005).

OBJETIVO

Testar a aplicação de *psyllium* e goma xantana na elaboração de barras de cereais salgadas e avaliar suas características físicas, físico-químicas, microbiológicas e sensoriais.

MÉTODOS

Ingredientes e Formulação

Os ingredientes (aveia, gergelim, amendoim, sementes de linhaça, proteína texturizada de soja, chia, goma xantana, *psyllium* e sal) utilizados no desenvolvimento das barras de cereais salgadas foram adquiridos no comércio varejista do município de Francisco Beltrão-PR. Foram desenvolvidas duas formulações de barra de cereais salgada, variando-se o agente ligante. As quantidades utilizadas de cada ingrediente estão relacionadas na Tabela 1.

Tabela 1. Ingredientes utilizados na elaboração das barras de cereais salgadas.

Ingredientes	Formulação 1	Formulação 2
Aveia (%)	25,0	25,0
Gergelim (%)	25,0	25,0
Amendoim (%)	15,0	15,0
Semente de Linhaça (%)	15,0	15,0
Proteína Texturizada de Soja (%)	10,0	10,0
Chia (%)	5,0	5,0
Goma xantana (%)	4,0	0,0
Psyllium (%)	0,0	4,0
Sal (%)	1,0	1,0

As formulações foram preparadas no Laboratório de Panificação da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus de Francisco Beltrão. Para cada formulação, os ingredientes secos foram misturados e homogeneizados para posterior adição do agente ligante diluído em água. As massas obtidas foram dispostas em formas metálicas, forradas com papel alumínio, pré-cortadas e submetidas ao calor em forno convencional, a 240 ºC por aproximadamente 45 minutos. Posteriormente, as barras de 25 gramas foram acondicionadas em sacos de alumínio fechados adequadamente e conservados em local livre de umidade e com pouca iluminação até o momento de realização das análises.

Caracterização das barras de cereais salgadas elaboradas com diferentes agentes ligantes

Análises Físico-Químicas

As barras de cereais elaboradas foram submetidas às análises físico-químicas para determinação dos teores de umidade, cinzas, proteínas e sólidos solúveis segundo metodologia da AOAC (2005). Determinação de lipídeos segundo método Bligh e Dyer, (1959). Determinação de pH segundo metodologia descrita pelo Instituto Adolf Lutz, (2008). Determinação de atividade de água com utilização do equipamento Aqualab Lite Decagon. Determinação de fibra bruta total segundo metodologia apresentada por Cecchi (1999). O teor de carboidratos foi calculado por diferença (100 g – gramas totais de umidade, proteínas, lipídios, cinzas e fibras), segundo a Resolução RDC n° 360, de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003).

O cálculo do valor energético foi obtido aplicando-se os fatores de Atwater 4, 9, 4 Kcal/g para os valores de proteínas, lipídios e carboidratos respectivamente.

A determinação do teor de cloreto de sódio foi realizada segundo método argentométrico de Möhr de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

Análises Físicas de textura e cor

A determinação da textura foi realizada através do equipamento Texturômetro TA – XT2I Stable Micro Systems. Foram avaliados os parâmetros de dureza e cisalhamento. Para determinação da dureza foi utilizado probe cilíndrico P/2, onde as amostras foram cortadas em quadrados de 2 cm e comprimidas duas vezes até 50% de seu tamanho, com dois ciclos de compressão, sem tempo de repouso. A velocidade de compressão utilizada foi de 4 mm/s e pressão de 0,1 N. Para a força de cisalhamento as amostras foram cortadas com 2 cm de comprimento, 2 cm de largura, utilizando-se a lâmina Warner Bratzler (HDP/BSW) para realizar a avaliação (BOURNE, 1978).

Para a análise da cor utilizou-se o sistema CIELAB (L*, a*, b*) através de leitura em colorímetro (MOD CR-400/410 KONICA MINOLTA), iluminante D65 e ângulo de observação de 10°. Foram determinados os valores de L* (Luminosidade), a* (Intensidade da cor vermelha), b* (Intensidade da cor amarela). Com resultados provenientes destas avaliações foi possível determinar, o Índice de saturação (c*) e Ângulo de tonalidade (h*) calculados pelas equações 1 e 2:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \qquad [Eq.\ 1]$$

$$h^* = \tan^{-1} (b^* / a^*) \qquad [Eq.\ 2]$$

Tanto as análises físicas quanto as análises físico-químicas foram realizadas em triplicata e os resultados foram tratados estatisticamente através da utilização da análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade e teste de Tukey, através do software Statistica, versão 5.0 - versão teste (STATSOFT INC, 2007).

Análises Microbiológicas

Através das análises microbiológicas determinou-se o número mais provável por grama de amostra (NMP g^{-1}) de coliformes a 45°C e de *Bacillus Cereus,* verificou-se também a presença ou ausência de *Salmonella*, segundo as metodologias propostas pela Instrução Normativa IN 62/2003 e de acordo com os padrões microbiológicos para alimentos preconizados pela RDC 12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001). Adicionalmente foi realizada análise para verificar o número de unidades formadoras de colônias (UFC) de bolores e leveduras, conforme metodologia proposta por Siqueira et al. (2001).

Análise Sensorial

A avaliação sensorial foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Francisco Beltrão em cabines individuais com iluminação. Sendo coletados os dados de 100 julgadores não treinados.

Para a análise foram utilizados o teste afetivo de preferência e o teste de aceitação por escala hedônica de 9 pontos em que 9 corresponde a “Adorei” e 1 corresponde a “Detestei”. Esta escala foi utilizada para avaliar os atributos, Aparência Global, Cor, Sabor e Textura. Para avaliação da intenção de compra do produto pelo consumidor, empregou-se o Teste de Intenção de compra com escala hedônica de 5 pontos, sendo que a pontuação 5 equivale a “certamente compraria” e a pontuação 1 a “Certamente não compraria” (IAL, 2008).

As amostras previamente identificadas e codificadas com números de três dígitos, (426: amostra com goma xantana e 137: amostra com *psyllium*) foram entregues aos julgadores acompanhadas de uma bolacha de água e sal e água com o objetivo de limpar o palato. O experimento foi organizado de forma que as amostras fossem analisadas em igual número de vezes pelos julgadores.

O tratamento estatístico foi realizado pela análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação das médias utilizando-se o programa Statistica versão 7.0 (versão para teste) (STATSOFT INC, 2007).

RESULTADOS

Características Físico-Químicas

A Tabela 2 representa os valores médios acompanhados dos respectivos desvios padrões referentes a composição proximal, valor calórico e fibra total das barras alimentícias de sabor salgado, formuladas com os diferentes agentes ligantes: goma xantana e *psyllium*.

Tabela 2. Valores médios da composição centesimal, valor calórico e fibra total das barras alimentícias elaboradas com dois diferentes agentes ligantes.

Variáveis	Amostras	
	Barra com goma xantana	Barra com P*syllium*
Umidade (%)	8,90±0,14a	8,96±0,27a
Cinzas (%)	2,65±0,06a	2,66±0,01a
Lipídios (%)	7,75±0,67a	6,72±0,77b
Proteínas (%)	25,77±2,24ª	19,09±0,94b
Carboidratos (%)	38,31±2,08b	45,65±0,69a
Fibra Total (%)	16,62±2,31a	16,92±1,26a
V.C.*	326,07±7,73a	319,44±6,49a

Valor Calórico*(kcal/100g). Resultados apresentados na forma de médias de três repetições acompanhadas do respectivo desvio padrão. Médias na mesma linha seguidas de letras iguais não diferem entre si (p>0,05) pelo Teste de Média de Tukey.

Na Tabela 3 são apresentados os valores médios dos resultados referentes as análises de cloreto de sódio, sólidos solúveis, pH e atividade de água, das barras de cereais elaboradas com goma xantana e *psyllium*.

Tabela 3. Teores de cloreto de sódio, sólidos solúveis, pH e atividade de água das diferentes formulações de barras alimentícias salgadas

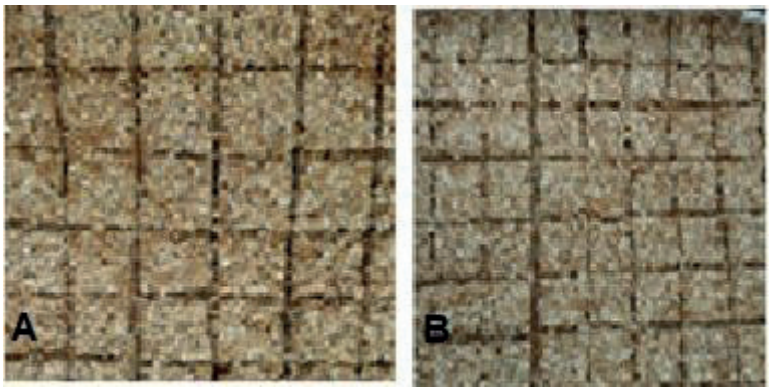
Variáveis	Amostras	
	Barra com goma xantana	Barra com p*syllium*
Cloreto sódio (%)	0,72±0,01a	0,76±0,018ª
SS (°Brix)	3,16±0,05a	3,13±0,05a
pH	6,18±0,02a	6,23±0,02ª
Aw	0,647±0,006a	0,654±0,001a

SS- Sólidos solúveis em graus Brix; pH – potencial hidrogeniônico; Aw – atividade de água. Resultados apresentados na forma de médias de três repetições acompanhadas do respectivo desvio padrão. Médias na mesma linha seguidas de letras iguais não diferem entre si (p>0,05) pelo Teste de Média de Tukey.

Características físicas de cor e textura

A coloração das barras de cereais salgadas elaboradas com os agentes ligantes goma xantana e *psyllium* podem ser observados na Figura 1.

Figura 1. Barra de Cereais Salgada. A: Formulação com agente ligante goma xantana; B: Formulação com agente ligante *psyllium*.



A utilização de instrumentos para medição de cor tem a vantagem de eliminar o aspecto subjetivo da avaliação visual (MARTINAZZO et al., 2006). Os resultados numéricos referentes a análise instrumental para as coordenadas L*, a* e b*, índice de saturação (C*) e ângulo de tonalidade (h*) das barras de cereais salgadas elaboradas com goma xantana e *psyllium* estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Valores médios da luminosidade (L*), da cor vermelha (a*), da cor amarela/verde (b*), índice de saturação (C*) e ângulo de tonalidade (h*)

Amostras	Variáveis de cor				
	L*	a*	b*	C*	h*
Barra com Xantana	51,74±1,77a	8,54±0,49a	22,11±0,39a	23,71±0,20b	68,85±1,44a
Barra com *Psyllium*	55,51±0,75a	4,56±0,35a	20,16±1,14a	20,67±1,14a	77,22±1,04b

Resultados apresentados na forma de médias de três repetições acompanhadas do respectivo desvio padrão. Médias com as mesmas letras minúsculas, na mesma coluna, não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo Teste de Média de Tukey.

A Tabela 5 representa os resultados das análises do perfil de textura das barras alimentícias salgadas em relação aos parâmetros de dureza (força necessária para atingir uma dada deformação) e de cisalhamento (duas forças cortantes em equilíbrio, atuando em duas seções infinitesimalmente próximas).

Tabela 5. Valores médios dos parâmetros de textura das barras salgadas elaboradas com diferentes agentes ligantes.

Amostras	Variáveis	
	Dureza (N)	Cisalhamento (N)
Barra com goma xantana	36,47±0,395a	68,82±0,580b
Barra com *psyllium*	36,65±0,649a	55,70±0,707a

N: Newton. Os resultados apresentados são decorrentes de médias de três repetições acompanhadas do respectivo desvio padrão. Médias com as mesmas letras minúsculas, na mesma coluna, não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) pelo Teste de Média de Tukey.

Qualidade Microbiológica

Para realização das análises microbiológicas levou-se em consideração o estabelecido pela legislação brasileira: Resolução RDC n°12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001). Considerou-se também o preconizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que para barras de cereais recomenda o controle bacteriano de *Bacillus cereus*, coliformes termotolerantes e *Salmonella*. Adicionalmente foram realizadas análises de bolores e leveduras, sendo os resultados apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Resultado das Análises Microbiológicas das barras de cereais salgadas.

Análises Microbiológicas	Especificação ANVISA	Amostras	
		Barra com Xantana	Barra com *Psyllium*
Coliformes a 45°	$5{,}0x10^1$ UFC/g	< $1{,}0x10^1$ UFC/g	< $1{,}0x10^1$ UFC/g
Salmonella sp	Ausência	Ausência	Ausência
Bacilus Cereus	$5{,}0x10^2$ UFC/g	< $1{,}0x10^1$ UFC/g	< $1{,}0x10^1$ UFC/g
Bolores	Sem especificação	< $1{,}0x10^2$ UFC/g	< $1{,}0x10^2$ UFC/g
Leveduras	Sem especificação	< $1{,}0x10^2$ UFC/g	< $1{,}0x10^2$ UFC/g

UFC: Unidade Formadora de Colônias.

Avaliação Sensorial

Para a análise dos atributos de aparência global, cor, sabor e textura foram utilizados os métodos afetivos de preferência e teste de aceitação por escala hedônica de 9 pontos além do Teste de Intenção de compra com escala hedônica de 5 pontos. As médias obtidas para cada atributo avaliado em cada formulação de barra de cereais salgada estão apresentadas na Tabela 7.

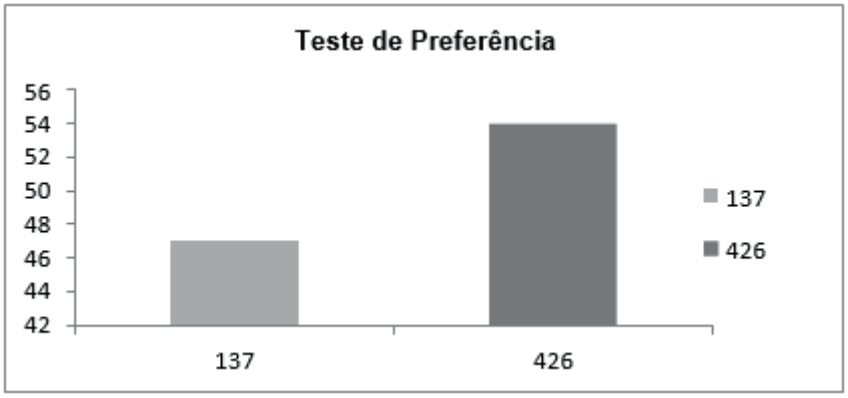
Tabela 7. Pontuações dos atributos sensoriais avaliados na barra de cereais salgada.

Amostras	Aparência Global	Cor	Textura	Sabor
Formulação com *Psyllium*	7,10±1,03a	7,42±1,02a	6,57±1,11a	6,52±1,18a
Formulação com goma xantana	7,08±1,17a	7,41±0,94a	7,14±1,18b	6,53±1,32a

Os resultados apresentados são decorrentes de médias de três repetições acompanhadas do respectivo desvio padrão. Médias com as mesmas letras minúsculas, na mesma coluna, não apresentam diferença significativa ($p > 0{,}05$) pelo Teste de Média de Tukey.

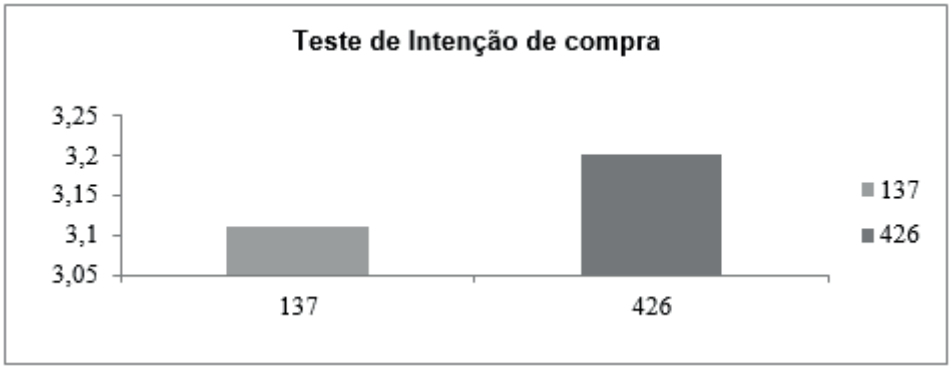
A Figura 2 ilustra os resultados obtidos para o teste de preferência das barras de cereais salgadas, formuladas utilizando-se dois diferentes agentes ligantes: goma xantana (426) e *psyllium* (137).

Figura 2. Teste de preferência para as formulações das barras de cereais salgadas utilizando diferentes agentes ligantes.



A Figura 3 mostra as pontuações relacionadas ao Teste de Intenção de compra para as barras de cereais salgadas formuladas com os agentes ligantes, Goma Xantana (426) e *psyllium* (137).

Figura 3. Notas da Intenção de compras das barras de cereais desenvolvidas com diferentes agentes ligantes.



DISCUSSÃO

Os teores de umidade das barras de cereais salgadas não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre as formulações (Tabela 2). Resultados semelhantes foram encontrados por Matssura (2005) em barras de cereais desenvolvidas com farinha de maracujá (8,00%) e Fonseca (2009) em barras de cereais a base de frutas desidratadas (7,0 a 8,0%). No entanto, valores superiores foram relatados por Júnior e colaboradores (2011), em barra de cereal adicionada de farinha de maracujá (13,03%) e fruto-oligossacarídeos (14,97%). Por outro lado, Haddad (2013) publicou valores de umidade inferiores (2,45 e 3,12%) em barras de cereais salgadas a base de granola e tomate seco utilizando amido modificado, colágeno hidrolisado e a goma acácia como agente ligante. A Resolução n°12 de 1978, do Ministério da Saúde, estabelece que produtos à base de cereais tenham o limite máximo de umidade de 15% (BRASIL, 1978), estando assim, as barras de cereais desenvolvidas de acordo com o preconizado nesta legislação.

Da mesma forma, não foi observada diferença significativa ($p>0,05$) entre as amostras para os percentuais de cinzas. Valores próximos de minerais totais foram apresentados por Estévez e colaboradores (1995) em cereais contendo gérmen de trigo, aveia e nozes (2,2%) e por Freitas e Moretti (2005) em barra de cereais sabor banana, a base de proteína de soja texturizada, gérmen de trigo e aveia, suplementada com vitaminas C e E (2,2%).

Para os teores de proteínas e lipídios a formulação com goma xantana como agente ligante apresentou valores de 25,77% e 7,75% respectivamente, sendo superiores quando comparados com a formulação com utilização de *psyllium,* cujos valores foram de 19,09% (proteínas) e 6,72% (lipídios). Em ambas formulações os teores de lipídios são inferiores aos encontrados por Haddad (2013), que encontrou teores médios de aproximadamente 11,6% em barras salgadas.

Valores de lipídios próximos (6,35% e 8,42%) aos encontrados neste estudo foram também relatados por Mello et al. (2012) em barras de cereais sabor banana com chocolate. O baixo conteúdo lipídico presente nas barras salgadas desenvolvidas refletem, consequentemente, num baixo valor energético (PHILIPPI, 2006), uma vez que contribui com 9 kcal/g, o que pode ser considerado positivo, sob o ponto de vista nutricional.

O percentual de proteínas foi maior ($p<0,05$) nas barras com goma xantana (25,77%). De acordo com a resolução RDC n° 54 de 2012, as barras elaboradas poderão ser classificadas como alimento funcional (fonte de alto conteúdo proteico), por ofertar mais de 12g de proteína/100 g de alimento (BRASIL, 2012), ou 3 gramas de proteína em 25 gramas de alimento. Dessa forma uma barra de cereal salgada de aproximadamente 25 gramas, desenvolvida no presente estudo, fornecerá aproximadamente 6,44 gramas de proteína ao consumidor e a barra elaborada com *psyllium*, fornecerá 4,77 gramas de proteínas.

Valores inferiores (15,31%) foram apresentados por Freitas e Moretti, (2006) em barras de cereais funcionais, sendo estes, segundo os mesmos autores, superiores aos produtos encontrados no mercado (4,4% de proteína). Neste contexto, é possível evidenciar que as formulações de barras de cereais salgadas desenvolvidas alcançaram resultados satisfatórios, com relação ao teor proteico.

Os percentuais de carboidratos diferem estatisticamente ($p<0,05$) entre as duas formulações, basicamente em função do agente ligante utilizado. A barra de cereais formulada com adição de goma xantana resultou em 38,31% de carboidratos, enquanto a formulação elaborada com *psyllium* atingiu um percentual de 45,65%. Esses valores são similares com valores encontrados por Haddad (2013) que em formulações de barra de cereais salgada, encontrou valores que variaram de 38,40% a 43,65%.

Dentre as variáveis avaliadas, os carboidratos foram os que apresentaram maior percentual, este fato foi também observado por Souza e Srebernich (2010), os quais afirmaram

que os carboidratos são os constituintes de maior quantidade nos alimentos à base de cereais. Valores superiores (78,10% e 79,19%) de carboidratos foram relatados por Souza e Srebernich (2010), em barra de cereais *diet* sabor maçã, utilizando como agente ligante a goma acácia. Neste sentido, observa-se que em barras salgadas, os percentuais de carboidratos não são tão pronunciados, uma vez que são isentas de açúcares.

Com relação ao teor de fibras, os resultados mostraram que não há diferença significativa entre as amostras, sendo próximos (15,47%) aos observados por Torres (2009) em barras a base de jenipapo. A diferença observada para este parâmetro certamente decorre do uso de diferentes ingredientes utilizados em cada formulação.

Gutkoski et al. (2007), relataram percentuais de fibras superiores (20,56%) aos observados neste estudo em barras de cereais a base de aveia. Da mesma forma, Haddad (2013) obteve valores superiores de fibras (39,59%) em formulações de barras de cereais salgadas. Por outro lado, Sampaio, Ferreira e Brazaca (2010) desenvolveram barra de cereais doce com conteúdo de fibras inferiores (6,01%) e Mello et al. (2012) encontraram percentuais ainda menores (0,89% a 3,60%) em barras de cereais sabor banana.

O valor calórico não diferiu estatisticamente ($p>0,05$) entre as duas formulações de barras de cereais salgadas. A barra elaborada com goma xantana apresentou valor calórico de 326,07 Kcal/100 g, enquanto que a barra formulada com *psyllium* apresentou valor calórico de 319,44 Kcal/100 g de produto.

Considerando-se que uma barra de cereais usualmente é vendida com o peso de 25 gramas, têm-se então os valores de 81,52 Kcal (goma xantana) e 79,86 Kcal (*psyllium*) para cada barra de cereais salgada. Esses valores são compreensíveis pelo fato da amostra elaborada com agente ligante *psyllium* ter apresentado menor teor de proteínas e menor teor de lipídeos, refletindo dessa forma menos calorias para o produto final.

Os resultados referentes ao valor calórico encontrados neste estudo correspondem a uma redução de aproximadamente 20% em relação ao valor calórico médio (100 kcal/25g) encontrado em barras comerciais. Esse fato constitui um fator positivo a favor das barras desenvolvidas, visto que hoje se espera do alimento o fornecimento dos nutrientes necessários para o organismo, porém com menor valor calórico.

Valores calóricos próximos a esses foram encontrados por Souza e Srebernich (2010) ao desenvolveram barras de cereais *diet*, utilizando como agente ligante a goma acácia, cujos valores variaram de 84,70 Kcal/25g a 85,20 Kcal/25g. Já as barras de cereais salgadas acrescidas de goma acácia, formuladas por Haddad (2013) apresentaram valores calóricos variando entre 67,53 Kcal/25g e 71,04 Kcal/25 gramas de produto.

Com relação a avaliação dos teores de cloreto de sódio, sólidos solúveis, pH e Aw observou-se que não foi apresentada diferença significativa entre as amostras ($p>0,05$). Esta

semelhança era esperada, considerando que as formulações foram desenvolvidas utilizando-se os mesmos ingredientes, diferindo somente na utilização do agente ligante.

Os sólidos solúveis totais permitem uma avaliação da quantidade de açúcares que estão presentes no alimento, o que explica os baixos valores de °Brix nas amostras. Em comparação as barras de cereais doces, Fonseca (2009), obteve teores de sólidos solúveis totais em torno de 50 a 60 °Brix.

Valores de pH inferiores aos observados neste estudo foram descritos por Paiva et al. (2012) em barras a base de arroz e resíduo de soja (4,58 e 5,32) e Haddad (2013) em barras salgadas (4,75 e 5,01). O pH das barras salgadas elaboradas neste estudo foram próximos a neutralidade, o que as tornam favoráveis ao desenvolvimento da maioria dos microrganismos, uma vez que estes se multiplicam em pH que variam de 6,5-7,5 (JAY, 2005).

A atividade de água (Aw) é um dos fatores intrínsecos, que avalia qualitativamente a disponibilidade de água livre em alimentos. De modo geral, os microrganismos necessitam de valores mínimos entre 0,6 a 0,7 de atividade de água para realizar suas atividades metabólicas (FONSECA 2009). Considerando esta informação, e com base nos resultados apresentados para esta variável, constatou-se que os valores de atividade de água (Aw) encontram-se no limite mínimo para manutenção da integridade microbiológica das barras de cereais elaboradas.

Com relação a coloração, as barras alimentícias não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) para o parâmetro que representa a luminosidade (L*) e para as coordenadas que definem as variações da cor verde ao vermelho (a*) e da azul ao amarelo (b*). Porém sua cor diferiu estatisticamente ($p<0,05$) com relação aos valores de C* e h*.

Os valores de luminosidade (L*) para as barras de cereais salgadas, evidenciam uma tendência de coloração em direção a tonalidade branca (mais próximos do 100) (NEIRO et al., 2013), indicando coloração clara e sem diferença significativa ($p>0,05$).

Os valores da coordenada a* indicam uma tendência de coloração para o vermelho e os valores da coordenada b* indicam tendência maior para a tonalidade amarela, conforme mostra a Figura 1.

Barras alimentícias formuladas por Haddad (2013) apresentaram valores de (L*) inferiores (25,25 e 28,57) aos encontrados neste estudo, com tendência de coloração mais escura e também com tendências a tonalidade vermelha.

O valor de C* (índice de saturação) e o valor h* (ângulo de tonalidade) diferiram estatisticamente entre as formulações. Sendo que a barra elaborada com *psyllium* apresentou menor índice de saturação (20,67) em relação a barra elaborada com goma xantana (23,71).

O ângulo de tonalidade (h*), mostrou-se maior ($p<0,05$) para a formulação com *psyllium* quando comparado a barra elaborada com goma xantana indicando maior proximidade do ângulo 90º, o que indica, também, uma maior tendência ao amarelo.

Na análise de textura, a dureza não apresentou diferença ($p>0,05$) entre as formulações de barras salgadas, indicando que não houve interferência dos diferentes agentes ligantes para esta variável.

Valores de dureza superiores (101,76 N a 158,03 N) aos observados neste estudo foram encontrados por Haddad (2013) em barras de cereais salgadas, por outro lado, Paiva (2008) apresentou valores inferiores 11,42 N e 28,53 N em barras contendo quirera de arroz e resíduo de extrato de soja e Sun-Waterhouse et al. (2009), observaram valores semelhantes (44,05 N e 64,40 N) em barras com elevados teores de fibra. A diferença de dureza observada nas diferentes barras de cereais, deve-se basicamente as especificidades de cada formulação, como a diferença de cereais (GAINES,1991; FONSECA, 2009) e dos agentes ligantes.

Para a força de cisalhamento, os valores encontrados no presente estudo, diferiram entre si ($p<0,05$) mostrando que a força cortante efetuada sobre a barra elaborada com goma xantana foi superior ($p<0,05$) a força de corte que atuou sobre a barra elaborada com *psyllium*. Os valores de força de corte encontrados neste trabalho, corroboram com os valores encontrados por Fonseca (2009) em barras de cereais formuladas a partir de frutas desidratadas (61,29 N a 62,76 N). Sun–Waterhouse e colaboradores (2009), também encontraram valores de força próximos (44,05 N a 60,00 N) em barras de cereais enriquecidas com fibras e compostos fenólicos.

Os resultados das análises microbiológicas (Tabela 6) demonstraram que as barras de cereais avaliadas se encontram de acordo com a resolução RDC n°12/ 2001, e aptas para o consumo humano, indicando boas práticas de produção no desenvolvimento do produto.

Os resultados da análise sensorial das barras de cereais salgadas, não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) para os atributos de aparência global, cor e sabor. No entanto, o atributo textura, mostrou diferença ($p<0,05$) com maior pontuação para a barra constituída com goma xantana, indicando maior crocância. Valores de textura inferiores (4,08 a 5,29 foram apresentados por Freitas e Moretti (2006) em barras de cereais funcionais.

Das formulações desenvolvidas, a maior preferência foi aquela onde se empregou a goma xantana como agente ligante (426) (Figura 2). Esta preferência pode ser explicada por diversos fatores, entre os quais: maior ou menor consumo de barra de cereais; diferença de agente ligante; preferência por alimentos mais crocantes, influência da cor e sabor ou ainda pelo consumo de algum alimento antes da análise (os quais alteram o sabor das barras, influenciando desta forma a avaliação dos julgadores) (NOVELLO, 2012).

O teste de intenção de compra, consequentemente, também foi maior para a formulação elaborada com a goma xantana (Figura 3). As pontuações de intenção de compra ficaram entre 3,1 (barra com *Psyllium* – 137) e 3,2, (barra com goma xantana – 426), o que de acordo com a escala utilizada no teste corresponde ao nível 3: "Talvez comprasse, talvez não comprasse', demonstrando a indecisão do consumidor no que diz respeito a aquisição deste alimento.

Apesar das pontuações de intenção de compra representarem a indecisão do consumidor na aquisição do produto, os resultados demonstraram que existe uma procura por alimentos saudáveis, porém o consumo de barras de cereais de sabor salgado ainda não é habitual entre os participantes do teste.

CONCLUSÃO

No presente estudo foi possível constatar que as barras de cereais desenvolvidas apresentam considerável teor de fibras e de proteínas. As formulações adicionadas de goma xantana como agente ligante apresentaram maior conteúdo protéico e lipídico enquanto que as barras elaboradas com *psyllium* apresentaram maior teor de fibra bruta e menor valor calórico. Os diferentes agentes ligantes utilizados nas formulações das barras de cereais salgadas não diferiram nos parâmetros de cor instrumental (L*, a* e b*) e textura (dureza). Microbiologicamente as formulações se apresentaram aptas para o consumo humano. Os testes sensoriais indicaram maior preferência e aceitação para a barra de cereais salgada elaborada com goma xantana.

REFERÊNCIAS

1. AOAC– **Association of Official Analytical Chemists.** Official methods of analysis.18th ed. Gaitherburg, 2005.
2. BARBOSA, M. Na onda da barra. Com uma gestão alternativa e um produto campeão de vendas, Nutrimental afasta a crise e volta a ser uma empresa saudável, 2003 Disponível em: http://www.terra.com.br/istoedinheiro/224/negocios/224_na_onda_da_barra.htmAcesso em 10 de outubro de 2014.
3. BLIGH. E.G.; DYER.W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry**, v. 37, 911-917, 1959.
4. BOURNE, M.C. **Texture profile analysis**. Food Technology. v. 32, n. 7, p. 62-72. 1978
5. BRANDÃO, L. V. **Produção e caracterização reológica de goma xantana obtida por fermentação de caldo de cana e soro de mandioca em diferentes escalas.** Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Programa de pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2008.

6. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 24 de julho de 1978. Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde aprova o regulamento técnico sobre padrões de identidade e qualidade relativos a alimentos e bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasi**l. Brasília, 24 jul. 1978.

7. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 janeiro de 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasi**l. Brasília, 10 jan. 2001.

8. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003. Agência Sanitária do Ministério da Saúde dispõe sobre regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados.**Diário Oficial da República Federativa do Brasil**; Brasília, 26 dez. 2003.

9. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 54, de 12 novembro de 2012. Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da República Federativa do Brasi**l. Brasília. 13 nov. 2012.

10. CECCHI, H.M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Campinas, SP. Editora da UNICAMP. 1999. 211p.

11. ESTÉVEZ, A.M.; ESCOBAR, B.; VÁZQUEZ, M.; CASTILLO, E.; ARAYA, E.; ZACARÍAS, Cereais and nut bars, nutritional quality and storage stability. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 47, n. 4, p. 309-317, 1995.

12. FARIA, S. Produção de goma xantana empregando caldo de cana por Xanthomonas campestris pv campestris NRRL B-1459. Dissertação - (Mestrado em Engenharia Química), Curso de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.

13. FONSECA, K.S. **Desenvolvimento de barras alimentícias à base de frutas desidratadas.**2009. 51 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia Agronômica) – Universidade Estadual de Montes Claros. Janaúba – MG, 2009.

14. FREITAS, D.G.C.; MORETTI, R. H. Barras de cereais elaboradas com proteína de soja e gérmen de trigo, características físico-químicas e textura durante o armazenamento. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición,** v. 55, p.299-304, 2005.

15. FREITAS D.G.C.; MORETTI, R.H. Caracterização e avaliação sensorial de barra de cereais funcional de alto teor protéico e vitamínico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 26, n. 2, p. 318-324, 2006.**

16. GAINES, C.S. Instrumental measurement of the hardness of cookies and crackers. **Cereais Foods World**, v.36, p. 989-991. 1991.

17. GUTKOSKI, L.C.; BONAMIGO, J.M.; de A., TEIXEIRA, D.M.; de A. et al. Desenvolvimento de barras de cereais à base de aveia com alto teor de fibra alimentar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p.355-363, 2007.

18. HADDAD, F.F.; **Barras alimentícias de sabor salgado com diferentes agentes ligantes: aspectos tecnológico, sensorial e nutricional.** 154 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Lavras - MG, 2013.

19. HOJJATOLESLAMY, M.; RAISI, F.; NARGES SAMANIAN, N. Rheological properties of the gum fractions from psyllium (Plantago psyllium L.) Mohammad. Journal of herbal drugs, v. 4, n. 2, p. 69–74, 2013.

20. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p

21. JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6a. ed., Artmed: Porto Alegre, 2005.

22. JUNIOR, S.R.; PATROCINIO, I.M.; PEÑA, W.E.L.; JUNQUEIRA, M.S.; TEIXEIRA,

23. L.J.Q. **Desenvolvimento de barra de cereais salgada enriquecida com farinha de albedo de maracujá.** Engenharia de Alimentos – Universidade Federal do Espírito Santo, 2011.

24. LIMA, A.C. **Estudo para a agregação de calor aos produtos de caju: elaboração de formulações de frutas e castanha em barras.** Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas, SP. 2004.

25. MARTINAZZO, A.P. Secagem, armazenamento e qualidade de folhas de Cymbopogoncitratus (D.C.) Stapf. 2006. 156p. Tese (doutorado). Viçosa, MG.

26. MATSUURA, F.C.A.U. **Estudo do albedo de maracujá e de seu aproveitamento em barra de cereais.** Tese de doutorado, UNICAMP, Campinas, SP, Brasil, 2005.

27. MEDEIROS, A. S.; MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, C. T.; CONCEIÇÃO, J. J.; VENDRUSCOLO, J. L. Influência do método de recuperação e purificação de xantana produzida por Xanthomonas campestris pv pruni cepa 06. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** v. 3, p. 9-29, 2000.

28. MELO, D.L.R.; NAVARRO, A.C.; NAVARRO, F. Elaboração de barras de cereais salgada para praticantes de atividade física. Periódico do Instituto Brasileiro de Pesquisa e Ensino em Fisiologia do Exercício. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 4, n. 19, p. 50-58, 2010.

29. MELLO, A.V.; CASSIMIRO, T.A.S.; POSPISCHEK, V.S. et al.; Avaliação da composição centesimal e da rotulagem de barras de cereais. **e-Scientia**, v. 5, n 2, p. 41- 48. 2012.

30. NEIRO, E.S.; NANNI, M.R.; ROMAGNOLLI, F. Campos, R.M.; Cezar, E.; Chicati, M.L.; Oliveira, R.B. **Análise de cor para discriminação de seis variedades de cana de açúcar em quatro épocas de colheita no ano**. Anais XVI – Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. Foz do Iguaçu – PR – Brasil. 2013.

31. NOVELLO, D.; CONTO, L.C.; Campagnol, P.C.; Sewaybricker, M.V.; Lopes, J.D.; Suzart, C.A.G.; Gonçalves, P.; Anaruma, R.J.; Gomes, C.L.; Godoy, V.P.; Dias, B.M.; Biasutti, E.A.R.; Costa, P.; Fernandez, S.; Bolini, H.M.A. Perfil sensorial e teste de consumidor de biscoito wafer tipo tradicional, light e diet sabor chocolate. **Ambiência,** v.8, n.2, p. 245 – 258, 2012.

32. PAIVA, A. P. BARCELOS, M.F.P.; PEREIRA, J.A.R.; FERREIRA, E.B.; CIABOTTI, S. Characterization of food bars manufactured with agroindustrial by-products and waste. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 36, n. 3, p, 333-340, 2012.

33. PHILIPPI, S.T. **Óleos e gorduras**. In: PHILIPPI, S. T. Nutrição e técnica Dietética. 2. ed. Barueri: Ed. Manole, 2006. cap. 13, p. 163-172

34. SAMPAIO, C.R.P.; FERREIRA, S.M.R.; BRAZACA, S.G.C. Caracterização físico-química e composição de barras de cereais fortificadascom ferro**. Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 4, p. 607-616, 2010.

35. SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, E.C. **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. Campinas: CETEA/ITAL, p. 215. 2001.

36. SIQUEIRA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.

37. SIMÕES, L.V.S.; **Composição Nutricional e elaboração do biscoito e da barra de cereais do fruto de Tucumã (Astrocaryum vulgare mart).** 59 f. Dissertação (Mestrado). Lisboa. Universidade Nova Lisboa. 2010.

38. SOUZA, N.A.; SREBERNICH, S.M. **Avaliação físico-química e determinação do valor nutricional de barras de cereais diet utilizando como agente ligante goma acácia.** Anais do XV Encontro de Iniciação Científica da PUC-Campinas. 2010.

39. STATISTICA. **Statistica 5.0 Software.** StaSoft, Tucksa, 2007.

40. SUN-WATERHOUSE, D.; TEOH, A.; MASSAROTTO, C.; WIBISON, R.; WADHWA, S. Comparative analysis of fruit-based functional sanks bars. **Food Chemistry,** v.119, n. 4, p. 1369-1379, 2009.

41. TORRES, E.R; **Desenvolvimento de barra de cereais formuladas com ingredientes regionais.** 2009.78p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) – Universidade Tiradentes, Aracaju, 2009

42. URVESH. 2005. Disponível em: <http://www.urvesh.com>. Acesso em: 04 de fevereiro 2020.

02

Assessment of metallic elements contents in Brazilian seasonings by atomic spectrometry

- Náira da Silva **Campos**
  UFJF
- Céphora Maria **Sabarense**
  UFJF
- Rafael Arromba de **Sousa**
  UFJF

doi 10.37885/201102268

ABSTRACT

The concentrations of Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na and Zn in 15 samples of spices from different brands commercially available in Brazil were determined by flame or graphite furnace atomic absorption spectrometry and flame emission spectrometry, after microwave-assisted digestion. The concentration range for the metallic elements were found to be as 344-9,700 (Ca), below limit of detection (BLOD)-0.816 (Cr), 16-201 (Fe), 701-22,153 (K), 749-15,543 (Mg), 46-268,545 (Na), BLOD-81 (Zn) mg kg^{-1} for Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na and Zn, respectively. Differences from 47 to 98 % were observed for metallic elements levels among different brands (n= 3). The industrialized ready-to- eat spices showed the highest Na levels among the samples studied. Sodium levels per day may achieve from 40 to 60 % of World Health Organization recommendation (below 2000 mg) if 5g of ready-to-eat spices are employed in food preparation.

Keywords: Spices, Seasonings, Metals, Microwave Digestion, Atomic Spectrometry.

INTRODUCTION

Used as bargaining chip in ancient times, spices are historically and culturally important products. Specific combinations of spices characterize the cuisine of a people or region. French cuisine has Provence Herbs, a combination of oregano, thyme, marjoram, savory and rosemary. Another example is Masala, in Indian cuisine, which can vary in composition according to the region of production uses, essentially, black pepper, cumin, anise, cinnamon and cloves (REINHOLDS; BARTKEVICS; SILVIS; VAN RUTH *et al*., 2015; CHAN; GAN; SHAH; CORKE, 2018).

Spices are defined as products containing parts of one or more plant species used to add flavor or aroma to food and drinks (BRASIL, 2005a). They can be employed in whole, ground or broken forms. In addition, these seasonings can replace table salt in food preparation, helping to reduce sodium intake (INGUGLIA; ZHANG; TIWARI; KERRY et al., 2017; MOHAMED, 2014).

According to literature, these seasonings may contain metallic elements such as Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, and Zn in different levels (LEMOS; SANTOS; BEZERRA, 2010; KHAN; CHOI; NHO; HABTE et al., 2014; SEDDIGI; KANDHRO; SHAH; DANISH et al., 2016; DONG; ZHANG; ZHAO; ZUO et al., 2017; TEFERA; CHANDRAVANSHI, 2018; TOKALIOGLU; CICEK; INANC; ZARARSIZ et al., 2018), detected by using spectrometric techniques such as atomic emission and absorption. These metals play important and essential functions in human organism (RENGEL, 1999). Thus, it is useful to know their levels in foodstuff.

However, as attested by chemical analysis, plant materials are complex samples, rich in organic compounds such as proteins, fibers, sugar, essential oils, etc. (TOKALIOGLU; CICEK; INANC; ZARARSIZ et al., 2018; KORN; MORTE; DOS SANTOS; CASTRO et al., 2008). In order to extract metallic elements from these matrices, comprehensive methods such as wet digestion by heating plates (SEDDIGI; KANDHRO; SHAH; DANISH et al., 2016) or digesting blocks levels (LEMOS; SANTOS; BEZERRA, 2010) as well as microwave assisted digestion are usually employed (KORN; MORTE; DOS SANTOS; CASTRO et al., 2008; DONG; ZHANG; ZHAO; ZUO et al., 2017; TOKALIOGLU; CICEK; INANC; ZARARSIZ et al., 2018).

In this study, the concentrations of the main macro (Ca, K, Mg, Na) and micronutrients (Cr, Fe and Zn) were determined in 15 samples of spices from different brands commercialized in some regional Brazilian supermarkets. The optimized analytical method involved an acid digestion assisted by microwave radiation followed by detection by atomic spectrometry techniques. F AAS was used for Ca, Fe, Mg and Zn while GF AAS was used for Cr determinations. For the easily ionized elements (Na and K) the Flame Photometry was employed. Since the proposed method showed good accuracy and precision, it was applied for the

analysis of some selected samples whose results were relevant in relation to Na, found in highest levels in industrialized samples.

MATERIALS AND METHODS

Samples acquirement

In this study, 15 samples of spices from different brands were purchased on local supermarkets in Brazil. The spices selection was based on the Brazilian culture and consumption (BRASIL, 2014); they were: garlic (n=3; codes: A1, A2, A3), bay (n=3; codes: L1, L2, L3) and black pepper (n=3; codes: P1, P2, P3). Ready-to-eat spices usually employed in Brazil were also considered and analyzed. Selected types of ready- to-eat spices were those indicated for meat preparation (n=3; codes: TC1, TC2, TC3) and for beans preparation (n=3; codes: TF1, TF2, TF3).

The samples were individually ground with a domestic mixer, placed in plastic flasks (previously decontaminated) and stored at room temperature (25 °C). For optimization steps, two test samples were prepared by mixing approximately 2g of the samples, one for spices (code ME) and other for ready-to-eat spices (code MTP).

Microwave-assisted digestion

Microwave-assisted acid digestion was employed to determine the total contents of Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na and Zn. in the seasoning samples. Briefly, 200 mg of each sample was accurately weighted in PTFE vessels and mixed with 6.00 mL of 14 M HNO_3 solution. After overnight pre-digestion, the samples were digested on a microwave oven according the conditions shown in Table 1.

Table 1. Heating program employed to seasonings microwave-assisted digestion

Step	Temperature(°C)	Ramp (min)	Time (min)	Power* (%)
1	145	5	5	60
2	170	5	10	70
3	190	5	15	80
4	50	1	10	0

*Maximum power applied 1200 W

Clear solutions were obtained and quantitatively transferred to volumetric vials. The volume was made up to 25.00 mL using deionized water and the solutions were stored under room temperature (± 25 °C) until analysis.

Apparatus and Reagents

The materials employed in this work were washed using neutral soap and decontamination with 10 % (w/w) nitric acid for 24 h. Deionized water (Elga Veolia, High Wycombe, UK) was employed to prepare all the analyzed solutions.

The calibration standard solutions were prepared using 1000 mg L^{-1} monoelementary solutions (Qhemis High Purity, Jundiai, SP, Brazil) of Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na and Zn. The ranges of concentrations evaluated were: 1.0 -10 μg L^{-1} (Cr); 0.060 – 0.5 mg L^{-1} (Mg); 0.25-4.0 mg L^{-1} (Ca, Fe and Zn); 50 – 40 mg L^{-1} (K and Na). In addition, a 1000 mg L^{-1} Li solution was employed to evaluate its use as an internal standard for K and Na determination by flame atomic emission spectrometry (F AES) at a concentration of 5 mg L^{-1} in the samples solutions. For these determinations, carried out in the Plame Photometer (DIGIMED DM61, São Paulo, Brasil), liquefied gas was used as fuel gas (Flow rate: 5 mL min^{-1}).

A Thermo Scientific atomic absorption spectrometer, model SOLAAR M5 (Waltham, MA, USA) equipped with deuterium background corrector was employed to Ca, Cr, Fe, Mg and Zn determinations. A conventional graphite furnace with longitudinal heating (HGA) was used for Cr determinations. Pyrolysis and atomization curves were obtained to selected optimal conditions for this element and the measurements were made by integrated absorbance units. Table 2 shows the optimized parameters for F AAS/ GF AAS determinations.

Table 2. Instrumental conditions for the analytes determined by AAS (flame or graphite furnace modes)

Element	Wavelength (nm)	Bandpass (nm)	Lamp current (mA)	Burner height (mm)	Gas mixture	C_2H_2 or Ar flow rate L min^{-1}
Ca[a]	422.7	0.5	6	11.0	N_2O/ C_2H_2	4.0
Cr[b]	357.9	0.2	6	-	Ar	0.2
Fe[a]	248.3	0.2	6	7.0	air/ C_2H_2	1.2
Mg[a]	285.2	0.5	4	7.0	air/ C_2H_2	1.2
Zn[a]	213.9	0.2	5	7.0	air/ C_2H_2	1.1

[a] Determined by F AAS
[b] Determined by GF AAS

Figures of Merit

Method accuracy was evaluated following IUPAC recommendations IUPAC (IUPAC, 2014; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002). The analysis of a certified reference material (NIST 1573a-tomato leaves) and addition and recovery experiments at two concentration levels were performed. Level 1: Ca, Fe, Mg and Zn: 0.25 mg L^{-1}, Cr: 2.0 μg L^{-1}, K and Na: 5.0 mg L^{-1}; Level 2: Ca, Fe, Mg and Zn: 4.0 mg L^{-1}, Cr: 10 μg L^{-1}, K and Na: 30 mg L^{-1}. Precision was assessed by relative standard deviation (RSD) calculation. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were also calculated as the IUPAC (IUPAC, 2014)

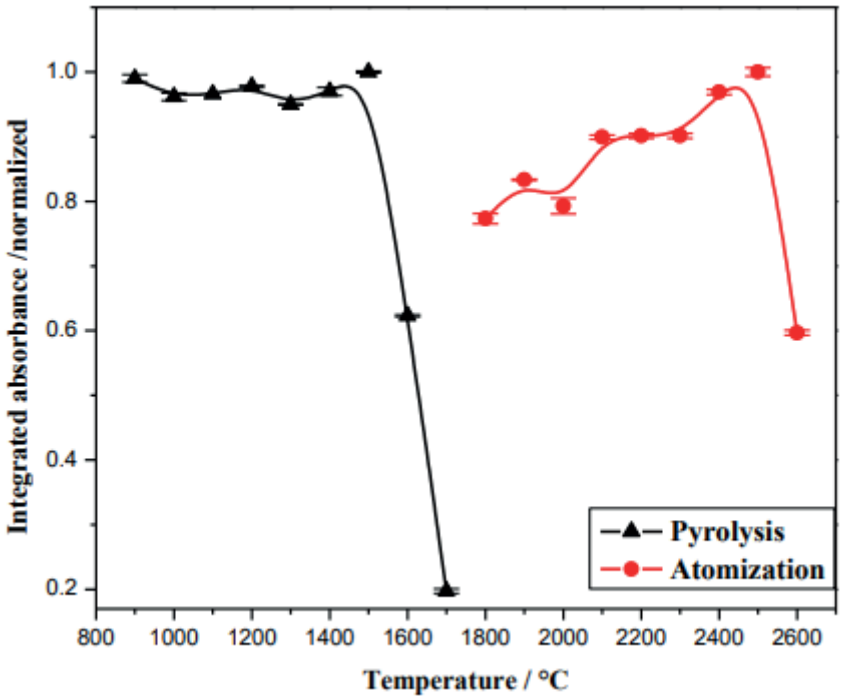
recommendations: LOD = 3sB/S and LOQ = 10sB/S, in which sB is the standard deviation of the linear regression coefficient and S is the slope of the respective analytical curve. The internal standard calibration was employed to determine K and Na in the samples by F AES. Lithium was added in the standards and samples solutions at final concentration of 5.0 mg L^{-1}. Additionally, parametric statistical tools (ANOVA) was also employed to evaluate the studied linear working range (NETO; SCARMINO; BRUNS, 2007). All the measurements were performed in authentic triplicate. To provide a measurement for the sensitivity for each element determined by AAS under the selected conditions, the characteristic concentration (C_0) or mass (m_0) approaches were calculated (WELZ, 1999).

RESULTS AND DISCUSSION

GF AAS optimization for Cr determination

The pyrolysis and atomization curves obtained for Cr determination in ME sample are shown in figure 1.

Figure 1. Pyrolysis (▲) and atomization (●) curves for Cr determination in ME sample (n=3)



The temperatures were selected based on integrated absorbance signal as well as the atomization peaks. Table 3 shows the heating program employed for GF AAS analysis. Pyrolysis temperature was 1500 °C, since this temperature presented the highest integrated absorbance. Thus, the atomization curve was obtained after fixing the pyrolysis temperature at 1500 °C. The optimum atomization temperature was determined as 2500 °C. The heating

program obtained for ME sample was employed to Cr determination in the 15 samples acquired for this work.

Table 3. Heating program used to determine Cr in spices and ready-to-eat spices by GF AAS

Step	Temperature (°C)	Ramp (°C s^{-1})	Hold (s)	Ar flow rate (mL min^{-1})
Drying	100	10	30	200
Pyrolysis	1500	150	20	200
Atomization	2500	0	3	0
Clean up	2600	0	3	200

Figures of merit

ANOVA was applied to verify the fit model of the calibration curves within 95 % confidence interval (NETO; SCARMINO; BRUNS, 2007). Statistical assumptions such as lack of fit, heterocedasticity and residues normality were also evaluated. There is no evidence of heterocedasticity of data or absence of residues normality. In addition, there is no evidence of lack of fit for the adjusted models obtained for the analytes determined. In this sense, the adjusted models can be employed to obtain the metals concentrations in the samples (NETO; SCARMINO; BRUNS, 2007).

The accuracy of the method was evaluated by addition and recovery experiments and the results obtained are shown in Tables 4 and 5, for test samples ME and MTP, respectively. For ME sample, the recoveries were ranged from (94 ± 1) to (107 ± 3) %, for Fe and K, respectively, showing a good accuracy of the digestion method. Similarly, the recoveries obtained for MTP sample were ranged from (91 ± 3) to (109 ± 4) %, for Zn and Na, respectively, also showing a good accuracy (THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002).

Table 4. Recovery values obtained for Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na and Zn after microwave- assisted acid digestion of the ME sample (n=3)

Analyte	Total content[a], mg kg^{-1}	Recovery[b] %	
		Level 1	Level 2
Ca	6,445 ± 90	98 ± 1	104 ± 1
Cr	1.88 ± 0.27	99 ± 2	102 ± 2
Fe	337 ± 5	94 ± 1	102 ± 6
K	20,842 ± 40	99 ± 2	107 ± 3
Mg	2,435 ± 61	102 ± 1	105 ± 1
Na	634 ± 15	95 ± 2	98 ± 1
Zn	36 ± 3	104 ± 1	94 ± 3

[a]Total content = (average ± 95% confidence interval)
[b] Recovery = $[(C_{found} - C_{real}) / C_{add}] \times 100$
Level 1: Ca, Fe, Mg and Zn: 0.25 mg L^{-1}, Cr: 2.0 μg L^{-1}, K and Na: 5.0 mg L^{-1} Level 2: Ca, Fe, Mg and Zn: 4.0 mg L^{-1}, Cr: 10 μg L^{-1}, K and Na: 30 mg L^{-1}

Table 5. Recovery values obtained for Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na and Zn after microwave- assisted acid digestion of the MTP sample (n=3)

Analyte	Total content[a], mg kg^{-1}	Recovery[b] %	
		Level 1	Level 2
Ca	1,889 ± 9	101 ± 1	105 ± 1
Cr	< LOQ[c]	96 ± 3	98 ± 2
Fe	9.0 ± 1.4	97 ± 1	92 ± 6
K	8,467 ± 42	103 ± 3	102 ± 1
Mg	232 ± 13	96 ± 3	99 ± 2
Na	239,372 ± 3	93 ± 2	109 ± 4
Zn	< LOQ[d]	92 ± 2	91 ± 3

[a]Total content = (average ± confidence interval)
[b]Recovery = [(C_{found} – C_{real}) / C_{add}] × 100
[c]LOQ Cr = 0.061 mg kg^{-1} [c]LOQ Zn = 27 mg kg^{-1}
Level 1: Ca, Fe, Mg and Zn: 0.25 mg L^{-1}, Cr: 2.0 μg L^{-1}, K and Na: 5.0 mg L^{-1} Level 2: Ca, Fe, Mg and Zn: 4.0 mg L^{-1}, Cr: 10 μg L^{-1}, K and Na: 30 mg L^{-1}

The accuracy of the digestion method was also evaluated by analysis of a certified reference material (NIST 1573a-tomato leaves) and the results are shown in Table 6.

Table 6. Contents and recoveries for Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na and Zn in certified reference material (NIST 1573a-tomato leaves) after microwave-assisted acid digestion (n=2)

Analyte	Reported value	Found value	Recovery[d] %
Ca	5.05 ± 0.09[c]	4.79 ± 0.27[c]	95 ± 1
Cr	1.99 ± 0.06[b]	1.87 ± 0.04[b]	94 ± 2
Fe	368 ± 7[b]	347 ± 14[b]	94 ± 1
Mg	1.20 ± 0.10[c]	1.19 ± 0.02[c]	99 ± 1
Na	136 ± 4[b]	134 ± 1[b]	99 ± 1
Zn	30.9 ± 0.7[c]	28.83 ±1.81[c]	93 ± 1

[a]Total content = (average ± 95% confidence interval)
[b] Reported value as mg kg^{-1} [c] Reported value as % m/m
[d]Recovery = [(C_{found} – $C_{reported}$) / C_{added}] × 100

Recovery values were ranged from (93 ± 1) % to (99 ± 1) % for Zn and both Mg and Na, respectively. A Student t-test with grouped variance was employed and a very good agreement between the determined and certified values was achieved (t_{table}: Ca: 2.211; Cr: 2.183; Fe: 2.921; Mg: 0.236; Na: 0.961; Zn: 2.453; $t_{table\ (3;\ 0,025)}$ = 3.182). The comparison between the t values indicated that the proposed method presents adequate accuracy, with an analytical error smaller (or equal) to 5 % (THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002)

The other validation parameters are listed in table 7. The method LOD and LOQ were ranged from 0.02 to 20 mg kg^{-1} and, from 0.06 to 69 mg kg^{-1}, for Cr and K, respectively, showing good detectability for the analytes in this kind of sample. Characteristic mass value obtained for Cr was 2.13 pg, close to reported values from literature [9, 19, 20]. Characteristic concentrations values for the other analytes were ranged between 0.006 and 0.09 mg L^{-1} for Mg and Fe, respectively, showing good sensitivity of the proposed method (WELZ, 1999).

Table 7. Analytical figures of merit for the developed method: LOD, LOQ, characteristic concentration (C_0), equation curves and coefficients of determination

Analyte	Curve equation	R2	LOD mg kg^{-1}	LOQ mg kg^{-1}	C_0 mg L^{-1}
Ca	A = 0.2114 [Ca] + 0.032	0.9941	0.25	0.81	0.04
Cr	A = 0.0412 [Cr] + 0.0174	0.9966	0.018	0.061	2.13*
Fe	A= 0.0512 [Fe] - 0.0038	0.9962	2.0	6.8	0.09
Mg	A = 0.6864 [Mg] + 0.0076	0.9989	0.074	0.248	0.006
K	A = 0.9849 [K] -0.3756	0.9960	20	69	-
Na	A = 0.9585 [Na] - 0.2248	0.9950	18	60	-
Zn	A = 0.2114 [Zn] + 0.032	0.9941	8.1	27	0.04

*2.13 picograms (in this case the value corresponds to the characteristic mass – GF AAS)

In conclusion, all these results show that the both sample preparation and instrumental determination can be employed to analyze spice samples with good accuracy and precision (WOOD, 2002; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002)

METHOD APPLICATION

The digestion method was applied to the sample set and the obtained concentrations of Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na and Zn are shown in table 8.

Table 8. Total contents of Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na and Zn determined in the spice samples after microwave-assisted acid digestion (n=3)

		Total content[a] mg kg^{-1}						
Sample	Code	Ca	Cr	Fe	K	Mg	Na	Zn
Garlic	A1	748 ± 90	0.356 ± 0.031	45 ± 2	13282 ± 93	7659 ± 92	501 ± 52	26 ± 1[b]
	A2	601 ± 19	0.597 ± 0.029	39 ± 1	14887 ± 12	11605 ± 40	606 ± 18	11 ± 1[b]
	A3	832 ± 70	0.589 ± 0.019	48 ± 1	13669 ± 225	9680 ± 64	739 ± 10	14 ± 1[b]
Bay	L1	9543 ± 76	0.503 ± 0.005	63 ± 1	4792 ± 34	8611 ± 111	46 ± 1[b]	47 ± 1
	L2	9700 ± 36	0.661 ± 0.016	201 ± 5	6991 ± 52	13030 ± 172	286 ± 29	50 ± 1
	L3	5634 ± 89	0.816 ± 0.019	163 ± 17	7434 ± 71	10848 ± 57	47 ± 5[b]	54 ± 8
Black pepper	P1	4100 ± 32	0.261 ± 0.013	138 ± 12	12601 ± 115	15543 ± 138	193 ± 17	9 ± 1[b]
	P2	3993 ± 30	0.364 ± 0.022	69 ± 6	14411 ± 122	16531 ± 36	185 ± 1	51 ± 3
	P3	4341 ± 23	0.699 ± 0.014	87 ± 9	12086 ± 163	17865 ± 76	175 ± 18	81 ± 5
Ready-to-eat spice for meat	TC1	5989 ± 2	0.021 ± 0.003[b]	38 ± 1	22153 ± 57	3268 ± 137	268545 ± 136	<LOD
	TC2	531 ± 12	0.092 ± 0.005	16 ± 1	701 ± 35	1210 ± 47	162788 ± 842	64 ± 5
	TC3	2068 ± 16	0.061 ± 0.003	62 ± 1	4465 ± 86	5530 ± 39	161406 ± 337	27 ± 4
Ready-to-eat spice for beans	TF1	459 ± 28	< LOD	27 ± 2	870 ± 28	1451 ± 83	185310 ± 834	<LOD
	TF2	344 ± 62	< LOD	17 ± 1	722 ± 10	749 ± 22	158959 ± 123	<LOD
	TF3	961 ± 24	0.118 ± 0.005	30 ± 1	3260 ± 79	3509 ± 74	162028 ± 211	<LOD

[a]Total content = (average ± 95% confidence interval)
[b]Estimated concentration(value between LOD and LOQ)
[c]LOD: 0.018 and 8.1 mg kg^{-1} for Cr and Zn, respectively

All the analyses were made in triplicate and the results showed good precision with a maximum RSD value below 13 % (WOOD, 2002; THOMPSON; ELLISON STEPHEN; WOOD, 2002)

The found levels in the analyzed samples are similar with those reported in other studies (LEMOS; SANTOS; BEZERRA, 2010; KHAN; CHOI; NHO; HABTE et al., 2014; SEDDIGI; KANDHRO; SHAH; DANISH et al., 2016; DONG; ZHANG; ZHAO; ZUO et al., 2017; TEFERA; CHANDRAVANSHI, 2018; TOKALIOGLU; CICEK; INANC; ZARARSIZ et al., 2018). On the other hand there are no reported studies regarding the determination of metallic elements in ready-to-eat spices, as far as we know. This work may provide reliable and update information about this topic.

Regarding the values found, great differences were observed for metallic contents in spices from different brands. In garlic and black pepper samples, the variations of Zn contents were equal to 47 and 77 %, respectively. For bay samples, a variation of 50 % was observed for Fe. For ready-to-eat spices, however, the greatest variations were observed for the Ca (98 %) and K (88 %) contents between different brands.

The descending concentration order of the analytes for garlic and bay samples was K> Mg> Ca> Na> Fe> Zn> Cr; for black pepper the order was Mg> K> Ca> Na> Fe> Zn> Cr. For ready-to-eat spices the contents ascending order was Na> K> Ca> Mg> Zn> Fe> Cr and Na> Mg> K> Ca> Fe> Cr> Zn, indicated for meat and bean preparation, respectively. Comparing such results, the ready-to-eat spices show the highest Na levels among the studied sample set, which may be worrying in cases of cardiac diseases (WHO, 2012a).

With regard to food consumption, a food may be considered a nutrient source when it provides at least 15 % of the recommended daily intake (RDI) (BRASIL, 2005b; PHILIPPI, 2014). RDI values for Ca, Cr, Fe, Mg and Zn, for adults, are equal to 1000 mg, 35 mg, 14 mg, 260 mg, and 7 mg, respectively. Considering the consumption of 1 g, despite if is natural or industrialized, the 15 analyzed samples cannot be considered a source of the others determined micronutrients. Additionally, the World Health Organization recommends a daily Na consumption below 2000 mg, and considering the consumption of 5g of the ready-to-eat spices, the Na levels on the diet may achieve from 40 to 60 % of this value, which may be worrying (OTT; KOPP; DAHLMANN; SCHMID *et al.*, 2018).

CONCLUSIONS

In this study, Ca, Cr, Fe, K, Mg, Na and Zn concentrations in different brands of 15 spice samples from Brazil were determined by atomic spectrometry techniques after a sample preparation employing digestion with acid and microwave radiation. Regarding the results, ready-to-eat spice samples showed the greatest Ca and K variations while Fe and Zn showed significant variations for spice samples.

The ready-to-eat spices showed the greatest levels of Na, which may be worrying for cardiac patients depending on their consumption. Finally, the samples set showed that natural

spices presented low sodium concentrations and can be an interesting alternative in relation to ready-to-eat spices, whose use has growing in food preparation.

Acknowledgments

The authors would like to thank Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERENCES

1. BRASIL. Resolução RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005a. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 378 , 23 set. 2005. https://www.gov.br/agricultura/pt- br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e- bebidas/resolucao-rdc-no-276-de--22-de-setembro-de-2005.pdf/view

2. BRASIL. Resolução RDC n.º 269, de 22 de setembro de 2005b. **Diário Oficial da União:** seção 1, Brasília, DF, p. 372 , 23 set. 2005. https://www.gov.br/agricultura/pt- br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e- bebidas/resolucao-rdc-no-269-de-22-de-setembro-de-2005.pdf/view

3. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2. ed., 1. reimpr. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014. https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf

4. BUA, D. G.; ANNUARIO, G.; ALBERGAMO, A.; CICERO, N., DUGO, G. Heavy metals in aromatic spices by inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Food Additives & Contaminants Part B-Surveillance**, v. 9, n. 3, p. 210-216, 2016. doi: 74 10.1080/19393210.2016.1175516.

5. CHAN, C. L.; GAN, R. Y.; SHAH, N. P.; CORKE, H. Polyphenols from selected dietary spices and medicinal herbs differentially affect common food-borne pathogenic bacteria and lactic acid bacteria. **Food Control**, v. 92, p. 437-443, 2018. doi: 79 10.1016/j.foodcont.2018.05.032.

6. DONG, X. L.; ZHANG, J.; ZHAO, Y. L.; ZUO, Z. T. WANG, Y.Z., ZHANG, J.Y. Multivariate analyses of major and trace elements in 19 species of herbs consumed in Yunnan, China. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 7, p. 1666-1676, 84 2017. doi: 10.1080/10942912.2016.1217009.

7. EFTEKHARI, M. H.; MAZLOOMI, S. M.; AKBARZADEH, M.; RANJBAR, M. Content of toxic and essential metals in recrystallized and washed table salt in Shiraz, 115

8. Iran. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 12, n. 1, p. 10, 2014. doi: 10.1186/2052-336X-12-10.

9. INGUGLIA, E. S.; ZHANG, Z. H.; TIWARI, B. K.; KERRY, J. P., BURGESS, C. M. Salt reduction strategies in processed meat products - A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 59, p. 70-78, 2017. doi: 10.1016/j.tifs.2016.10.016.

10. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology. Prague: IUPAC; 2014. https://goldbook.iupac.org/

11. KHAN, N.; CHOI, J. Y.; NHO, E. Y.; HABTE, G., JAMILA, N., HONG, J. H., RYU, K. Y., PARK, K. S., KIM, K. S. Determination of macronutrients in spices by Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 47, n. 14, p. 2394-2405, 2014. doi: 10.1080/00032719.2014.908384.

12. KORN, M. D. A.; MORTE, E. S. D.; DOS SANTOS, D.; CASTRO, J. T., BARBOSA, J.T.P., TEIXEIRA, A.P., FERNANDES, A.P., WELZ, B., DOS SANTOS, W.P.C., DOS SANTOS, E.B. G.N., KORN, M. Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods - A review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, n. 2, p. 67-92, 2008. doi: 10.1080/05704920701723980.

13. LEMOS, V. A.; SANTOS, L. N.; BEZERRA, M. A. Determination of cobalt and manganese in food seasonings by flame atomic absorption spectrometry after preconcentration with 2-hydroxyacetophenone-functionalized polyurethane foam. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 3, p. 277-281, 2010. doi: 10.1016/j.jfca.2009.11.004.

14. MOHAMED, S. Functional foods against metabolic syndrome (obesity, diabetes, hypertension and dyslipidemia) and cardiovasular disease. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, n. 2, p. 114-128, 2014. doi: 10.1016/j.tifs.2013.11.001.

15. NETO, B. B.; SCARMINO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 3ª ed. Campinas: Editora Unicamp, 2007.

16. OTT, C.; KOPP, C.; DAHLMANN, A.; SCHMID, A., LINZ, P., CAVALLARO, A., HAMMON, M., DITTING, T., VEELKEN, R., UDER, M., TITZE, J., SCHMIEDER, R. E. Impact of renal denervation on tissue Na+ content in treatment-resistant hypertension. **Clinical Research in Cardiology**, v. 107, n. 1, p. 42-48, 2018. doi: 10.1007/s00392-017-1156-4.

17. PHILIPPI, S. T. **Pirâmide dos alimentos: fundamentos básicos da nutrição**. 2ª ed. Barueri: Manole, 2014.

18. REINHOLDS, I.; BARTKEVICS, V.; SILVIS, I. C. J.; VAN RUTH, S. M., ESSLINGER, S. Analytical techniques combined with chemometrics for authentication and determination of contaminants in condiments: A review. **Journal of Food Composition and Analysis,** v. 44, p. 56-72, 2015. doi: 10.1016/j.jfca.2015.05.004.

19. RENGEL Z. Heavy Metals as Essential Nutrients. In: Prasad MNV, Hagemeyer J, editors. Heavy Metal Stress in Plants: From Molecules to Ecosystems. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1999. p. 231-51.

20. SEDDIGI, Z. S.; KANDHRO, G. A.; SHAH, F.; DANISH, E., SOYLAK, M.Assessment of metal contents in spices and herbs from Saudi Arabia. **Toxicology and Industrial Health**, v. 32, n. 2, p. 260-269, 2016. doi: 10.1177/0748233713500822.

21. TEFERA, M.; CHANDRAVANSHI, B. S. Assessment of metal contents in commercially available Ethiopian red pepper. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 3, p. 989-1000, 2018. http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20(03)%202018/(15).pdf

22. THOMPSON, M.; ELLISON STEPHEN, L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835-855, 2002. http://publications.iupac.org/pac/2002/pdf/7405x0835.pdf

23. TOKALIOGLU, S.; CICEK, B.; INANC, N.; ZARARSIZ, G., OZTURK, A. Multivariate Statistical Analysis of Data and ICP-MS Determination of Heavy Metals in Different Brands of Spices Consumed in Kayseri, Turkey. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 9, p. 2407-2418, 2018. doi: 10.1007/s12161-018-1209-y.

24. WELZ, B. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3ª ed. New York: Wiley-VCH., 1999.

25. WHO, World Health Organization. **Sodium intake for adults and children**. Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 2012a. Disponível em: https://www.who.int/publications/i/item/9789241504836

26. .WOOD, R. How to validate analytical methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, n. 9, p. 624-632, 1999. doi: 10.1016/S0165-9936(99)00150-8

03

Avaliação da enzima peroxidase e dos compostos fenólicos durante etapas de fermentação de *Theobroma cacao*

- Nayara Suelen Penelva **Carneiro**
  UFPA
- Fernanda Durans Pessoa de **Souza**
  UEPA
- Jesus Nazareno Silva de **Souza**
  UFPA
- Helber Samom Cardoso da **Costa**
  UFPA

10.37885/201102206

RESUMO

A fermentação do cacau (*Theobroma cacao*) é uma etapa essencial para a obtenção de amêndoas de qualidade, diante disso foram medidas a capacidade antioxidante, os compostos fenólicos e a atividade da enzima peroxidase durante as etapas de fermentação da amêndoa de cacau, analisadas pelo método de Folin- Ciocalteu para quantificar os polifenóis totais, para medição da atividade enzimática baseou-se no método desenvolvido para o açaí por Rogez (2000) e para determinação da capacidade antioxidante através dos métodos oxygen radical absorbance capacity (orac) e colorimétrico indireto, via atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), tendo como resultado que a fermentação e secagem influenciam na perda desses compostos, da enzima e diminuem os componentes antioxidantes presentes nas mesmas, eles contribuem para qualidade sensorial de produtos como o chocolate entre outros e a secagem das amêndoas feita naturalmente em barcaça e lona reduz o amargor e a adstringência contribuindo para o aumento da qualidade do sabor devido durante a secagem ser removidos compostos indesejáveis formados pela fermentação. E para a atividade da enzima peroxidase, foi feito a otimização da analise com o intuito de conseguir obter a maior quantidade da enzima presente na amêndoa de cacau. A Peroxidase (POD) perde capacidade catalítica conforme a fermentação avança e avaliando os compostos fenólicos, capacidade antioxidante é possível afirmar que a fermentação do cacau pode ser interrompida no quarto dia, sendo desnecessário prosseguir até o sétimo. E que a secagem em barcaça é muito mais vantajosa, pois é menos agressiva aos compostos fenólicos.

Palavras-chave: Fermentação, Capacidade Antioxidante, Peroxidase, Amêndoas, *Theobroma Cacao*.

INTRODUÇÃO

O cacaueiro (*Theobroma cacao L.*) é uma árvore pertencente à família Malvaceae, que dá origem ao fruto chamado cacau, o qual possui vasta importância econômica no Brasil e no mundo (CEPLAC, 2011). O Brasil está entre os cinco maiores produtores de cacau no mundo. No ano de 2016, o país produziu em torno de 215 mil toneladas de amêndoas, sendo que os estados que mais contribuem no cultivo dessa cultura são Bahia e Pará, com produção de quase 117 e o esperado de aproximadamente 86 mil toneladas, respectivamente, no ano de 2016 (IBGE, 2017).

As primeiras etapas de beneficiamento do cacau, a fermentação e a secagem, são de extrema importância para que haja a formação da cor, do aroma e do sabor (*flavor*) característicos do chocolate. No entanto, é importante que esses procedimentos sejam bem conduzidos, pois equívocos que possam ocorrer são capazes de diminuir a qualidade das amêndoas (EFRAIM *et al*, 2011).

Isso se deve ao fato de que a fermentação e secagem das sementes de cacau acontecem muitas reações bioquímicas. Estas ocorrem conjuntamente com a ação de enzimas e microrganismos presentes no processo, como leveduras, bactérias láticas e acéticas (SCHWAN *et al*, 1986). Já a atividade enzimática é catalisada por enzimas endógenas, dentre elas, a peroxidase.

As peroxidases (EC 1.11.1.7) são hemiproteínas amplamente distribuídas em plantas superiores, sendo também encontradas em animais e microrganismos. Nas plantas estão relacionadas com diversos processos metabólicos, tais como defesa contra patógenos, oxidação de compostos fenólicos, ligação de proteínas e polissacarídeos à parede celular e particularmente polimerização de ligninas (GARCIA, 2006). Principalmente, atuam oxidando moléculas fenólicas usando o poder redutor do peróxido de hidrogênio, formando substâncias coloridas, causando o chamado escurecimento enzimático (SAKHAROV; ARDILA, 1999). Todas as peroxidases de plantas superiores partilham a mesma estrutura geral, consistindo em um grupo prostético heme (ferriprotoporfirina IX) e dez α-hélices, e no processo catalítico oxidam de forma transitória o íon férrico (Fe3+) a estado de valência mais alto (Fe4+) (PASSARDI *et al,* 2004).

Por seu grande potencial e importância econômica e cultural à região amazônica, o cacau vendo sendo alvo de vários trabalhos científicos. O objetivo desse trabalho é avaliar os compostos fenólicos, a capacidade antioxidante e a atividade da enzima Peroxidase (POD) durante a fermentação das amêndoas.

OBJETIVO

Avaliar os compostos fenólicos, a capacidade antioxidante e a atividade da enzima Peroxidase (POD) durante as etapas de fermentação das amêndoas de cacau.

MÉTODOS

MATÉRIA PRIMA

As amostras de cacau foram coletadas no município de Tomé-Açu. E para as análises em laboratório foram utilizadas sementes *in natura* (F 0), amêndoas do segundo dia de fermentação (F 2), quarto dia de fermentação (F 4), sétimo dia de fermentação (F 7) e da secagem em barcaça (SB) e lona (SL). As amêndoas foram cortadas ao meio e separado o embrião da polpa (*Nibs*), guardadas sob refrigeração.

EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

O extrato do material vegetal é uma mistura das diferentes classes dos compostos fenólicos solúveis no sistema de solventes utilizados. Diversos estudos foram realizados para determinar as condições ideais para obtenção de um extrato rico nesses compostos. Assim, as extrações que empregam um sistema de solventes composto por soluções hidroalcoólicas foram as que demonstraram resultados satisfatórios, para a obtenção do extrato será aplicada a metodologia proposta por Silva *et al,* (2007).

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS

1. **POLIFENÓIS TOTAIS (PT)**

A determinação de polifenóis totais foi feita pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON *et al*., 1999), que se baseia sobre a reatividade comum dos polifenóis quando colocados em contato com os ácidos fosfomolíbdico e fosfotúngstico durante 30 minutos (leitura colorimétrica a 750 nm). Os resultados serão expressos em mg Equivalente Catequina por grama de *Nibs* seco (mg Eq C / g NS).

2. **FLAVONÓIS TOTAIS (FOT)**

O método de determinação de flavonóis utilizado se basea na reação com cloreto de alumínio, conforme descrito por Quettier-Deleu *et al.* (2000). Os resultados foram expressos em mg Equivalente Quercitina por grama de *Nibs* seco (mg Eq Q / g NS).

3. **FLAVANÓIS TOTAIS (FAT)**

Os flavanóis foram determinados utilizando o *p*-dimetilaminocinamaldeído (DMACA), segundo o protocolo proposto por Delcour e Varebeke (1985). Os resultados foram expressos em mg Equivalente Catequina de por grama de *Nibs* seco (mg Eq C / g NS).

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA PEROXIDASE (POD)

Foi realizado um estudo preliminar para avaliar qual o melhor meio de extração da POD do cacau, utilizando as sementes F 0, variando pH e molaridade do meio. A determinação a atividade da POD das sementes de cacau baseou-se no método desenvolvido para o açaí por Rogez (2000). A atividade da POD foi avaliada medindo a taxa de aumento da absorbância a 515 nm a 25 °C, em 6 minutos de cinética.

DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (DPPH)

A avaliação da capacidade antioxidante foi determinada através do método colorimétrico indireto, via atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila, o DPPH, conforme descrito por Fernández-Pachón et al (2006). Este radical possui coloração púrpura, e tem absorção em comprimento de onda máximo em aproximadamente 515 nm. Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R), o DPPH é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, com coloração amarela e consequente decréscimo da absorbância, que será monitorada durante a análise.

O procedimento consiste em adicionar em uma cubeta 75 μL de amostra (apropriadamente diluída em metanol) e 2925 μL da solução metanólica de DPPH. A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 515 nm em diferentes intervalos de tempo até se manter constante. As leituras foram feitas em triplicata. As capacidades de sequestro do radical de cada amostra foram calculadas de acordo com a porcentagem de inibição do radical DPPH (%Inb). O valor da atividade antioxidante é expresso em μmol Equivalente Trolox / grama de *Nibs* seco, a partir do coeficiente de regressão calculado da curva de calibração.

A atividade de sequestro do radical de cada amostra foi calculada de acordo com a porcentagem de inibição do radical DPPH (Eq. 1).

$$\%Inibição = \frac{A_{Branco} - A_{Amostra}}{A_{Branco}} \times 100 \text{ (Eq. 1)}$$

Onde: A_{Branco} → Absorbância de referência (solução de DPPH);
$A_{Amostra}$ → Absorbância da amostra, no término da reação.

Nesta determinação de capacidade antioxidante diluísse a amostra em metanol, depois esta é adicionada 75 µL pra reagir com 2925 µL de solução metanólica de DPPH que apresenta a concentração de 25 mg/L em meranol, a reação dura 30 minutos e é feita sob proteção da luz, leitura feita em espectrofotômetro à 515nm.Sendo o valor DPPH expresso em µmol de equivalente trolox por grama de Nibs seco (µmolET/gNS) a partir da Eq. 2.

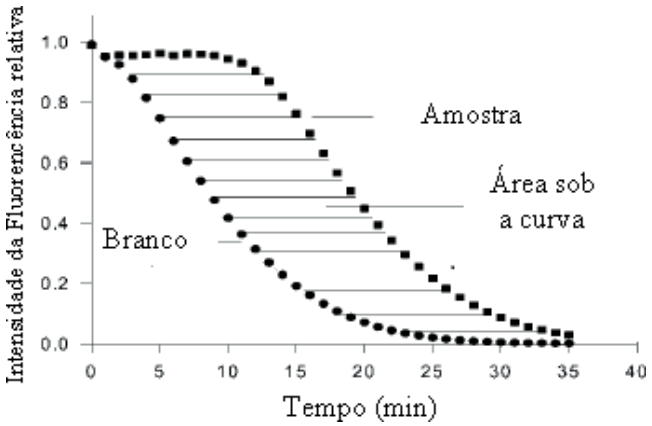
$$DPPH(\mu molET) = \frac{\%\ Inibição}{coeficiente\ de\ regressão} \times diluição \qquad (Eq.\ 2)$$

OXYGEN RADICAL ABSORBANCECAPACITY (ORAC)

O ORAC baseia-se na reatividade do substrato oxidável, fluoresceína, com radicais peroxil produzidos pela decomposição térmica (37°C) do AAPH (2,2'-azinobis (-amidinopropano) dihidrocloreto) em tampão com pH 7,4. A diminuição induzida na fluorescência do substrato pela decomposição do AAPH é medida na presença e na ausência da amostra antioxidante no decorrer do tempo (PRIOR et al, 2003).

As amostras foram analisadas em três diluições diferentes e o valor ORAC (micromol de Equivalente Trolox por 100 gramas de amostra - µmol Eq Trolox / 100g) corresponde à média dos valores obtidos com essas diluições, como recomendado por Huang et al. (2002). A quantificação da capacidade antioxidante é baseada no cálculo da área sob a curva de decaimento da fluorescência (Figura 3) como proposto por Caoe Prior (1999).

Figura 1. Curva de decaimento da fluorescência do branco e amostra.



RESULTADOS

Na Tabela 1 estão os valores médios de capacidade antioxidante e de compostos fenólicos observados ao longo da fermentação e secagem das sementes de cacau.

Tabela 1. Valores das principais classes de compostos fenólicos e de capacidade antioxidante em função do tempo de fermentação e secagem das amêndoas de cacau.

Amostras	FAT	FOT	PT	DPPH	ORAC
	(mgEqC/gNS)	(mgEqQ/gNS)	(mgEqC/gNS)	(μMEqTrolox/gNS)	(μMEqTrolox/gNS)
F (0)	4,44 ± 0,22^{a}	0,48 ± 0,06^{a}	19,52±1,44^{a}	185,45 ± 29,39^{a}	281,69 ± 26,22^{a}
F (2)	5,95 ± 0,62^{bc}	0,48 ± 0,051^{a}	19,14±1,53^{a}	222,31 ± 17,37^{b}	315,89 ± 39,98^{b}
F (4)	6,32±0,38^{bce}	0,44 ± 0,050^{a}	29,58±2,72^{b}	229,09 ± 29,64^{b}	321,95 ± 24,52^{b}
F (7)	5,66 ± 0,18^{bc}	0,44 ± 0,04^{a}	30,92±2,74^{b}	262,17 ± 24,42^{c}	300,58 ± 26,54^{abc}
S (B)	7,15 ± 0,74^{de}	0,27 ± 0,022^{b}	20,85±0,61^{a}	192,68 ± 21,92^{ab}	270,42 ± 31,54^{ac}
S (L)	6,92±0,14^{cde}	0,20 ± 0,014^{c}	30,48±1,58^{b}	139,14 ± 17,17^{d}	249,40 ± 22,42^{a}

Valores de uma mesma coluna com a mesma letra não diferem significativamente ($p < 0,05$). [F(0), F(2), F(4), F(7)] – Dias de fermentação; [S(B), S(L)] – Formas de secagem, Barcaça e Lona.

Na tabela 2, com o propósito de se extrair ao máximo a POD, foram avaliadas condições diferentes de pH na extração.

Tabela 2. Extração da POD em função do pH.

pH (100 mM)	Peroxidase (Abs / min.ml)
5,0	0,254
6,0	0,344
7,0	0,684
8,0	0,839
9,0	0,897

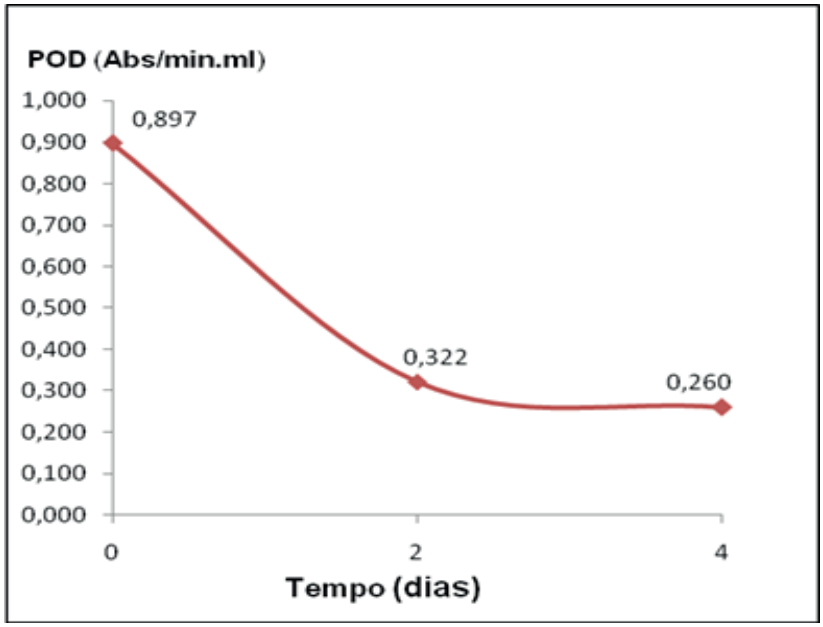
A Tabela 3 mostra a influência da molaridade do meio sobre a extração da POD do cacau. Em ambos os pH's utilizados (8,0 e 9,0) a molaridade que apresentou maior "poder" de extração foi a 100 mM.

Tabela 3. Influência da molaridade na extração da POD.

pH	Molaridade (mM)	Peroxidase (Abs / min.ml)
8,0	50	0,331
	100	0,839
	200	0,153
	400	0,293
9,0	50	0,186
	100	0,897
	200	0,205
	400	0,135

A Figura 1 mostra que ocorreu uma redução da atividade enzimática no decorrer dos dias de fermentação.

Figura 2. Atividade enzimática da POD ao longo da fermentação das amêndoas de cacau.



DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão os valores médios de capacidade antioxidante e de compostos fenólicos observados ao longo da fermentação e secagem das sementes de cacau. A classe dos flavanóis (FAT), que é a classe de monômero mais abundante no cacau, correspondeu, em média, a 31% do total de todos os compostos fenólicos, valor próximo aos 32% avaliados por Leão (2010) e aos 37% avaliados por Nazaruddin *et al.* (2006). Soares (2001) e Efraim (2004) observaram em seus trabalhos teores de polifenóis totais ao final da secagem de 6% em base seca, superiores aos obtidos neste estudo, pois como mostra a Tabela 1 a partir dos compostos fenólicos totais, os teores variaram entre 2 e 3% para as amêndoas analisadas.

Para o processo de secagem observa-se, em todas as amostras, um impacto positivo importante na capacidade antioxidante, provavelmente devido ao aumento do teor de compostos fenólicos. Os valores de ORAC obtidos nestas amostras foram superiores aos encontrados por Jolić *et al.* (2011) e Carrillo *et al.* (2014).

Na tabela 2, com o propósito de se extrair ao máximo a POD, foram avaliadas condições diferentes de pH na extração, demonstrando que o pH influencia bastante, estando os valores médios de atividade da POD em função do pH de extração. Entre os meios testados, os pH's 8,0 e 9,0 foram os que apresentaram os maiores valores de atividade extraída. Entre os procedimentos de extração enzimática a variação do pH é uma importante variável, pois deslocar a enzima (proteína) de seu ponto isoelétrico aumenta sua solubilidade. Fixando os pH's 8,0 e 9,0 foi realizada uma variação da molaridade do meio, ainda com o intuito de se extrair ao máximo a atividade da POD.

A Figura 1 mostra que ocorreu uma redução da atividade enzimática no decorrer dos dias de fermentação. Isso ocorre devido a formação de voláteis e ácidos orgânicos, como o ácido acético, naturalmente produzidos em uma fermentação, que alteram o pH do meio, desfavorecendo a atividade enzimática da POD (SAKHAROV, 1999).

CONCLUSÃO / CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Peroxidase (POD) perde capacidade catalítica conforme a fermentação avança. Essa perda pode resultar em amêndoas mal fermentadas, pois a POD é uma das principais enzimas envolvidas na oxidação de compostos fenólicos e consequentemente na mudança de coloração das sementes.

Avaliando os compostos fenólicos e a capacidade antioxidante é possível afirmar que a fermentação do cacau pode ser interrompida no quarto dia, sendo desnecessário prosseguir até o sétimo. E que a secagem em barcaça é muito mais vantajosa, pois é menos agressiva aos compostos fenólicos.

REFERÊNCIAS

1. ASHIHARA, H., OGITA, S., CROZIER, A. **Purine Alkaloid Metabolism, In: Plant Metabolism and Biotechnology**. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 163-189, 2011.
2. ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2006. 478p.
3. BONVEHI, J. SERRA, COLL F. VENTURA. **Agricultural and Food Laboratory (Generalitat of Catalonia)**. 08348 Cabrils, Barcelona, Spain (Received 14 February 1996; revised version received 1 November 1996; accepted 1 November 1996).
4. BRITO, E. S., GARCIA N. H. P., AMANCIO, A. C. **Effect of polyphenol oxidase (PPO) and air treatments on total phenol and tannin content of cocoa nibs**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 22(1): 45-48, jan.-abr. 2002.
5. BRUNETTO, M. R .; GUTIÉRREZ , L .; DELGADO , Y .; Determinação Da Teobromina , Teofilina E Cafeína Em Amostras De Cacau por um método de cromatografia líquida de alto desempenho com a limpeza de amostra em linha num sistema de comutação de coluna, 2007.
6. CAO, G.; PRIOR, R.L. **Measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples**. Methods in Enzymology, v. 299, p. 50-62, 1999.
7. CARRILLO, L. C.; LONDOÑO-LONDOÑO, J.; GIL, A. **Comparison of polyphenol, methylxanthines and antioxidant activity in Theobroma cacao beans from different cocoa- growing areas in Colombia. FoodResearchInternational**. v.60, p.273–280. 2014.
8. CEPLAC. **Frutal Amazônia-Flor Pará/2011**. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, outubro de 2011. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/ceplac/a-ceplac. Acesso em: 30 Out. 2020.

9. DELCOUR, J. A.; VAREBEKE, D. J. J. I. **Brewing**. v. 91, p. 37, 1985.

10. EFRAIM, P.; PEZOA-GARCÍA, N. H.; JARDIM, D. C. P.; NISHIKAWA, A.; HADDAD, R.; EBERLIN, M. N. **Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 30, p. 142- 150, 2010.

11. EFRAIM, P**. Estudo para minimizar as perdas de flavonóides durante a fermentação de cacau para produção de chocolate**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. 2004. 114 p.

12. EFRAIM, P.; ALVES, A.B.; JARDIM, D.C.P. **Review: Polyphenols in cocoa and derivatives: factors of variation and health effects**. Braz. J. Food Technol., v. 14, n. 3, p. 181-201. 2011.

13. GARCIA, I. P**. Enzimas produzidas durante os diferentes estágios de fermentação das sementes de cupuaçu (theobroma grandiflorum (willdenow ex sprengel) schumann).** Dissertação (programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos) - Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2006.

14. GONÇALVES, C.G**. Avaliação do impacto da fermentação, secagem e torração sobre o perfil dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de sementes de cacau (Theobroma cacao var. Forasteiro) produzidos no Estado do Pará**. (Dissertação de mestrado). Universidade federal do Pará, Belém, 2016.

15. HORNE, J.; HAYES, J.; LAWLESS, H. T. **Turbidity as a Measure of Salivary Protein Reactions with Astringent substances**. Chem. Senses, v. 27, p. 653-659, 2002.

16. HUANG, D.; OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M. F.; JUDITH, A.; PRIOR, R. L. **High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 4437-4444, 2002.

17. JOLIĆ, S. M; REDOVNIKOVIĆ, I. R.; MARKOVIĆ, K.; ŠIPUŠIĆ, D. I.; DELONGA, K. **Changes of phenolic compounds and antioxidant capacity in cocoa beans processing**. International Journal of Food Science and Technology. v.46, p.1793–1800. 2011.

18. MS Fernandez-Panchon, D. Villano, AM Troncoso & MC Garcia-Parrilla. **Antioxidant Activity of Phenolic Compounds: From *In Vitro* Results to *In Vivo* Evidence**. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 48: 7, 649-671, 2008. DOI: 10.1080 / 10408390701761845

19. PALLARES P.A, ESTUPIÑÁN M.R, PEREA VILLAMIL J.A, LÓPEZ GIRALDO L.J. **Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao** CCN-51. Rev.ion.2016; 29(2):7-21.

20. PAZ, J. C. S. N. **Caracterização bioquímica da polifenoloxidase e da peroxidase de ameixa rubimel, polpa de cacau e estudo do efeito de agentes anti-escurecimento**. Dissertação (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

21. PASSARDI, F.; PENEL, C.; DUNAND, C. **Performing the paradoxical: How plant peroxidases modify the cell wall**. Trends in Plant Science, v.9, p.534-540, 2004.

22. POURCEL, L.; ROUTABOUL, J.; CHEYNIER, V.; LEPINIEC, L.; DEBEAUJON, I. **Review: Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions.** Trends in Plant Science. v. 12, p. 29-36, 2007.

23. QUETTIER-DELEU, C.; GRESSIER, B.; VASSEUR, J.; DINE, T.; BRUNET, C.; LUYCKX, M.; CAZIN, M.; CAZIN, J.-C.; BAILLEUL, F.; TROTIN, F. J. **Ethnopharmacol**. v. 72, p. 35, 2000.

24. RIBANI, M. BORTOLLI, C. B. G., *et al*. **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos**. Quím. Nova vol.27 no.5 São Paulo Sept./Oct. 2004.

25. Rogez, H. **Açaí: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação**. Belém: EDUFPA, 2000. 313p.

26. SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. **Method. Enzymol.** v. 299, p. 152, 1999.

27. SCHWAN, ROSANE FREITAS VANETTI, MARIA CRISTINA D. ; SILVA, DAISON OLZANI,; LOPEZ, ALEX; MORAES. CÉLIA A. **Caracterização e distribuição de bactérias aeróbias formadoras de esporos das fermentações de cacau na Bahia**. Journal of foof science, Novembro de 1986. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1986.tb13872.x

28. SILVA, E.M. **Polyphenols from the Amazonia plant Inga edulis: process optimization for the production of purified extracts with high antioxidant capacity**. PhD Thesis, Université Catholique de Louvain-la-Neuve, Belgium. 2007.

29. SILVA, M. V.; ROSA, C. I. L. F.; VILAS BOAS, E. V. B. **Conceitos e métodos de controle do escurecimento enzimático no processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Boletim do CEPPA, Curitiba, v. 27, n. 1, p. 83-96, 2009.

30. SOARES, M. S**.Estudo do melhoramento de sabor de cacau (Theorema cacao L.) através de ação enzimática durante a fermentação**. Dissertação (mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

31. SOUZA, J., **Caractérisation et quantification des anthocyanines du fruit de l'acayer (Euterpe oleracea)**, Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do diploma de Estudos aprofundados em Ciência e Tecnologia de Alimentos- UCL Bélgica, 2000.

32. SCHROETER H, HEISS C, BALZER J, KLEINBONGARD P, KEEN C, HOLLENBERG N, et al. **(-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humas**. Proc Natl Acad Sci USA.2006;103(4):1024-9.

33. SAKHAROV, I.Y.; ARDILA, G. B. **Variations of Peroxidase Activity in Cacao (Theobroma cacao L.) Beans During their Ripening, Fermentation and Drying**. Food Chemistry,Vol.65, Issue1, p.51-54, 1999.

34. WHITAKER, J.R. **Principles of Enzymology for the Food Science**. Marcel Dekker, INC, New York and Basel, 1972.

04

Caracterização de extratos antioxidantes de noz pecã (*Carya illinoinensis*) obtidos por tecnologia limpa

- Luiza Milioli **Vieira**
  UFSC
- Maria Luiza Tonetto **Silva**
  UFSC
- Bruno Luís **Ferreira**
  UFSC
- Gabriela **Polmann**
  UFSC
- Jane Mara **Block**
  UFSC
- Itaciara Larroza **Nunes**
  UFSC
- Maria Manuela Camino **Feltes**
  UFSC

doi 10.37885/201102201

RESUMO

A extração aquosa é uma tecnologia alternativa e limpa, que pode ser aplicada para a obtenção simultânea de óleo e de compostos bioativos, a partir de matérias-primas vegetais. Este processo pode ser assistido por enzimas, fornecendo hidrolisados proteicos e liberando compostos fenólicos, com composição única. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a fração aquosa obtida como coproduto na extração aquosa de noz pecã, a diferentes valores de pH, e na presença ou na ausência de Alcalase® e/ou Celluclast®. As frações de interesse foram caracterizadas quanto ao grau de hidrólise proteica, ao teor de compostos fenólicos totais, e à capacidade antioxidante. O maior grau de hidrólise (2,54%) foi obtido na extração assistida pela Alcalase®, a pH 8,0. Esta protease proporcionou a maior diferença no teor de compostos fenólicos e na capacidade antioxidante, quando comparada à reação nas mesmas condições, sem enzima. Apesar disso, a maior concentração de fenólicos (249 mg.100g^{-1} ácido gálico equivalente) e a maior atividade antioxidante (75,30% de inibição do radical DPPH) foram obtidas sem enzima, a pH 6,0 e 4,5, respectivamente. A extração aquosa da noz, assistida ou não por enzimas, permitiu a obtenção de substâncias com atividade antioxidante, dentre as quais, hidrolisados proteicos e compostos fenólicos, sendo que os resultados variaram de acordo com a enzima e o valor de pH utilizados. Este estudo ampliou o conhecimento sobre os compostos bioativos obtidos no processo de extração aquosa, podendo auxiliar na definição de condições reacionais de trabalhos futuros, visando a obtenção de antioxidantes para produtos *clean label*.

Palavras-chave: Extração Aquosa, Hidrolases, Complexo Proteína-Fenólicos, Hidrolisado Proteico, Antioxidantes Naturais.

INTRODUÇÃO

Recentemente, diversas pesquisas no meio acadêmico e no setor industrial têm focado na prospecção de matérias-primas de origem vegetal, para a obtenção de ingredientes e aditivos com uma composição única para aplicação na formulação de alimentos inovadores. Estes estudos vêm de encontro a algumas tendências do setor alimentício, que envolvem o desenvolvimento de produtos *clean label* que atendam às expectativas de um público que, cada vez mais, tem priorizado a compra de alimentos que proporcionem saudabilidade, apresentando um alto valor nutricional e contendo compostos bioativos. Estes consumidores têm preferido, por exemplo, o uso de aditivos naturais que causem um impacto ambiental reduzido, através da aplicação de tecnologias limpas e que agreguem valor a matérias-primas locais, fator preponderante para alavancar a economia regional (ANUGA, 2020; LEONHARDT; DIDIER, 2020). Matérias-primas oleaginosas, como nozes, apresentam uma composição físico-química e química interessante não somente para a indústria de alimentos, mas também para as áreas de fármacos e cosméticos, podendo ser fonte de ingredientes diferenciados para aplicações específicas (HU *et al.*, 2018; JIANG *et al.,* 2010; POLMANN, 2019).

A parte comestível da noz pecã é a amêndoa do fruto de casca dura, proveniente da nogueira-pecã (*Carya illinoinensis*), árvore que se desenvolve naturalmente em grandes áreas nas regiões temperadas do hemisfério norte, principalmente do sul dos Estados Unidos até o México (MCWILLIAMS, 2013). Segundo Gatto *et al.* (2008), na América Latina, o maior pomar de nogueira-pecã, exclusivo à produção de nozes comestíveis, encontra-se no Rio Grande do Sul, sendo que a *Carya illinoinensis* é a principal espécie cultivada neste Estado.

Esta noz é considerada uma importante fonte de lipídios, contendo majoritariamente o ácido oleico e também o ácido graxo essencial linoleico (FIRESTONE, 2013). Dentre 25 variedades de noz pecã avaliadas em um estudo, o teor proteico variou de 6,0 a 11,3%, em base úmida, sendo, portanto, inferior à quantidade normalmente encontrada em outras oleaginosas (VENKATACHALAM, 2004). A fração proteica da noz pecã contém todos aminoácidos essenciais, sendo que a composição é variável (FREITAS; NAVES, 2010; VENKATACHALAM, 2004). No estudo de Venkatachalam (2004), identificou-se majoritariamente aminoácidos hidrofóbicos (30,8-41,3%) e ácidos (30,3-40,7%) nas proteínas de torta de noz pecã. Este autor verificou, ainda, que a lisina e o triptofano foram os aminoácidos limitantes nas 25 amostras avaliadas. Esta noz também contém substâncias antioxidantes, como tocoferóis (POLMANN *et al.*, 2019) e compostos fenólicos (POLMANN, 2019; ROBBINS *et al.,* 2015). Além de apresentarem atividade antioxidante (MACIEL *et al.,* 2019; POLMANN, 2019; ROBBINS *et al.*, 2015), os compostos fenólicos encontrados na noz pecã são responsáveis por conferir sabor adstringente e coloração característica à mesma (SALVADOR, 2014). Portanto, com base na sua composição, o consumo diário desta noz, associado a

uma alimentação equilibrada, pode auxiliar na prevenção de diversas doenças, dentre as quais, cardiovasculares e câncer (ATANASOV *et al.*, 2018).

A noz pecã pode ser submetida à prensagem mecânica, que é o principal método empregado industrialmente para a extração de óleo a partir de matérias-primas que apresentam concentrações de lipídios acima de 35%, sendo, portanto, aplicado para esta matriz. A torta de prensagem obtida neste processo, contendo óleo remanescente, pode ser submetida a um processo de extração subsequente com solvente (POLMANN, 2019; POLMANN et al., 2019). Alternativamente, a obtenção de óleo pode ser feita mediante a aplicação de extração aquosa (ROSENTHAL; PYLE; NIRANJAN, 1996). Neste processo, o uso de ácidos, álcalis ou enzimas, no meio reacional, permitem a obtenção simultânea de óleo, de extratos ou hidrolisados proteicos, e de outras substâncias de interesse nutricional, originalmente presentes na matriz (ROSENTHAL; PYLE; NIRANJAN, 1996; SILVA *et al.*, 2017; TSUGITA; SCHEFFLER, 1982).

A extração aquosa catalisada por enzimas proporciona a obtenção de hidrolisados com composição única, a partir de diferentes matérias-primas (FU *et al.*, 2018; JIANG *et al.,* 2010; LI *et al.*, 2011; NGUYEN *et al.*, 2020; ROVARIS *et al.*, 2012; 2013; TONG *et al.*, 2020). Na extração aquosa, podem ser utilizadas proteases, como a Alcalase®, que hidrolisa as ligações peptídicas das proteínas, podendo ainda apresentar atividade sobre ligações éster e amida (YUSOFF; GORDON; NIRANJAN, 2015). Também podem ser utilizadas carboidrases, como a Celluclast®, que hidrolisa as ligações glicosídicas entre monossacarídeos, podendo também catalisar reações transglicosídicas (KOBLITZ, 2008; ROVARIS *et al.*, 2013). As enzimas empregadas no processo de extração podem ser adicionadas ao meio reacional isoladamente ou em conjunto. Neste caso, podem ser aplicadas simultânea ou sequencialmente (JIANG *et al.*, 2010; POLMANN *et al.*, 2019).

Vantagens tecnológicas, econômicas e ambientais são destacadas na extração aquosa enzimática (BIASUTTI *et al.*, 2008; CLEMENTE, 2000; NGUYEN *et al.*, 2020), a qual permite a aplicação de temperaturas amenas e dispensa o uso de solventes tóxicos, o que é altamente desejável (POLMANN, 2019; POLMANN *et al.*, 2019). A hidrólise enzimática ocorre sob condições brandas de processamento, em relação ao pH e à temperatura do meio reacional. Desta forma, pode-se evitar que ocorram reações indesejáveis promovidas por condições drásticas, como a desnaturação proteica e degradação lipídica (POLMANN *et al.,* 2019; TONG *et al.*, 2020).

A qualidade das frações geradas é outro ponto favorável da biocatálise, devido ao fato de que os hidrolisados proteicos obtidos apresentam alto valor biológico, sem a presença de fatores antinutricionais (ROSENTHAL; PYLE; NIRANJAN, 1996). Em paralelo, dependendo da composição da matéria-prima e do método aplicado para a hidrólise, complexações químicas

de diversos âmbitos podem ocorrer. Segundo Shahidi e Senadheera (2018), interações entre proteínas e compostos fenólicos são capazes de proporcionar efeitos adversos nas estruturas, propriedades funcionais e nutricionais de proteínas, bem como de compostos fenólicos. A complexação proteína-fenol pode afetar a biodisponibilidade dos compostos fenólicos, e assim, consequentemente, a determinação dos mesmos e sua atividade. Estudos relatam a liberação de compostos fenólicos, com consequente aumento da capacidade antioxidante do hidrolisado, na extração aquosa assistida por Alcalase® de noz pecã (POLMANN, 2019) e linhaça (SILVA *et al.*, 2017), por exemplo.

Na extração aquosa de compostos bioativos de noz pecã, assistida ou não por enzimas, investigações são necessárias para determinar não só o grau de hidrólise das proteínas presentes na matéria-prima, mas também os compostos fenólicos liberados da mesma. Assim, no presente estudo, foi feita a caracterização da fração aquosa obtida na extração aquosa de noz pecã, na presença e na ausência das hidrolases Alcalase® e/ou Celluclast®. Cabe mencionar que estas amostras haviam sido previamente obtidas em outro trabalho (POLMANN *et al.*, 2019), no qual foram utilizadas diferentes enzimas e valores de pH do meio reacional. Assim, pretende-se ter uma melhor compreensão das características dos extratos obtidos desta noz, por meio da aplicação de uma tecnologia limpa.

METODOLOGIA

Material

As amostras utilizadas neste estudo foram obtidas em trabalho prévio sobre extração aquosa de óleo de noz pecã (*Carya illinoinensis*), assistida ou não por enzimas (POLMANN *et al.*, 2019), cujas reações estão brevemente descritas a seguir.

As reações de extração aquosa foram realizadas por Polmann *et al.* (2019). As amostras de substrato, previamente seco em estufa, moído e peneirado, foram adicionadas a 150 ml de solução tampão a um pH adequado para cada enzima (Tabela 1), em frascos Schott, na proporção de 1:5 (m/v). Os frascos contendo as soluções foram incubados em *shaker*, a 60 ºC, por 6 horas e agitação orbital de 120 rpm. Os experimentos de extração aquosa foram conduzidos na presença e na ausência das enzimas (controle), tendo sido realizados em triplicata.

Para as reações biocatalisadas, foram utilizadas a Celluclast® 1,5L e a Alcalase® produzidas pela Novozymes, e doadas pela empresa LFN Latino Americana (Bento Gonçalves, RS, Brasil). As enzimas foram adicionadas na concentração de 2% (m/m, em relação ao total de substrato). As condições reacionais (enzimas testadas e valores de pH) estão descritas na Tabela 1.

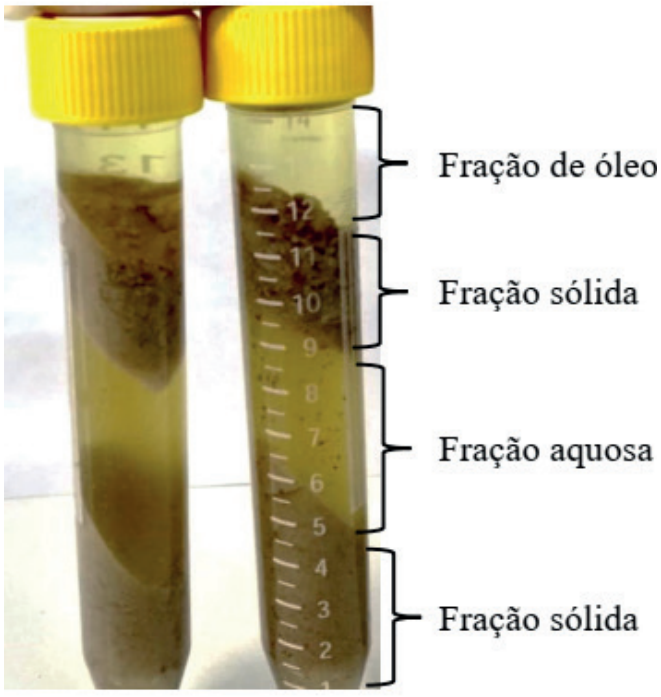
Após as reações, realizou-se o aquecimento dos frascos em banho-maria, seguido de transferência das amostras para tubos de centrífuga de 15 mL. As amostras foram então centrifugadas por 20 minutos (centrífuga modelo 80-2B, marca Daiki®, Presidente Prudente, Brasil), até a separação de quatro frações (Figura 1). Para a realização do presente estudo, foram utilizadas as amostras somente da fração aquosa obtida na extração de noz pecã, com ou sem enzima. Os reagentes utilizados foram de grau analítico.

Tabela 1. Condições testadas para a extração aquosa de noz pecã assistida pelas hidrolases Alcalase® e/ou Celluclast®, adicionadas ao meio reacional isoladamente ou em conjunto (na sequência ou simultaneamente), em reações conduzidas a diferentes valores de pH, durante 6 horas a 60 °C. Para cada ensaio, reações paralelas foram conduzidas na ausência de enzima (controle).

Enzima(s) comercial(is) empregadas	Ação hidrolítica da(s) enzima(s) empregada(s)	Estratégia para a adição da(s) enzima(s)	pH*
ALCALASE®	Protease	Enzima usada isoladamente	8,0
CELLUCLAST®	Celulase	Enzima usada isoladamente	4,5
ALCALASE® + CELLUCLAST® pH ajustado	Protease + celulase	Enzimas adicionadas na sequência	8,0/4h -4,5/2h**
ALCALASE® + CELLUCLAST®	Protease + celulase	Enzimas adicionadas simultaneamente	6,0
ALCALASE® + CELLUCLAST®	Protease + celulase	Enzimas adicionadas simultaneamente	6,5

* Valor de pH no início da reação de extração aquosa.
** Reação conduzida na presença da Alcalase® a pH 8,0, durante 4 horas, seguida do ajuste do pH para 4,5, com adição da Celluclast® e condução da reação por 2 h adicionais.

Figura 1. Frações oleosa, sólidas e aquosa obtidas após a centrifugação do meio reacional obtido na extração aquosa de noz pecã, com ou sem enzima.



Fonte: Polmann (2019).

Métodos para a caracterização das amostras da fração aquosa

Grau de hidrólise proteica

O grau de hidrólise (GH) foi determinado a partir de alíquotas da fração aquosa, com adição de uma solução de ácido tricloroacético (TCA) a 10%. Após repouso de 10 minutos, as amostras foram filtradas em papel filtro Whatman (QUALIT. GR 1, 125 mm), com o objetivo de remover o material insolúvel precipitado pela solução de TCA. Em seguida, foi realizada a diluição 1:50 (v/v) da amostra em água destilada, e a quantificação das proteínas solúveis presentes foi feita pelo método de Lowry *et al.* (1951). O resultado foi expresso em mg de albumina sérica bovina. As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro (BEL/ SP-2000UV), a 660 nm. O grau de hidrólise foi calculado segundo método descrito por Hoyle e Merritt (1994), Liceaga-Gesualdo e Li-Chan (1999), sendo expresso como porcentagem de proteínas solúveis no TCA em relação à quantidade de proteína inicial total, determinada pelo método de Kjeldahl (N x 6,25) e expressa em $mg.g^{-1}$, segundo a Equação 1.

$$GH = \frac{Ps \times Fd}{Pt + Pe} \times 100 \qquad \text{(Equação 1)}$$

Onde GH é o grau de hidrólise (%); PS é a concentração de proteínas solúveis ($mg.g^{-1}$) em TCA 10%, Fd é o fator de diluição, Pt é a quantidade de proteínas totais da noz pecã ($mg.g^{-1}$) e Pe é a quantidade de proteína presente na enzima ($mg.g^{-1}$).

Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante

Para a determinação dos compostos fenólicos totais e da capacidade antioxidante das amostras da fração aquosa de noz pecã, realizou-se, previamente, o ajuste do pH das amostras para 7,0 com NaOH 0,1 $mol.L^{-1}$ (DAROIT *et al.*, 2012; FONTOURA *et al.*, 2014; HALIM *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2017). As análises foram realizadas por métodos colorimétricos, em microplacas de 96 poços, incubadas ao abrigo da luz, e a absorbância foi registrada em leitor de microplacas Spectra Max Paradigm (Molecular Devices), conforme será descrito a seguir.

Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram quantificados segundo a metodologia de Singleton e Rossi (1965) adaptada para microplacas com 96 poços (GRANATO *et al.*, 2014). As amostras foram diluídas com água ultrapura 1:10 (v/v) e 25 μL foram adicionados a 25 μL do reagente de Folin Ciocalteu 2 $mol.L^{-1}$, diluído 3 vezes, e 200 μL de água ultrapura. Após 5 minutos, foi adicionada uma alíquota de 25 μL de uma solução saturada de carbonato de sódio 10%, seguido de agitação das amostras durante 20 segundos. Em seguida, as soluções

contendo as amostras foram mantidas em repouso durante 60 minutos, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente (25 °C). Em seguida, a absorbância foi registrada em λ_{max} = 725 nm e os resultados, expressos em mg ácido gálico equivalente por 100 g (mg GAE.100 g^{-1}).

Capacidade antioxidante frente ao radical DPPH

O método da captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) foi realizado de acordo com Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Uma alíquota de 40 μL da amostra de fração aquosa (1:10 v/v) foi colocada em microplacas de 96 poços, seguido da adição de 260 μL de solução etanólica de DPPH 0,10 mmol. L^{-1}. As amostras foram mantidas ao abrigo de luz, a 25 °C, durante 30 minutos, para reagirem. A absorbância foi registrada no comprimento de onda de 517 nm. A capacidade de captura do radical foi calculada pela atividade sequestradora de radicais livres no meio reacional, por meio da Equação 2, onde IR é a inibição do radical (%), Aa é a absorbância da amostra, Ab é a absorbância do branco.

$$IR = [1 - (\frac{Aa}{Ab})] \times 100 \qquad \text{(Equação 2)}$$

Tratamento estatístico dos dados

Os resultados das análises foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5 % (α= 0,05), com o auxílio do *software* STATISTICA versão 13.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA).

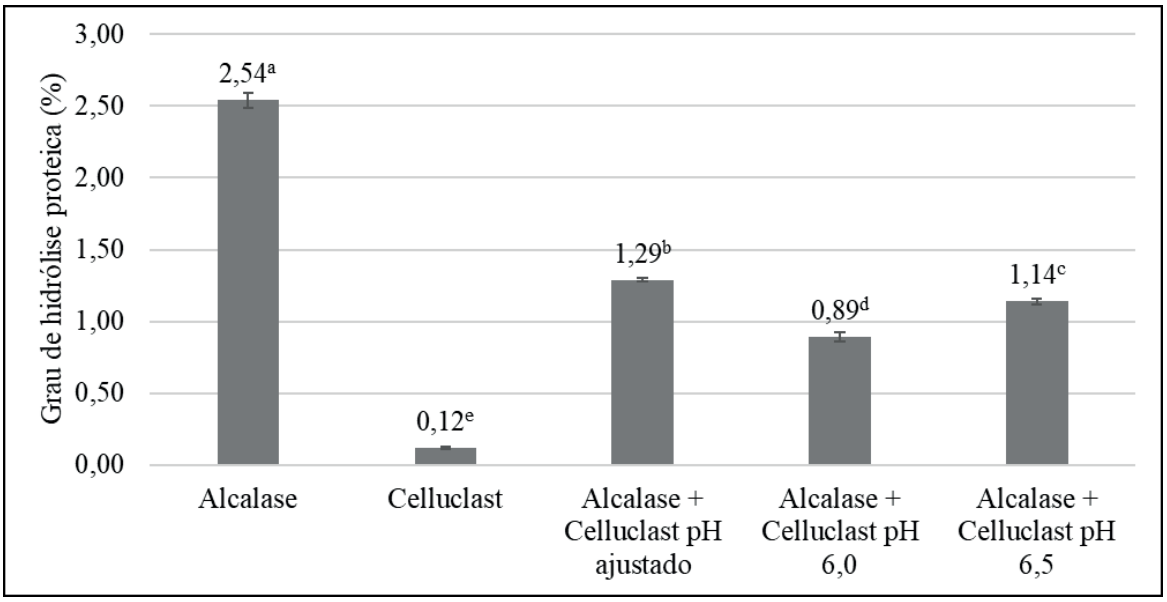
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Grau de hidrólise proteica

O grau de hidrólise proteica representa uma noção da amplitude da clivagem destas macromoléculas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010), o que influencia diretamente as propriedades nutricionais, bioativas e funcionais do hidrolisado (LICEAGA-GESUALDO; LI-CHAN, 1999; JIANG *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2011). Esta observação já foi feita para peptídeos com capacidade antioxidante obtidos a partir de isolado proteico de torta de noz pecã (HU *et al.*, 2018), por exemplo. No caso da biocatálise, o grau de hidrólise também está intimamente ligado à especificidade da enzima, sendo que a extensão da hidrólise altera as propriedades de solubilidade, emulsificação e gelificação do produto obtido (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010), bem como o amargor do hidrolisado (FITZGERALD; O'CUINN, 2006), por exemplo.

O grau de hidrólise das proteínas da noz pecã, na presença da Alcalase® e da Celluclast®, está apresentado na Figura 2. Análises realizadas em paralelo indicaram que não houve hidrólise das amostras para as reações conduzidas na ausência de enzimas, nas condições avaliadas.

Figura 2. Grau de hidrólise proteica* das amostras obtidas na extração aquosa de noz pecã assistida pelas hidrolases Alcalase® e/ou Celluclast® (*n* = 3).



* Média ± desvio padrão de triplicata das análises (barra de erros). Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (nível de significância de 5%).

Observa-se que houve diferença estatística significativa entre as amostras avaliadas ($p < 0,05$), indicando que a enzima e o valor de pH do meio reacional influenciaram os resultados obtidos. A reação em que se utilizou somente a Alcalase® a pH 8,0, levou a um grau de hidrólise proteica maior do que as amostras empregando a Celluclast®, em combinação com a Alcalase® ou isoladamente, em todos valores testados de pH. A outra condição que levou ao segundo maior grau de hidrólise proteica foi a reação na presença de Alcalase® e Celluclast®, adicionadas na sequência (em momentos distintos), com o ajuste do pH do meio antes da adição da celulase. Neste caso, a reação na presença da Alcalase® também havia sido conduzida a um valor de pH de 8,0.

Os resultados aqui obtidos podem ser explicados pelo fato de a Alcalase® se tratar de uma protease, a qual hidrolisa proteínas, elevando, significativamente, o grau da hidrólise proteica, enquanto a Celluclast® se trata de uma celulase, que hidrolisa carboidratos (NOVOZYMES, 2018). Além disso, sabe-que a Alcalase® é uma enzima proteolítica proveniente da fermentação submersa de uma espécie selecionada de *Bacillus licheniformis* (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Atua entre 45 e 65 °C, sendo que sua temperatura ótima é ao redor de 60 °C, e sua faixa de pH ideal fica entre 6,5 e 8,5 (NCBE, 2018a). Esta endoproteinase pertence à família das subtilisinas, que são serina proteases, e não apresentam especificidade frente ao substrato (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Observou-se maior hidrólise, portanto, quando o pH do meio reacional estava ajustado para a faixa ideal da ação da protease. Tal resultado já era esperado, visto que uma enzima possui maior ação quando submetida à sua faixa ideal de pH (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

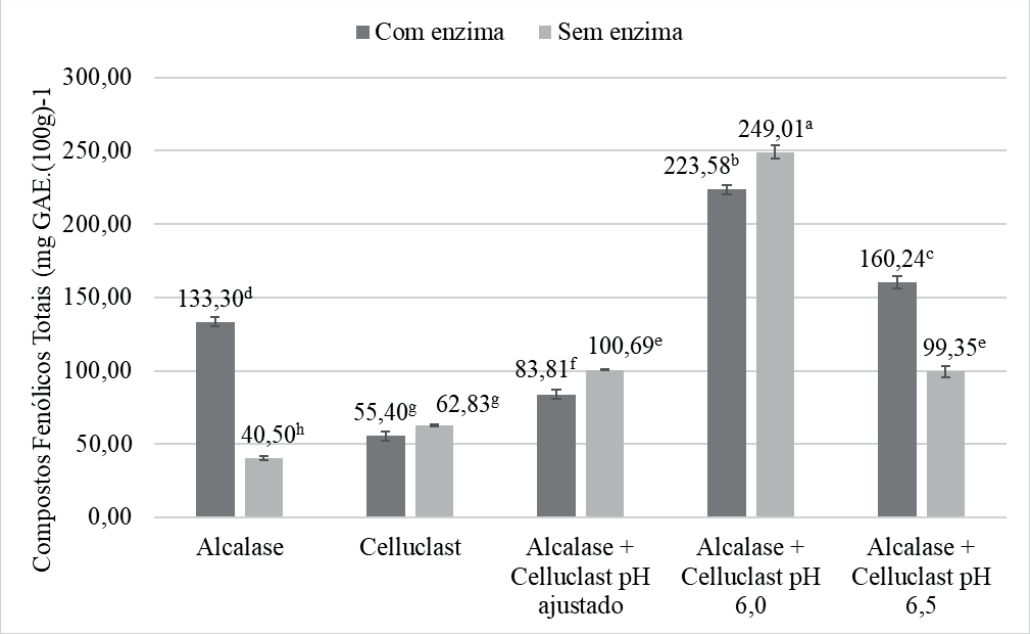
Em estudo de Hu *et al.* (2018), a hidrólise de isolado proteico de torta de noz pecã, catalisada pela Alcalase®, forneceu um grau de hidrólise proteica de 17% após 180 minutos de reação, a 55 °C e pH 10,0, utilizando uma concentração de substrato de 15 $mg.mL^{-1}$ e a enzima na proporção de 2,2 $mg.mL^{-1}$. Cabe ressaltar que, no presente trabalho, utilizou-se a amêndoa da noz pecã, integralmente, ao contrário do estudo citado, em que os autores utilizaram isolado proteico da torta de prensagem desengordurada.

No estudo de Franck *et al.* (2018) com amostras de isolado proteico de linhaça, utilizando a tripsina como biocatalisador da reação, o grau de hidrólise obtido (4,80%) foi próximo ao obtido na presente pesquisa. Estes autores também relataram que a associação do processo com alta pressão hidrostática pode aumentar o grau de hidrólise proteica para 8,1%, a 300 MPa. Em relação a hidrolisados proteicos de soja, Caetano (2012) concluiu que o uso da Alcalase® 2,4L, em um tempo de incubação de 30 minutos, se provou adequado para a produção de hidrolisado de proteína de soja, com a obtenção de um grau de hidrólise de 14,7%. Considerando que o grão de soja possui cerca de 39% de proteínas, e a noz pecã possui apenas 10%, o grau de hidrólise de 2,54% obtido no presente trabalho, após 6 horas de reação, pode ser considerado satisfatório.

Compostos fenólicos totais

Os resultados para a determinação de compostos fenólicos totais, empregando o método de Folin-Ciocalteu, estão apresentados na Figura 3.

Figura 3. Teor de compostos fenólicos totais* (mg ácido gálico equivalente.100g^{-1}) das amostras obtidas na extração aquosa de noz pecã, na presença ou na ausência das hidrolases Alcalase® e/ou Celluclast® (*n* = 3).



* Média ± desvio padrão de triplicata das análises (barra de erros). Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (nível de significância de 5%).

Os resultados indicam que a maior extração de compostos fenólicos totais ocorreu no valor de pH 6,0, com diferença estatística significativa em relação às demais amostras ($p < 0,05$). Neste pH, a maior quantidade de fenólicos foi extraída na reação sem enzima, nas condições avaliadas no presente estudo. Ainda, todas amostras apresentaram diferença estatística significativa em relação à extração aquosa sem emprego de enzima ($p < 0,05$), com exceção da obtida utilizando-se apenas a Celluclast®.

Segundo Bandyopadhyay, Ghosh e Ghosh (2012) e Rohn (2014), proteínas, principalmente de armazenagem, podem interagir com compostos fenólicos, formando complexos. Sabe-se que esta interação depende de fatores como tipo e concentração das proteínas e dos compostos fenólicos presentes na matriz, bem como de parâmetros da solução, dentre os quais, o pH, a força iônica e a temperatura (BANDYOPADHYAY; GHOSH; GHOSH, 2012; OZDAL; CAPANOGLU; ALTAY, 2013). No presente estudo, o valor de pH do meio resultou na extração aquosa de diferentes teores de compostos fenólicos totais.

Quando presente no meio, a hidrolase aplicada também interferiu nos resultados obtidos. As amostras submetidas à extração com Alcalase® adicionada isoladamente (pH 8,0) ou combinada com a Celluclast®, em pH 6,5, apresentaram um aumento na quantidade de compostos fenólicos em relação à existente nas amostras das reações sem enzima. A quantidade extraída de compostos fenólicos, a pH 8,0, foi cerca de 3,3 vezes superior quando se utilizou a Alcalase®, em comparação à reação nas mesmas condições e na ausência deste biocatalisador. Assim, a diferença no teor de compostos fenólicos entre as amostras de

hidrolisados e controle já era esperada para o tratamento com a Alcalase®, visto que, através do emprego desta hidrolase, pode ocorrer a modificação dos complexos proteína-fenólicos.

De acordo com os ensaios realizados por Silva *et al.* (2017), por exemplo, a aplicação da Alcalase® na modificação de linhaça foi responsável pelo aumento dos compostos fenólicos totais e da capacidade antioxidante dos hidrolisados, em comparação com os produtos que não foram submetidos a hidrólise. Os autores reportaram que este aumento pode estar associado à liberação de peptídeos durante a hidrólise enzimática e à consequente liberação dos compostos fenólicos, que estavam complexados inicialmente com as proteínas.

No caso da reação conduzida somente na presença da Celluclast®, a pH 4,5, o fato de não ter havido diferença estatística significativa entre a amostra na presença e na ausência desta enzima, provavelmente está relacionado à ação deste biocatalisador. Esta celulase, que atua entre 50 e 60 °C, e em valores de pH na faixa de 4,5 a 6,0, realiza a clivagem de ligações glicosídicas, não tendo interferido, portanto, nos complexos proteína-fenólicos (NCBE, 2018b).

As interações proteína-fenólicos são complexas e a sua caracterização completa exige a aplicação de diferentes técnicas analíticas (BANDYOPADHYAY; GHOSH; GHOSH, 2012; OZDAL; CAPANOGLU; ALTAY, 2013). Estudos adicionais poderiam contribuir para a caracterização dos compostos obtidos no processo de extração aquosa, assistido ou não por enzimas.

Capacidade antioxidante frente ao radical DPPH

O método de determinação da capacidade antioxidante utilizado para investigar a ação de compostos sequestradores de radicais livres, empregando o radical DPPH, consiste de uma reação do radical livre com a amostra contendo os compostos antioxidantes (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER, BERSET, 1995).

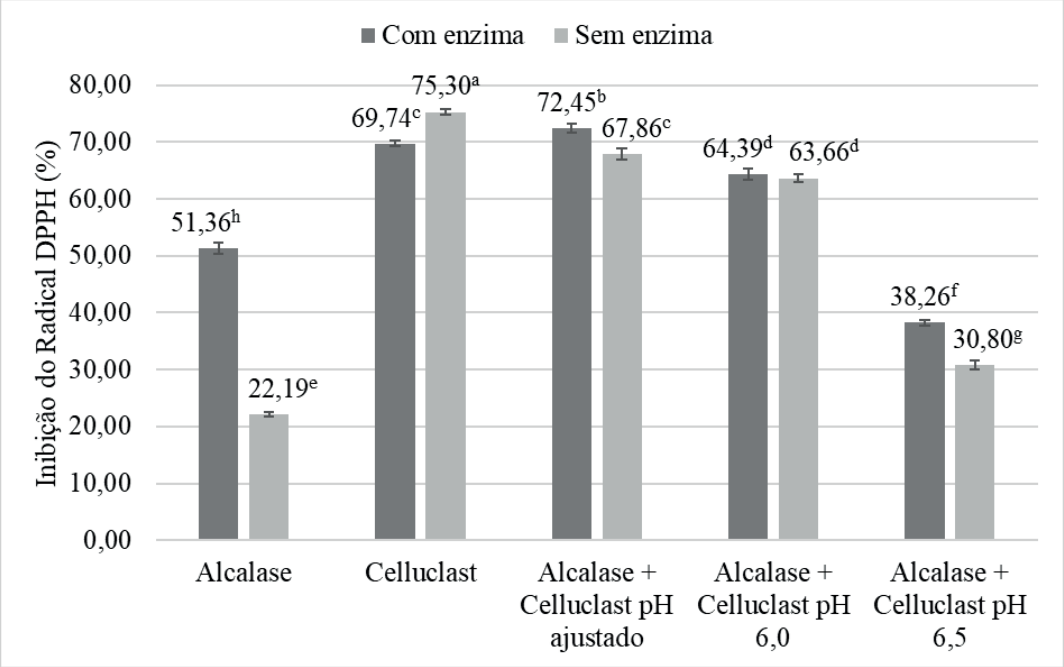
Os resultados obtidos indicam que, nas condições avaliadas, todas reações de extração aquosa de noz pecã possibilitaram a recuperação de substâncias bioativas com capacidade antioxidante, conforme determinado pelo método de DPPH (Figura 4).

A maior capacidade antioxidante foi verificada, no presente estudo, na extração conduzida a pH 4,5, sem enzima (reação controle da Celluclast®). Este valor de pH pode ter favorecido a extração aquosa de compostos com capacidade de sequestrar o radical DPPH.

Observou-se ainda, que todas as reações em que se utilizou a Alcalase®, individualmente ou combinada com a Celluclast®, levaram a um aumento na capacidade antioxidante das amostras da fração aquosa, com relação às reações na ausência desta enzima. Destaque deve ser dado à reação na presença da Alcalase® adicionada isoladamente ao meio reacional, a um pH inicial de 8,0, condição que proporcionou um aumento, no percentual de inibição do radical DPPH, de cerca de 2,3 vezes na capacidade antioxidante da amostra,

em relação à mesma reação na ausência desta protease, sendo que tais reações diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$).

Figura 4. Porcentagem de inibição do radical DPPH* (%) das amostras obtidas na extração aquosa de noz pecã, na presença ou na ausência das hidrolases Alcalase® e/ou Celluclast® (*n* = 3).



* Média ± desvio padrão de triplicata das análises (barra de erros). Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (nível de significância de 5%).

Sabe-se que tanto a enzima aplicada, quanto o valor de pH do meio reacional, durante a biocatálise, podem interferir na atividade antioxidante dos hidrolisados obtidos (SILVA *et al.*, 2017). Além disso, a extensão da hidrólise leva à formação de substâncias contendo moléculas com diferentes composições e tamanhos, o que interfere nas propriedades apresentadas pelo produto da reação (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

No presente estudo, a Alcalase® provocou a hidrólise das proteínas da noz pecã e a liberação paralela de compostos fenólicos. Estes diferentes produtos obtidos na extração aquosa da noz pecã, catalisada por esta hidrolase, podem ter sido responsáveis pela capacidade antioxidante apresentada pelas amostras desta reação. Outros estudos relataram um aumento na capacidade antioxidante de hidrolisados obtidos na extração aquosa assistida pela Alcalase®, utilizando como matéria-prima isolado proteico de torta desengordurada de noz pecã (HU *et al.*, 2018) e linhaça (SILVA *et al.*, 2017), evidenciando a importância desta protease para a obtenção de compostos bioativos.

CONCLUSÃO

Os compostos obtidos por meio da extração aquosa de noz pecã, assistida ou não por enzimas, apresentaram atividade antioxidante. Foram exploradas as possibilidades de

obtenção de extratos desta noz, apresentando diferentes características, mediante o emprego de condições reacionais variadas, a saber: pH do meio reacional e enzima utilizada.

Nas reações assistidas por hidrolases, a presença da Alcalase® proporcionou o maior grau de hidrólise proteica, e também o maior aumento no teor de compostos fenólicos e na capacidade antioxidante, em relação à reação controle, entre todas as condições avaliadas no presente trabalho. Observou-se que o conhecimento sobre o modo de ação e as características das enzimas utilizadas na biotransformação, são um fator chave para o estabelecimento de condições visando a obtenção de extratos com propriedades bioativas.

As substâncias aqui extraídas, utilizando-se somente água como solvente, têm potencialidades para uso como antioxidantes naturais nas formulações de alimentos, como um aditivo *clean label*. Estes compostos podem contribuir para o aumento da estabilidade oxidativa de lipídios e de produtos contendo lipídios em sua composição.

Os resultados obtidos neste trabalho trazem uma importante contribuição para os estudos sobre a extração aquosa de matéria-prima de origem vegetal, assistida ou não por enzimas. Outros trabalhos devem ser realizados, para aprofundar o conhecimento sobre as propriedades das frações obtidas após a extração e para avaliar seu potencial de aplicação na área de alimentos e afins.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela bolsa concedida para M.L.T. Silva (Processo nº 88882.344949/2019-01); à FAPESC, pela bolsa concedida para B. L. Ferreira (Projeto nº 88887.177804/2018-00); e ao CNPq, pela bolsa concedida para G. Polmann (Processo n°132264). Ao CNPq, pela bolsa de produtividade em pesquisa concedida a J.M. Block (Processo nº 311070/2018-3).

REFERÊNCIAS

1. ANUGA. Anuga Horizon 2050. Disponível em: https://www.anuga.com/events/specialevents/anuga-horizon-2050/. Acesso em: 12 de Nov. de 2020.

2. ATANASOV, A. G.; SABHARANJAK, S. M.; ZENGIN, G.; MOLLICA, A.; SZOSTAK, A.; SIMIRGIOTIS, M.; HUMINIECKI, Ł.; HORBANCZUK, O. K.; NABAVI, S. M.; MOCAN, A. Pecan nuts: A review of reported bioactivities and health effects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 246-257, 2018.

3. BANDYOPADHYAY, P.; GHOSH, A. K.; GHOSH, C. Recent developments on polyphenol-protein interactions: effects on tea and coffee taste, antioxidant properties and the digestive system. **Food & Function**, v. 3, n. 6, p. 592-605, 2012.

4. BEAUBIER, S.; FRAMBOISIER, X.; IOANNOU, I.; GALET, O.; KAPEL, R. Simultaneous quantification of the degree of hydrolysis, protein conversion rate and mean molar weight of peptides released in the course of enzymatic proteolysis. **Journal of Chromatography B**, 1105, p. 1-9, 2019.

5. BIASUTTI, E. A. R.; AFONSO, W. O.; LOPES JUNIOR, C. de O.; COELHO, J. V.; SILVA, V. D. M.; SILVESTRE, M. P. C. Ação da pancreatina na obtenção de hidrolisados proteicos de soro de leite com elevado teor de oligopeptídeos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 51-60, 2008.

6. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free-radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v 28, p. 25-30, 1995.

7. CAETANO, F. F. **Aproveitamento do Farelo de Soja no Desenvolvimento de Meios e Processos para a Obtenção de Produtos Proteicos e Derivados.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto. 2012.

8. CLEMENTE, A. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. **Trends Food Science and Technology**, v. 11, n. 7, p. 254-262, 2000.

9. DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema.** 4ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2010.

10. DAROIT, D. J.; CORRÊA, A. P. F.; CANALES, M. M.; COELHO, J. G.; HIDALGO, M. E.; TICHOTA, D. M.; RISSO, P. H.; BRANDELLI, A. Physicochemical properties and biological activities of ovine caseinate hydrolysates. **Dairy Science and Technology**, v. 92, p. 335– 351, 2012.

11. FIRESTONE, D. **Physical and Chemical Characteristics of Oil, Fats, and Waxes**. 3rd ed. Urbana, AOCS, 2013.

12. FITZGERALD, R. J.; O'CUINN, G. Enzymatic debittering of food protein hydrolysates. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 2, p. 234-237, 2006.

13. FONTOURA, R.; DAROIT, D. J.; CORREA, A. P. F.; MEIRA, S. M. M.; MOSQUERA, M.; BRANDELLI, A. Production of feather hydrolysates with antioxidant, angiotensin-I converting enzyme- and dipeptidyl peptidase-IV inhibitory activities. **New Biotechnology**, v. 31, n. 5, p. 506 – 513, 2014.

14. FREITAS, J. B.; NAVES, M. M. V. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. **Revista de Nutrição**, v. 23, p. 269-279, 2010.

15. FRANCK, M.; PERREAULT, V.; SUWAL, S.; MARCINIAK, A.; BAZINET, L.; DOYEN, A. High hydrostatic pressure-assisted enzymatic hydrolysis improved protein digestion of flaxseed protein isolate and generation of peptides with antioxidant activity. **Food Research International**, v. 115, p. 467-473. 2018.

16. FU, X.; MA, N.; SUN, W.; DANG, Y. Microwave and enzyme co-assisted aqueous two-phase extraction of polyphenol and lutein from marigold (*Tagetes erecta* L.) flower. **Industrial Crops & Products**, v. 123, p. 296–302, 2018.

17. GATTO, D. A.; HASELEIN, C. R.; SANTINI, E. J.; MARCHIORI, J. N. C.; DURLO, M. A.; CALEGARI, L.; STANGERLINET, D. M. Características tecnológicas das madeiras de *Luehea divaricata*, *Carya illinoinensis* e *Platanus x acerifolia* quando submetidas ao vergamento. **Ciência Florestal**, v. 18, n. 1, p. 121-131, 2008.

18. GRANATO, D.; GREVINK, R.; ZIELINSKI, A. A.; NUNES, D. S.; VAN RUTH, S. M. Analytical strategy coupled with response surface methodology to maximize the extraction of antioxidants from ternary mixtures of green, yellow, and red teas (*Camellia sinensis* var. sinensis). **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** v. 62, n. 42, p. 10283-10296, 2014.

19. HALIM, N. R. A.; AZLAN, A.; YUSOF, H. M.; SARBON, N. M. Antioxidant and anticancer activities of enzymatic eel (*Monopterus sp*) protein hydrolysate as influenced by different molecular weight. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.16, p. 10–16, 2018.

20. HOYLE, N. T.; MERRITT, J. H. Quality of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). **Journal of Food Science**, v. 59, n. 1, p. 76-79, 1994.

21. HU, F.; CI, A.; WANG, H.; ZHANG, Y.; ZHANG, J.; THAKUR, K.; WEI, Z. Identification and hydrolysis kinetic of a novel antioxidant peptide from pecan meal using Alcalase. **Food Chemistry**, v. 261, p.301, 2018.

22. JIANG, L.; HUA, D.; WANG, Z.; XU, S. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil and protein hydrolysates. **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, p. 233–238, 2010.

23. KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de Alimentos: Teoria e Aplicações Práticas**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2008.

24. LEONHARDT, C.; DIDIER, D. **O que a próxima década reserva para o mercado de alimentos: horizonte 30 food.** TACTA Food School. Disponível em https://tactafood.school/blog/horizonte-30-food. 2020. Acesso em 12 de novembro de 2020.

25. LICEAGA-GESUALDO, A. M.; LI-CHAN, E. C. Y. Functional properties of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). **Journal of Food Science**, v. 64, n. 6, p. 1000-1004, 1999.

26. LI, Y.; JIANGA, L.; SUIA, X.; QIA, B.; HANA, Z. The study of ultrasonic-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from peanut by response surface method. **Procedia Engineering**; v. 15, p. 4653 – 4660, 2011.

27. LIU, Q.; KONG, B.; XIONG, Y.L.; XIUFANG, X. Antioxidant activity and functional properties of porcine plasma protein hydrolysate as influenced by the degree of hydrolysis. **Food Chemistry**; v. 118 (2), p. 403–410, 2010.

28. LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

29. MACIEL, L.G.; RIBEIRO, F.L; TEIXEIRA, GERSON, L.; MOLOGNONI, L.; DOS SANTOS, J.N.; NUNES, I.L.; BLOCK, J.M. The potential of the pecan nut cake as an ingredient for the food industry. **Food Research International**, v. 127, p. 108718, 2019.

30. MCWILLIAMS, J. **The pecan: A history of America's native nut.** Austin: Hardcover, 2013. 178p.

31. NCBE, University of Reading. Enzymes for education: Alkaline protease. **Novozymes Alcalase®.** National Centre for Biotechnology Education, 2018a. Disponível em: http://www.ncbe.reading.ac.uk/MATERIALS/Enzymes/alcalase.html. Acesso em 17 de novembro de 2020.

32. NCBE, University of Reading. Enzymes for education: Cellulase. **Novozymes Celluclast®.** National Centre for Biotechnology Education, 2018b. Disponível em: http://www.ncbe.reading.ac.uk/MATERIALS/Enzymes/celluclast.html. Acesso em 17 de novembro de 2020.

33. NGUYEN, H. C.; VUONG, D. P.; NGUYEN, N.T.T.; NGUYEN, N. P.; SU, C.; WANG, F.; JUAN, H. Aqueous enzymatic extraction of polyunsaturated fatty acid–rich sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seed oil: An eco-friendly approach. **LWT - Food Science and Technology**; v. 133, p. 109-992, 2020.

34. NOVOZYMES. Ficha de informação do produto. Novozymes Brasil, 2018.

35. OZDAL, T.; CAPANOGLU, E.; ALTAY, F. A review on protein–phenolic interactions and associated changes. **Food Research International**, v. 51, p. 954–970. 2013.

36. POLMANN, G. **Extração aquosa assistida por enzimas e caracterização das frações sólida, aquosa e oleosa de noz pecã [*Carya illinoinensis* (Wangenh) C. Koch].** 2019. (Mestre). Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

37. POLMANN, G., BADIA, V., FRENA, M., TEIXEIRA, G. L., RIGO, E., BLOCK, J. M., FELTES, M. M. C. Enzyme-assisted aqueous extraction combined with experimental designs allow the obtaining of a high-quality and yield pecan nut oil. **LWT - Food Science and Technology;** v.113, p. 108-283, 2019.

38. ROBBINS, K. S.; GONG, Y.; WELLS, M. L.; GREENSPAN, P.; PEGG, R. B. Investigation of the antioxidant capacity and phenolic constituents of U.S. pecans. **Journal of Functional Foods,** v. 18, p. 1002-1013, 2015.

39. ROHN, S. Possibilities and limitations in the analysis of covalent interactions between phenolic compounds and proteins. **Food Research International**, v. 65, Part A, p. 13 - 19, 2014.

40. ROSENTHAL, A.; PYLE, D.L.; NIRANJAN, K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. **Enzyme and Microbial Technology,** v. 19, p. 402–420, 1996.

41. ROVARIS, A.; DIAS, C.O.; CUNHA, I.P.; SCAFF, R.M.C.; DE FRANCISCO, A.; PETKOWICZ, C.L.O.; AMANTE, E.R. Chemical composition of solid waste and effect of enzymatic oil extraction on the microstructure of soybean (*Glycine max*). **Industrial Crops and Products**, v. 36, p. 405–414, 2012.

42. ROVARIS, A.A; BALSAMO, G. M.; COSTA, A.C.O; ARISI, A.C.M; MICKE, G.A.; PIOVEZAN, M.; PETKOWICZ, C.L.O; AMANTE, E.R. Chemical characterization of liquid residues from aqueous enzymatic extraction of soybean oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, p. 51-58, 2013.

43. SALVADOR, A. A. **Atividade antioxidante e perfil de ácidos graxos de extratos da torta de noz pecã (*Carya illinoinensis*) obtidos por extração supercrítica**. 2014. (Mestre). Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

44. SHAHIDI, F.; SENADHEERA, R. **Encyclopedia of Food Chemistry: Protein–Phenol Interactions**. Department of Biochemistry, Memorial University of Newfoundland, St. John's, Newfoundland, 2018.

45. SILVA, F. G. D.; MERALLES, B.; HERNÁNDEZ-LEDESMA, B.; AMIGO, L.; IGLESEIAS, A. H.; REYES, F. G. R.; NETTO, F M. Influence of protein–phenolic complex on the antioxidant capacity of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 4, p. 800 – 809, 2017.

46. SINGLETON, V. L.; ROSSI Jr, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagent. **American Journal of Enology and Viticulture,** v. 16, p. 144–158, 1965.

47. TONG, X.; LIAN, Z.; MIAO, L.; QI, B.; ZHANG, S.; LI, Y.; WANG, H.; JIANG, L. An innovative two-step enzyme-assisted aqueous extraction for the production of reduced bitterness soybean protein hydrolysates with high nutritional value. **LWT - Food Science and Technology**; v. 134, P. 110-151, 2020.

48. TSUGITA, A.; SCHEFFLER, J. J. A rapid method for acid hydrolysis of protein with a mixture of trifluoroacetic acid and hydrochloric acid. **European Journal of Biochemistry**, v. 124, p. 585-588, 1982.

49. VENKATACHALAM, M. **Chemical composition of select pecan [*Carya illinoinensis* (Wangenh.) K. Koch] varieties and antigenic stability of pecan proteins**. 106 (Doctor of Philosophy). Department of Nutrition, Food and Exercise Sciences, Florida State University, Florida, 2004.

50. YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 1573–1580, 2009.

51. YUSOFF, M.; GORDON, M. H.; NIRANJAN, K. Aqueous enzyme assisted oil extraction from oilseeds and emulsion de-emulsifying methods: A review. **Trends in Food Science & Technology,** v. 41, p. 60–82, 2015.

05

Caracterização físico-química do caroço de açaí (*Euterpe oleracea Mart.*) torrado destinado à produção de uma bebida quente

- Nizete Chaves **Costa**
  UFPA
- Nadia Cristina Fernandes **Correa**
  UFPA
- Andréia Costa da **Silva**
  UFPA
- Vanessa Albres **Botelho**
  UFPA

doi 10.37885/201102243

RESUMO

O referido trabalho consistiu em caracterizar o caroço de açaí (*Euterpe oleracea Mart.*) a ser utilizado na produção de uma bebida quente. O aproveitamento desse resíduo para a produção de tal bebida é uma alternativa à redução dos impactos ambientais gerados pelo despolpamento do açaí, conferindo valor agregado tanto ao resíduo agroindustrial como dos batedores artesanais de açaí, e a possibilidade de produção e inserção no mercado de uma nova bebida de possível comparação sensorial ao café tradicional, bem como destinação final adequada ao caroço. Objetivo: o objetivo do trabalho foi caracterização físico-química, e a diminuição da concentração de tanino com tratamento térmico do caroço de açaí. Nesse sentido, o processo destinado aos caroços consistiu na secagem da matéria prima para facilitar a remoção do tecido fibroso, tratamento térmico, torrefação, moagem e granulometria. Métodos: foram realizadas análises químicas para determinação de polifenóis totais e quantificação de taninos nos caroços *in natura*, bem como a composição química, teor de polifenóis e taninos nos caroços torrados. O caroço de açaí in natura apresentou teor de polifenóis totais de 245,51 (mgEAG/100 gB.S.) e nos caroços torrados este valor foi reduzido para 81,33 (mgEAG/100 gB.S.). A concentração mássica de taninos (mg.100g-1) caiu de 1,19 para 0,53 após o processamento. Conclusão: isto indica a possibilidade de produzir uma bebida com menor adstringência e maior probabilidade de ingestão e aceitação, haja vista que esse composto pode reduzir a ingestão por diminuição da aceitabilidade.

Palavras-chave: Café, Resíduo, Compostos Fenólicos, Taninos.

INTRODUÇÃO

O consumo de produtos à base de açaí no Brasil e em diversas partes do mundo está se tornando cada vez mais popular. Esse aumento de produção, principalmente no estado do Pará, gera grande quantidade de resíduos, formada principalmente por caroços, que constituem a maior parte do fruto, e que são jogadas nas ruas e nos leitos dos rios, contaminando a terra e os lençóis freáticos.

Somente na cidade de Belém-PA, são descartadas diariamente toneladas de caroço provenientes do beneficiamento da polpa em larga escala e de pequenos batedores, como são comumente chamados os estabelecimentos artesanais beneficiadores de açaí. Esses resíduos podem representar sérios riscos ao meio ambiente se não forem aproveitados e gerenciados de forma adequada. A possibilidade de extração de compostos de alto valor agregado do caroço de açaí vem a ser uma alternativa tecnológica bastante interessante para o aproveitamento desses resíduos (MENEZES NETO, 2004; PAULA, 1975; RODRIGUES et al., 2006). Desta forma, existe uma grande demanda pelo desenvolvimento de processos visando o aproveitamento desses resíduos, tais como a geração de energia pela queima dos caroços e compostagem (ROGEZ 2000; LUCZYNSKI, 2008).

Hoje o aproveitamento dos subprodutos do açaí contempla três vertentes muito importantes: meio ambiente, industrialização, emprego e renda. No entanto, o potencial de aproveitamento dos caroços de açaí para a alimentação humana na literatura e dados sobre a caracterização dos mesmos ainda é pouco referenciada.

A bebida do caroço de açaí tem como finalidade atender um mercado em que pessoas por algum motivo não podem ingerir cafeína ou pessoas que queiram diminuir a quantidade de cafeína ingerida diariamente, uma vez que a bebida do cafeeiro estimula o sistema nervoso central, causando insônia, mal estar, entre outros sintomas. Essa bebida detém as mesmas características de cor, sabor e aroma do café, entretanto com valores nutricionais saudáveis (ALENCAR, 2005).

Entre os compostos presentes no caroço de açaí, a literatura relata a presença de galactomanana, inulina, polifenóis e taninos (MENEZES NETO, 2004; PAULA, 1975; RODRIGUES et al., 2006).

Os polifenóis são metabólicos secundário, essenciais para o crescimento e reprodução de plantas. Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até moléculas com alto grau de polimerização e estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas. Os compostos fenólicos são incluídos na categoria de interruptores de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da autoxidação (NACZK & SHAHIDI, 2004). Os polifenóis identificados no caroço de açaí são principalmente

protocianidina e epicatequina, pertencentes da classe dos taninos, apresentam utilização na indústria de curtimento de couro, farmacêutica e cosmética (RODRIGUES et al., 2006).

Os taninos são compostos fenólicos de grande interesse econômico e ecológico. Tais compostos apresentam solubilidade em água e são responsáveis pela adstringência de muitos frutos e produtos vegetais, devido à precipitação de glucoproteínas salivares, o que ocasiona a perda do poder lubrificante. (BRUNETON, 1991).

Nesse sentido, a bebida sabor café é um produto de enorme potencial no mercado, e é obtida através de processos tecnológicos adequados envolvendo o caroço do açaí torrado, o qual não possui cafeína. Nesse sentido o pó do caroço torrado possibilitará a produção de uma bebida descafeinada e consequentemente com um caráter amargo inferior (ALENCAR, 2005).

OBJETIVO

Produzir uma bebida descafeínada semelhante ao café em características sensoriais, proveniente do reaproveitamento sustentável do caroço do açaí.

Objetivos específicos

- Caracterizar o caroço de açaí in natura
- Testar diferentes tempos de torrefação
- Caracterizar o caroço torrado no melhor tempo definido
- Quantificar a quantidade de polifenóis e taninos no caroço in natura e torrado

MÉTODOS

Matéria-Prima

Foram utilizados caroços de açaí (*Euterpe oleracea Mart.*) adquiridas no mercado local de Belém. Após coletados foram transportados em embalagens de polietileno ao Laboratório de Operações e Separações (LAOS) da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Pará – UFPA, local onde foram fracionados em duas partes, uma mantida *in natura* e outra submetida destinada à torrefação.

Preparo das Amostras

Na primeira fração os caroços *in natura* foram limpos, secos em estufa 29°C a 30min, moídos e efetuada a granulometria. A outra fração passou por secagem em estufa a 60°C

por 100 min., e remoção do tecido fibroso. Posteriormente foi submetida a tratamento térmico por aproximadamente 45 min. a 95-100 °C., executando-se troca de água a cada 15 min. Procedeu-se a torrefação a 142 °C por 60 min., moagem e granulometria. A moagem das frações foi realizada em equipamento de moagem de alta velocidade RRH-A 1000 e a determinação da granulometria através de peneiras granulométricas (28, 48, 60 e 100 meshs).

As amostras foram mantidas sob refrigeração e encaminhadas ao Laboratório de Bromatologia do Centro de Valorização Agroalimentar de Compostos Bioativos da Amazônia (CVACBA) onde foram realizadas análises de carboidratos, proteínas, lipídios, cinzas, fibras, polifenóis totais e taninos. Na figura 1 pode-se visualizar melhor o manuseio dos caroços.

Caracterizações Físico-Química

O conteúdo lipídico foi determinado por extração a quente em extrator Soxhlet, de acordo com a metodologia da AOAC (1990); o teor de cinzas conforme as normas do Instituto Adolfo Lutz e a fibra bruta por hidrólise ácida e básica.

A análise de proteínas foi realizada segundo método de Khjedal, e fibra alimentar (AOAC, 2005) adaptada em equipamento automático VELP SCIENTIFICA VOK 159, utilizando-se 1g da amostra desengordurada, 1g de mistura catalítica com digestão a 420 °C por 1 hora; a quantidade de carboidratos foi obtida por diferença. Os resultados foram expressos em g/100g.

Obtenção do Extrato Aquoso

Para o preparo dos extratos foi pesado 1 g de cada amostra moída (0,32 mm- 48 meshs) em béquer de 50mL e adicionados 19 mL de água destilada aquecida a 80°C. A mistura foi homogeneizada com auxílio de bastão de vidro e filtrada em funil de Buchner e papel filtro obtendo-se o extrato aquoso.

Quantificação dos Compostos Fenólicos (Polifenóis Totais)

A concentração de polifenóis totais foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Singleton & Rossi. Em tubo de ensaio, adicionaram-se 20 mL do extrato diluído 200 vezes, reagente de Folin-Cicalteau diluído em água 2 vezes e 7,5g de Carbonato de Cálcio/ a 75%. Os tubos foram agitados e após 40 minutos foi feita a leitura em espectrofotômetro, em absorbância de 750 nm em espectrofotômetro UV/VIS. Para quantificação foi empregada uma curva padrão com solução de ácido gálico concentrações em diferentes concentrações. Foi calculado um coeficiente de correlação (R^2), resultando R^2= 0,9978. O teor de polifenóis totais foi expresso em mg equivalente de Ácido Gálico (EAG)/L.

Quantificação dos Taninos

O conteúdo taninos foi determinado pela metodologia Butanol-HCL adotada pelo CVACBA. As diluições foram feitas 100 vezes em metanol. Adicionou-se, em sequência, 1000μl do extrato diluído para 2000μl de solução de Butanol-HCl, levando a mistura a Banho Maria a 90°C por 120 minutos. O branco, preparado conforme a amostra, não foi aquecida, pois a reação, contendo amostra e reagente, não se desenvolve sem ebulição. Após esse período, a absorbância das amostras foi lida em cubetas de vidro de 10 mm em espectrofotômetro Uv/Vis com comprimento de onda de 550 nm.

RESULTADOS

Caracterização Físico-Química do caroço de açaí

A Tabela 1, abaixo, apresenta os parâmetros físico-químicos analisados no caroço de açaí torrado.

Tabela 1. Características do pó do caroço torrado, comparados aos parâmetros estabelecidos na literatura para o caroço in natura e o café tradicional.

Parâmetros (g/100g)	Café Tradicional[1]	Caroço in natura[2]	Caroço Torrado
Carboidratos	62,67 - 71,96	10,85 (parte inulina)	0,29
Proteínas	13,76 - 17,69	6,20	0,09
Lipídeos	6,93 - 11,12	1,60	0,06
Cinzas	4,56 - 4,96	1,29	0,02
Fibras	14,60 - 21,48	78,48	1,10

[1]Fonte – LAGO, R. C. A. et al. 2002; [2]Fonte – ALENCAR, 2005;

Quantificação de Compostos Fenólicos (Polifenóis Totais)

A quantificação dos polifenóis foi determinada com base na curva padrão analítica do ácido gálico em concentrações deste variando de 0 a 9 mg/L, de onde se obteve a equação da reta y = 0,1092x + 0,0192 e coeficiente de correlação linear r^2 = 0,9936.

Tabela 2. Dados de absorbância (ABS) em 750 nm do extrato aquoso do caroço de açaí *in natura* e torrado e suas respectivas concentrações de polifenóis totais.

Caroços	ABS média (nm)	Polifenóis Totais (mgEAG/100 gB.S.)	Desvio Padrão
In natura	0,773	245,51	1,61
Torrado	0,327	81,33	0,78

Obtenção do extrato aquoso<S>

O extrato aquoso foi obtido a partir das referidas amostras do caroço de açaí por difusão em água quente (80°C), adotou-se temperatura alta, pois os compostos fenólicos apresentam comportamento semelhante à inulina possuindo uma maior solubilidade com o aumento da temperatura (SILVA, 1996*).* O uso de temperaturas elevadas também possui como vantagem a inativação das enzimas presentes nos alimentos, que podem interferir em processos posteriores. Além disso, o uso de altas temperaturas no processo de extração resulta em menores quantidades de compostos nitrogenados no produto final (TONELI, 2006)

Quantificação de Taninos

A leitura das absorbâncias (Tabela 3), que apresentaram valores médios variando entre 0,097 e 0,109 para os extratos do caroço *in natura* e entre 0,091 e 0,070 para os extratos do caroço torrado, os valores das concentrações (m/v) de taninos foram obtidos pela curva de calibração padrão determinada por Schofield; Mbugua; Pell (2001). A partir da curva de calibração padrão para cianidina, foram calculadas as concentrações aproximadas de taninos condensados totais, seus resultados estão expostos na Tabela3:

Tabela 3. Dados de absorbância (ABS) em 550 nm do extrato aquoso do caroço de açaí *in natura* e torrado e suas respectivas concentrações de taninos condensados.

Caroço	ABS Média	Conc. de taninos cond. ($mg.mL^{-1}$)	Conc. mássica de taninos ($mg.100g^{-1}$)
In natura	0,104	23,61	1,19
Torrado	0,076	10,46	0,53

DISCUSSÃO

Os parâmetros físico-químicos analisados no caroço torrado do presente estudo, foram: carboidratos, proteínas, lipídios, cinzas e fibras, e como pode ser visto na Tabela 1, os valores encontrados estão bem abaixo dos valores encontrados para o café tradicional e o caroço *in natura*. Este resultado pode ser explicado devido ao processamento térmico sofrido pelas amostras.

Comparando-se os parâmetros entre o café tradicional e o caroço de açaí torrado, nota-se que o caroço de açaí torrado apresenta menores quantidades de nutrientes comparados com o café torrado tradicional apresentando uma diferença bastante acentuada. O caroço in natura pó si só já apresenta uma concentração baixa em relação ao café, lembrando-se que trata-se de um resíduo.

Em relação aos teores de polifenóis, observou-se que os caroços i*n natura* apresentaram o maior teor de polifenóis, com 245,51 mgEAG/100gB.S. comparado aos caroços torrado, que obtiveram concentração de 81,33 mgEAG/100gB.S. Durante o processo de torrefação, parte desses compostos são degradados. Assim como no processo de produção

do café descrito por Tocci 2006, o café ao passar pelo processo de torrefação, perde parte dos seus compostos fenólicos. Essa perda chega a uma faixa de 60% após torrefação livre. (MOREIRA; TRUGO; DE MARIA, 2000).

A **T**abela 2 evidenciou uma degradação dos polifenóis em aproximadamente 66,88% para o caroço de açaí torrado, mostrando uma perda desses compostos muito próxima ao do café tradicional, demonstrando ainda que o tempo e a temperatura de torra foram adequados ao processo. A elevada degradação desses compostos contribui na qualidade final do produto, dando origem a pigmentos e compostos voláteis que contribuem de maneira altamente significativa para o sabor e aroma (PIMENTA, 1995).

Segundo Alencar, o aproveitamento do caroço de açaí (*in natura*) já desperta bastante interesse no exterior, tanto como alimento para animais ou humanos como aquecimento (queima em lareiras), ou para enriquecer alimentos, pelo seu conteúdo em proteínas e fibras. No entanto, diante dos parâmetros analisados, nota-se um baixo teor de nutrientes para o caroço torrado, quando comparado ao caroço *in natura* estudado pelo autor. Entende-se que a diferença bastante significativa no teor de fibras seja consequência da retirada do tecido fibroso durante o processo.

No que se refere aos lipídeos, à concentração se mostrou pequena, parte desse nutriente é perdida no processo de moagem, porém uma redução muito acentuada acarreta perda na qualidade do produto, fato que segundo Pimenta (2003 apud AGUIAR, 2005) explica porque os cafés de melhor qualidade apresentam os maiores teores de lipídeos.

Estima-se que a variação na concentração das proteínas descritos na tabela seja oriunda do processo de torrefação, processo esse que causa desnaturação das proteínas, mas que também geram vários compostos responsáveis pelo sabor e aroma. Para sustentar tal afirmação faz-se referência a Hoffman (2001), que estudou o efeito da torra em cafés e afirma que durante o processo de torra as proteínas sofrem efeito da reação de Maillard com compostos fenólicos e açucares e em função da intensidade da operação, a perda de proteínas durante o processo pode ser de 20 a 40%.

Os resultados apresentados na Tabela 3, mostram que o processamento térmico foi capaz de reduzir o teor de taninos, que são bastante solúveis em água a temperatura elevada. Este resultado indica uma possibilidade de produzir uma bebida com menor adstringência e maior probabilidade de ingestão e aceitação, haja vista que esse composto pode reduzir a ingestão por diminuição da aceitabilidade. Não foram encontrados parâmetros para a quantidade de taninos presentes no caroço *in natura* ou no caroço torrado nas referências literárias que pudessem servir de base para possíveis comparações na quantificação deste composto.

CONCLUSÃO

A caracterização do caroço de açaí torrado não apresentou quantidades significativas de nutrientes comparado com o café tradicional. Entretanto, o teor de taninos foi facilmente degradado durante o processo, indicando a possibilidade de produzir uma bebida com menor adstringência e maior probabilidade de ingestão e aceitação, haja vista que esse composto pode reduzir a ingestão por diminuição da aceitabilidade. Quanto aos valores quantificados de polifenóis, pode-se afirmar que a bebida elaborada a partir do caroço torrado poderá apresentar benefícios, pois possui atividade antioxidante associada aos compostos bioativos, além de ser oriunda de um resíduo que não possui cafeína. No entanto, para melhores conclusões acerca da sua atividade antioxidante, faz-se necessário estudos mais aprofundados na área.

REFERÊNCIAS

1. AGUIAR, M. O.; MENDONÇA, M. S. *Morfo-anatomia da semente de Euterpe precatoria Mart. (Palmae).* Revista Brasileira de Sementes, v. 25, n. 1, p. 37-42, 2003.
2. AGUIAR, A.T.E. *Atributos químicos de espécies de café*. 2005.87f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba.
3. ALENCAR, A. C. T. de. *Açaí: novas perspectivas de negócios*. Edição SEBRAE, p. 48-55, 2005.
4. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analyses of the Association of Official Analytical Chemists*. 15. ed. Washington, 1990. 684p. (adaptada pelo CVACBA)
5. BRUNETON, J.; *Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia*. AS/Espanha: Ed. Acribia,1991. 594p. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso em Tec. e Engª. de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, 2013
6. HOFFMANN, C.E. *Resfriamento no processo de torra nas características de qualidade tecnológica e sensorial do café*. 2001.86f. Dissertação (Mestrado em ciências) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.
7. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos.* 3 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, v.1, p. 190-192, 1985.
8. LAGO, R. C. A. et al. *Composição centesimal e de aminoácidos de café verde, torrado e de borra de café solúvel. Industrialização e qualidade do café*. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2002, Vitória. Anais... Porto Velho: EMBRAPA, 2002. v.4, p.1136-1139.
9. LUCZYNSKI. M, *Estudo da viabilidade econômica para a utilização da semente da Euterpe oleracea Mart. (açaí) como recurso energético*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civíl), Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará 2008.
10. MENEZES-NETO, M.A, *Caracterização anatômica e degradação de reservas em sementes e plântulas de açaizeiro Euterpe oleracea Mart. (açaí) durante a anaerobiose*. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Lavras. 2004.

11. MOREIRA, R.F.A.; TRUGO, L.C.; DE MARIA, C.A.B. *Componentes voláteis do café torrado, parte 2: compostos alifáticos, alicíclicos e aromáticos.* Química Nova, v.23, n. 2, p. 195-203, 2000.

12. NACZK.M.; SHAHIDI. F.; *Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography* A, 1054 95–111. 2004.

13. PAULA, J.E., *Anatomy of Euterpe oleracea Mart. (Palmae da Amazônia),* Acta Amazônica 5(3): 265-278.1975

14. PIMENTA, C. J. *Qualidade do café (Coffea arabica L.) originado de diferentes frutos colhidos em quatro estádios de maturação.* 1995. 94f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

15. RODRIGUES. R.B.: LICHTENTHALER.R.; ZIMMERMANN. B.F.; PAPAGIANNOPOULOS. M.; FABRICIUS.H.; MARX. F.; *Total Oxidant Scavenging Capacity of Euterpe oleracea Mart. (acai) Seeds and Identification of Their Polyphenolic Compounds*. J. Agric. Food Chem., 54, 4162-4167, 2006

16. ROGEZ. H, *Açaí: preparo composição e melhoramento da conservação*. EDFPA, Belém, 2000.

17. SCHOFIELD, P; MBUGUA, D.M; PELL, A.N. *Analysis of condensed tannins: a review. Animal Feed Science and Technology*. New York, v.9, p. 21-40, 2001 (ajustar, colocar disertação)

18. SILVA, R.F., *Use of inulin as a natural texture modifier. Cereal Foods World*. v.41, n.10, p.792-795. 1996. Dissertação (Mestrado em Biotecnlogia) – Universidade Federal de São Carlos, 2010.

19. TONELI, J. T. C. L. *Processos de separação física e secagem de inulina obtida a partir de raiz de chicória (Cichorium intybus L.).* Campinas, 2006. 177p. Tese (doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

06

Comparação entre métodos de conservação de batata inglesa e doce minimamente processadas

Érica Wanzeler **Wanzeler**

10.37885/201102317

RESUMO

O mercado de alimentos vem passando por constantes mudanças, onde os produtos pré-elaborados ou pré-aquecidos substituem os produtos brutos. Em virtude disto os alimentos minimamente processados surgiram para dar resposta a uma nova tendência de consumo, com uma aceitação cada vez maior devido a sua praticidade. Uma das alternativas para o aumento da vida útil e da segurança dos produtos minimamente processados dá-se pela adição de ácido cítrico e através do branqueamento. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo submeter à batata e a batata doce minimamente processada a dois métodos de conservação, ácido cítrico com concentração de 1,5 e 2,5 %e branqueamento. As analises feitas foram: °brix, acidez e rátio, onde foi comprovado que esses dois métodos de conservação utilizados este trabalho são muito eficazes para conservação de alimentos, principalmente nas amostras que foram submetidas a concentrações de ácido, aumentando assim sua vida de prateleira.

Palavras-chave: Batata, Batata Doce, Processo, Conservação.

INTRODUÇÃO

Segundo a FAO (FAO/OMS, 2017), O desperdício de comida ainda é muito frequente, cerca de 1,3 bilhão de toneladas de alimentos são perdidos por ano, e essa perda ocorre desde à produção agropecuária até o preparo doméstico. Sendo assim, a tecnologia de alimentos vem contribuindo significativamente para a escolha do método de conservação mais eficaz e que dê praticidade no preparo do alimento, e consequentemente a diminuição do desperdício com o aumento da durabilidade, não interferindo na qualidade do alimento, tanto no aspecto nutricional quanto no sensorial. (PRIMO, 2018).

A batata inglesa (*Solanum tuberosum* L.) é a olerícola de maior importância comercial para o Brasil, isso se deve ao seu alto potencial de rendimento, suas propriedades nutricionais e sua versatilidade de uso culinário tornando-a essencial para alimentação humana. É a terceira cultura alimentar mais importante do planeta, e a primeira commodity não grão, e estimativas apontam que mais de um bilhão de pessoas consomem batata diariamente no mundo (BARBOSA, 2020).

A batata-doce (*Ipomoea Batatas L.*) é uma hortaliça tuberosa, considerada uma cultura rústica devido sua resistência a déficit hídrico, baixo custo de produção e boa adaptação a clima tropical e subtropical. Possui variedade em sua polpa e casca coloridas, destacando-se pela procura a de casca rosada e polpa amarelada e principal forma de consumo entre os brasileiros são as raízes cozidas, assadas ou fritas (CORDEIRO, 2018).

Nos últimos anos tem aumentado tanto a produção quanto a procura por produtos vegetais minimamente processados, isso se deve a mudança de estilo de vida das pessoas, que cada vez mais buscam por produtos frescos e saudáveis, além do pouco tempo que disponibilizam para fazer o preparo das suas refeições (SOUZA et, al. 2018).

Processar minimamente consiste em etapas como: seleção, lavagem, sanitização, descasque e corte, seguidos de centrifugação, embalagem e refrigeração, garantindo um alimento de qualidade, conveniência e frescor, além de manter ao máximo as características originais da matéria-prima (PIRES, 2017).

Esse processo de corte e descascamento acaba gerando danos à estrutura do vegetal e com isso altera algumas características sensoriais, alterações estas que ocorrem devido ao aumento da atividade enzimática, principalmente a peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO).

Em resposta a esse processo natural que ocorre nos alimentos, há vários métodos que contribuem na diminuição do escurecimento enzimático, dentre eles a utilização de temperaturas que levem à desnaturação enzimática e a adição de compostos acidulantes (PRIMO, 2018).

O branqueamento é um método utilizados para conservação, e seu processo tem como princípio o uso de calor, que tem como finalidade desnaturar as enzimas envolvidas e torna-las inativas (PRIMO, 2018).

O ácido cítrico é o principal agente acidulante utilizado na indústria de alimentos para prevenção do escurecimento enzimático, isso se deve a sua capacidade de bloquear a atividade da enzima através da sua ação quelante e reduzir o pH, além de ser sensorialmente aceito pela maioria dos consumidores quando utilizado em baixas concentrações (Cordeiro, 2018).

Neste contexto, o presente trabalho objetivou o estudo de diferentes métodos de conservação para a batata inglesa e doce minimamente processadas, utilizando o àcido cítrico e a técnica do branqueamento.

MÉTODOS

Para a realização das análises foi necessário a utilização de alguns utensílios como: Facas de aço inóx, recipientes de polietileno, recipientes de aço inóx, tábua de polietileno, béquer, Erlenmeyer, bureta, proveta, balança analítica, escorredor, sacos de polietileno e refratômetro.

As matérias-primas foram coletadas em dois estabelecimentos localizados na cidade de Cametá-PÁ, e em seguida foram levadas para o laboratório de alimentos da Universidade do Estado do Pará campus XVIII para a realização das etapas de limpeza, sanitização e posteriores análises.

A princípio foi realizado a sanitização a 200 $mg.L^{-1}$ de todos os utensílios que seriam utilizados e em seguida, foi realizado a lavagem das batatas em agua corrente e sanitização a 100 $mg.L^{-1}$ por 15 minutos. Após esse processo, as batatas foram descascadas e cortadas em pequenos cubos, medindo 12,24 mm de altura e 13,03 mm de largura e a batata doce medindo 15,48 mm de altura e 11,47 mm de largura. Após esse processo, foram armazenados em recipiente com agua gelada, com o intuito de retardar o processo de deterioração até a etapa de pesagem.

Para o método de conservação com ácido, foram preparadas duas soluções de ácido cítrico com concentrações de 1,5% e 2,5% e armazenadas em refrigeração. Foram pesadas 150 g de batata inglesa e 180 g de batata doce para cada concentração de ácido cítrico, as amostras permaneceram em contato com a solução por 1 hora e 30 minutos. Após o tempo estimado, foram lavadas para retirada do excesso de ácido, escorridas e embaladas em sacos de polietileno e armazenados sobre refrigeração.

Para o branqueamento foram pesados 150 g da batata inglesa e 180 g da batata doce, onde foram adicionados na água com temperatura de 100°C por 5 minutos. Em seguida, foram retiradas da água quente através de um escorredor e colocadas em água gelada por

5 minutos para que ocorresse o choque térmico, logo após foi retirado o excesso de água e as amostras armazenadas em sacos polietileno, sendo mantidas sobre refrigeração. O processo foi realizado separadamente para batata doce e inglesa.

Para observação e comparação foram separadas também amostras de batata inglesa e batata doce que foram intituladas “controle”, onde não passaram por nenhum tipo de tratamento.

Em todas as amostras com e sem tratamento foram realizadas durante 7 dias análises de °Brix, acidez, feitas em duplicata. As analises seguiram o protocolo do Instituto Adolf Lutz (2008).

RESULTADOS

Análises físico-químicas

Na Figura 1 são apresentados as amostras de batata inglesa (B) e batata doce (B.D) fotografados após serem submetidos durante sete dias ao método de conservação por branqueamento e tratamento com ácido cítrico a 1,5 % e 2,5%, e também as amostras controle (B.N e B.D.N), onde é possível observar principalmente as mudanças de coloração.

FIGURA 1. Cubos de batata inglesa e batata doce (controle) e de sete dias após serem submetidos aos tratamentos de branqueamento e ácido cítrico com concentração de 1,5% e 2,5%.

Podemos observar que a batata controle, sem nenhum tipo de tratamento, apresentou maior mudança de cor em relação às outras, também foram observadas mudanças na textura, aroma e rigidez. A batata branqueada teve uma boa durabilidade, porém a partir do 5º dia de observação apresentou características de deterioração, como odor, textura mole e formação de espuma. Já a batata com concentração de ácidos de 1,5% e 2,5%, a que mais se destacou foi a com ácido a 2,5%, apresentando poucas características de deterioração

em relação a textura e odor, e pouco escurecimento. Em relação a batata doce controle, branqueada e com os tratamentos de ácidos, todas apresentaram boa conservação com exceção a branqueada que apresentou mudança na cor e textura.

Acredita-se que a forma de armazenamento na embalagem influenciou de forma significativa na qualidade do produto, pois o mesmo deveria ser embalado à vácuo.

Acidez

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos em relação a ATT, onde podemos observar que a amostra que apresentou maior índice de acidez foi a batata inglesa e doce a tratadas com 2,5% de ácido cítrico, o que é esperando devido ao ácido remanescente nessas amostras.

TABELA 1.Média e desvio padrão dos resultados de acidez total titulável (ATT).

	1º dia	4º dia	7º dia
Batata D. controle	**0,4 ±0,0**	**0,5 ±0,14**	**0,6 ±0,28**
Batata controle	**0,6 ±0,0**	**0,6 ±0,14**	**0,9 ±0,0**
Batata D branqueada	**0,4 ±0,0**	**0,3 ±0,0**	**0,45 ±0,4**
Batata branqueada	**0,55 ±0,07**	**0,5 ±0,0**	**0,55 ±0,07**
Batata D. ac. 1,5%	**1 ±0,0**	**0,95 ±0,07**	**0,65 ±0,07**
Batata ac. 1,5%	**1,2 ±0,14**	**0,6 ±0,0**	**0,75 ±0,07**
Batata D. ac. 2,5%	**1,45 ±0,21**	**1,1 ±0,14**	**1,1 ±0,14**
Batata ac. 2,5%	**1,75 ±0,07**	**1,3 ±0,14**	**1,15 ±0,07**

°Brix

Na Tabela 2 podemos observar os resultados de sólidos solúveis, que variaram de 1,0 a 5,2 ºBrix, onde o maior índice foi obtido na amostra de batata doce branqueada e o menor variou entre batata branqueada e batata com ácido a 2,5%.

TABELA 2.Média e desvio padrão dos resultados de Sólidos solúveis.

	1º dia	2º dia	3º dia	4º dia	5º dia	6º dia	7º dia
Batata D. controle	**4 ±0,0**	**4 ±0,0**	**3,5±0,71**	**3 ±0,0**	**2,25±0,35**	**3,5 ±0,0**	**4 ±0,0**
Batata controle	**2,5 ±0,71**	**3 ±0,0**	**2 ±0,0**	**2 ±0,0**	**2 ±0,0**	**2 ±0,0**	**2 ±0,0**
Batata D.branqueada	**5,25±0,35**	**5,25±0,35**	**3 ±0,0**	**5 ±0,0**	**2,75±0,35**	**3,5 ±0,0**	**5,25±0,18**
Batata branqueada	**1,5 ±0,0**	**1,5 ±0,0**	**1 ±0,0**	**1 ±0,0**	**1 ±0,0**	**1,5 ±0,0**	**1,5 ±0,0**
Batata D. ac. 1,5%	**4 ±0,0**	**3 ±0,0**	**2,5 ±0,0**	**2 ±0,0**	**2 ±0,0**	**3 ±0,0**	**2 ±0,0**
Batata ac. 1,5%	**2 ±0,0**	**2 ±0,0**	**1,75±0,35**	**1,5 ±0,0**	**1,5 ±0,0**	**2 ±0,0**	**1,75±0,35**
Batata D. ac. 2,5%	**3,5 ±0,0**	**3 ±0,0**	**3 ±0,0**	**2 ±0,0**	**2 ±0,0**	**2 ±0,0**	**3,5 ±0,0**
Batata ac. 2,5%	**2 ±0,0**	**1 ±0,0**	**1 ±0,0**	**2 ±0,0**	**1 ±0,0**	**2,5 ±0,0**	**2 ±0,0**

Ratio

Na Tabela 3 pode-se observar os resultados do Ratio, que mostram que o resultado mais elevado foi a de Batata doce branqueada com 13,13 no primeiro dia de tratamento, seguida de 6,0 e 6,67 na amostra da batata doce controle no quarto e sétimo dia respectivamente.

TABELA 3. Resultados do Ratio.

	1º dia	4º dia	7º dia
Batata D controle	**10,00**	**6,00**	**6,67**
Batata controle	**4,17**	**3,33**	**2,22**
Batata D Branq.	**13,13**	**1,67**	**0,00**
Batata Branq.	**2,73**	**1,00**	**0,00**
Batata D 1,5%	**4,00**	**2,11**	**3,08**
Batata D 2,5 %	**2,41**	**1,82**	**3,18**
Batata 1,5%	**1,67**	**2,50**	**2,33**

DISCUSSÃO

Para os resultados de acidez onde foram observados valores superiores a 1,0 nos tratamentos com ácido a 2,5% tanto na batata inglesa quanto na batata doce, mostrando-se iguais aos resultados obtidos em estudos feitos por Rinaldi et al (2017), onde os tratamentos feitos em mandioca com ácido cítrico a 2,0% e 2,5% apresentaram os maiores valores de acidez titulável, a partir do sétimo dia de armazenamento. Cordeiro (2018), em seu estudo sobre soluções antioxidantes e tratamento térmico na qualidade de batata doce minimamente processada, também observou o aumento da acidez ao utilizar concentrações de ácido de 1%, 2% e 3%, confirmando que as concentrações influenciam significativamente na acidez do produto.

Os sólidos solúveis podem ser influenciados por diversos fatores nutricionais da planta, além de fatores climáticos e, principalmente, genéticos (PRECZENHAK et al., 2014). Nesta análise foi observado que houve uma oscilação entre os resultados, podendo ser considerado normal. Cordeiro (2018), apresentou variação de 6,54 a 7,50 em batata doce submetida a tratamento com ácidos e 6,32 a 7,40 em batata doce submetida a tratamento térmico. Rinaldi et al (2017) em estudo com mandioca, observou o mesmo comportamento oscilatório, comprovando que variações nos valores de sólidos solúveis podem ser normais para raízes submetidas ao processamento mínimo.

O Ratio é o parâmetro que representa o balanço entre os açúcares e os ácidos dos vegetais, tanto *in natura* quanto processados, e contribui diretamente para a percepção de doçura pelos consumidores. Vegetais com maiores valores de *ratio* representam doçura mais pronunciada e são, geralmente, preferidos pelos consumidores (SILVA, 2014).

CONCLUSÃO

Em virtude da falta de tempo que as pessoas possuem para o preparo dos alimentos que irão consumir, a tecnologia de alimentos vem avançando cada vez mais, criando novos produtos com boa qualidade que facilitem a vida do consumidor. Desse modo, foi avaliado neste trabalho dois métodos de conservação de alimentos, o branqueamento e a adição de ácido cítrico, onde foi comprovado que esses dois são eficazes para conservação de alimentos, principalmente nas amostras que foram submetidas a concentrações de ácido, aumentando assim sua vida de prateleira.

REFERÊNCIAS

1. BOSA, W.M. **Disponibilidade de N, P, K em Neossolo Regolitico cultivado com batata inglesa sob manejos agroecológicos.** 2020. 34f. Trabalho de conclusão de curso- Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraiba. Areia, 2020.

2. CORDEIRO, I. N. F. **Soluções Antioxidantes e Tratamento Térmico na Qualidade de Batata-Doce Minimamente Processada.** 2018. 53f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 2018.

3. FAO/OMS, Brasil, 2017, disponível em <http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/pt/c/1062706/> acesso em 15/11/2020.

4. PRECZENHAK, A. P.; RESENDE, J. T. V.; CHAGAS, R. R.; SILVA, P. R.; SCHWARZ, K.; MORALES, R. G. F. Caracterização agronômica de genótipos de minitomate. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 348-356, 2014. http://dx.doi.org/10.1590/S0102- 053620140003000018.

5. PIRES, J. A. et al. Efeitos da Irradiação (Co60) nas Propriedades Físico-Químicas de Batata Minimamente Processada. **Brazilian Journal of Food Research,** Campo Mourão, v. 8, n.1, p. 72-79, jan./mar. 2017. Disponível em: https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa

6. PRIMO, Mateus Chaves et al. EFEITO DO BRANQUEAMENTO E IMERSÃO EM ÁCIDO CÍTRICO NO CONGELAMENTO DE FRUTAS E HORTALIÇAS. In: Anais do Congresso Nacional Universidade, EAD e Software Livre.

7. RINALTI, M. M.; VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; MALAQUIAS, J. V. Shelf life of minimally processed cassava roots submitted to different conservation methods. **Científica**, v. 45, n. 1, p. 93-101, 2017.

8. SILVA, S. C. S. **Avaliação dos atributos de qualidade de mamão desidratado durante o armazenamento**. 2014. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

9. SOUZA, A.G. et al. **Conservação De Couve Minimamente Processada Tratada Com Ácido Ascórbico.** Joaçaba: Evidência- editora Unoesc, 2018. Disponível em: https://editora.unoesc.edu.br/index.php/evidencia

07

Composição nutricional, atividade antimicrobiana e antioxidante de *Taraxacum officinale*

- Mariane **Ferenz**
- Karine Angélica Dalla **Costa**
- Jean Carlos **Budke**
- Sheila Mello da **Silveira**

doi 10.37885/201102213

RESUMO

Inúmeras plantas que apresentam potencial alimentar, mas que por diversos motivos não são consumidas de forma ampla pela população recebem a denominação de Plantas alimentícias não convencionais (PANC). Algumas destas espécies podem ser boas fontes de nutrientes e de compostos bioativos, porém, a falta de conhecimento desfavorece sua inclusão na dieta. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivos determinar a composição centesimal das folhas frescas da espécie *Taraxacum officinale* (dente de leão) através da quantificação de lipídeos, umidade, cinzas, proteínas, fibras e carboidratos e a partir de extratos aquosos e hidroalcoólicos das folhas avaliar o seu potencial antimicrobiano e antioxidante. Os teores de umidade, proteína, lipídeos, fibra bruta, cinzas e carboidratos foram 88,79, 4,50, 1,22, 1,72, 1,62 e 2,15 %, respectivamente. *T. officinale* caracterizou-se como uma planta alimentícia não convencional de alto teor de proteínas, cinzas e lipídeos. Não foi evidenciada a inibição do crescimento bacteriano nas faixas de concentrações testadas através dos métodos de difusão em disco e de microdiluição (Concentração Mínima Inibitória – CMI). Os extratos apresentaram baixa atividade antioxidante, variando de 81,3 a 89,2 µmol TEAC/g para os extratos aquosos e de 415,4 a 527,3 µmol TEAC/g para os extratos hidroalcoólicos. A caracterização desta espécie, além de fortalecer a utilização de plantas alimentícias não convencionais, pode contribuir para a melhoria da qualidade nutricional da dieta humana.

Palavras-chave: Plantas Alimentícias, Características Nutricionais, Potencial Antioxidante, Atividade Antimicrobiana, Dente de Leão.

INTRODUÇÃO

O conhecimento tradicional associado ao conhecimento científico pode oferecer modelos de uso sustentável de recursos da biodiversidade. A utilização de plantas alimentícias não convencionais, consideradas inços ou espécies daninhas é uma das grandes oportunidades existentes em países ricos em recursos genéticos como o Brasil, pois algumas destas espécies podem ser boas fontes de nutrientes e de compostos bioativos (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011; SOUZA; GOMES; CORREA, 2010).

As plantas alimentícias não convencionais, em sua maioria, apresentam fator nutricional elevado, com vitaminas e minerais essenciais ao desenvolvimento humano e em alguns casos são capazes de substituir as hortaliças convencionais (LIBERATO; LIMA; SILVA, 2019).

No passado, a alimentação dos seres humanos era baseada em mais de dez mil diferentes espécies vegetais. Na atualidade, menos de cento e cinquenta espécies estão sendo cultivadas como fonte alimentar (FAO, 2004).

No Brasil existem pelo menos 3 mil espécies conhecidas de PANCs, e estudos indicam que cerca de 10% da flora sejam de plantas alimentícias (KELEN et al., 2015). Diversas espécies que não são exploradas comercialmente acabam não sendo ofertadas e consequentemente deixam de fazer parte da dieta da população (FONSECA et al., 2018).

Por apresentar grande diversidade química e biológica, a família *Asteraceae* tem sido caracterizada como uma importante fonte de alimentos (CASTRO, 2012).

Pertencente à família *Asteraceae,* o dente de leão comum, denominado de *Taraxacum officinale* F. H. Wigg, apresenta utilização como erva medicinal há muitos anos (KINUPP; LORENZI, 2014). Além disso, as folhas e raízes podem ser transformadas em alimentos ou como ingredientes de diferentes produtos. Folhas podem ser consumidas como salada e as raízes são utilizadas como uma espécie de café, enquanto os extratos são utilizados como componentes de sabor em vários produtos alimentares (SCHÜTZ; CARLE; SCHIEBER, 2006).

Informações sobre a composição dos alimentos consumidos são fundamentais para se alcançar a segurança alimentar e nutricional. O conhecimento de tabelas de composição de alimentos são pilares básicos para a educação nutricional, o controle da qualidade dos alimentos e a avaliação da ingestão de nutrientes pela população (TACO, 2011).

O estudo de produtos naturais com potencial para a aplicação em alimentos tem causado cada vez mais interesse devido à necessidade de produzir alimentos processados ao mínimo, com menos aditivos sintéticos, propriedades organolépticas preservadas e extensa vida de prateleira. Neste contexto, diversas plantas com potencial antimicrobiano ganham uma nova perspectiva de uso (BARBOSA; COSTA; BONFIM, 2010). Muitas indústrias estão à procura de fontes alternativas de matérias primas ricas em compostos antimicrobianos e antioxidantes (SIMONATTO, 2004).

Os agentes antimicrobianos e antioxidantes naturais podem oferecer vantagens para o processamento de alimentos, uma vez que aumentam a sua vida útil e a segurança, além de permitirem que novos produtos com melhor qualidade e propriedades nutricionais sejam introduzidos no mercado (MACHADO; BORGES; BRUNO, 2011; DE MORAES et al., 2009). Estudos realizados com espécies de *Taraxacum* descrevem que determinados compostos bioativos presentes nessas espécies apresentam atividade antimicrobiana (DÍAZ et al, 2018).

Diante destas perspectivas, a caracterização de espécies consideradas daninhas vem contribuir para a ampliação do conhecimento acerca da sua composição nutricional e de suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes, favorecendo a sua inclusão diretamente na dieta da população ou como um aditivo em diversos produtos alimentícios.

Desta forma, este trabalho teve como objetivos determinar a composição centesimal das folhas de *Taraxacum officinale* através da quantificação de umidade, lipídeos, proteínas, fibras e carboidratos e avaliar o potencial antioxidante e antimicrobiano de extratos aquosos e hidroalcoólicos de *T. officinale*, uma planta alimentícia não convencional (PANC).

METODOLOGIA

Obtenção do material vegetal

A espécie utilizada neste estudo foi *Taraxacum officinale* F.H. Wigg, popularmente conhecida como dente de leão. O material vegetal foi coletado na cidade de Concórdia – SC, Brasil (27°14′ 2″ S, 52°1′40″ W).

A identificação botânica da espécie vegetal foi realizada pelo Dr. J. C. Budke (URI, RS, Brasil). A exsicata da espécie vegetal foi depositada no Herbário Padre Balduíno Rambo do Departamento de Ciências Biológicas (URI), com número de registro 11.911.

As folhas da planta foram submetidas à secagem em estufa com circulação e renovação de ar a uma temperatura de 40°C por 48 horas. Após este período de secagem o material foi moído com auxílio de gral e pistilo de porcelana.

Preparação dos extratos aquosos

Três extratos aquosos de *Taraxacum officinale* foram obtidos por infusão, em água destilada a 80°C, utilizando-se 20g de folhas moídas em 200 mL de água. Após 10 minutos de repouso em ausência de luz, o material foi filtrado, sendo a solução final armazenada em frascos de vidro âmbar, fechados e conservados em geladeira, à temperatura de 4ºC, sendo denominados como “extrato aquoso”.

Preparação dos extratos hidroalcoólicos

Três extratos hidroalcoólicos foram obtidos por maceração exaustiva a frio em etanol/água 80:20 (v/v), utilizando-se 20 g de folhas moídas em 200 mL do solvente. Após 5 dias, o material foi filtrado e o solvente removido a 50°C, sob pressão reduzida, em evaporador rotativo. A cada 24 horas os recipientes contendo os extratos foram homogeneizados manualmente.

Determinação da composição centesimal

A determinação de proteínas foi realizada através do método *Kjeldahl* de acordo com metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). A etapa de digestão das amostras foi realizada em um digestor, a destilação em destilador e a titulação com solução padrão de ácido clorídrico 0,1mol/L até a viragem do indicador. A conversão em proteína bruta foi realizada utilizando-se fator 6,25.

As cinzas ou resíduos inorgânicos foram determinados por incineração em mufla a 600 °C por 8 horas de acordo com metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005).

O teor de lipídeos foi determinado por extração utilizando-se éter de petróleo como solvente, durante 8 horas a 70°C em extrator, conforme o método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

O teor de umidade foi determinado por aquecimento a 105°C por 6 horas, em estufa (IAL, 2005).

O conteúdo de fibra bruta foi determinado de acordo com o método Ba 6a-05 da AOAC (AOAC, 2009), realizando-se digestão em meio ácido e em seguida em meio alcalino.

A determinação de carboidratos totais (CHO) foi realizada por diferença, através da seguinte formula: %CHO totais = 100% - (% umidade + % proteínas + % lipídeos + % cinzas + % de fibras) (BRASIL, 2003).

Todas as análises realizadas para determinação da composição centesimal das folhas *Taraxacum officinale* F.H. Wigg foram realizadas em triplicata.

Avaliação da atividade antimicrobiana

Para avaliação da atividade antimicrobiana foram testadas seis espécies de bactérias de importância em alimentos, sendo elas: *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli ATCC* 25922, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610.

Método de Disco-Difusão

Para a detecção da atividade antimicrobiana nos extratos aquosos e hidroalcóolicos, utilizou-se como referência o documento M2-A8 da CLSI (CLSI, 2009a), com algumas adaptações conforme Silveira et al. (2014). As culturas armazenadas em ágar triptose se soja (TSA) primeiramente foram repicadas para ágar sangue e incubadas a 35°C por 12-18h. Após esse período, a partir destas placas transferiu-se de 3 a 5 colônias isoladas para caldo triptose de soja (TSB), incubado a 35°C por 2 a 6 horas, a fim de obter-se uma cultura em crescimento ativo.

A partir da cultura ativa obteve-se o inóculo utilizado para cada uma das espécies bacterianas. Estas foram diluídas em solução salina 0,9% a uma concentração de aproximadamente 10^8 UFC mL^{-1}, comparável à solução padrão de McFarland 0,5, verificada espectrofotometricamente a 625nm. Após, esta suspensão foi diluída a aproximadamente 10^7 UFC mL^{-1}, em solução salina, e então com auxílio de *swab* estéril, esta solução foi utilizada para inocular placas de petri contendo ágar Mueller-Hinton.

Os extratos hidroalcoólicos foram diluídos com dimetilsulfóxido (DMSO) a uma concentração aproximada de 100 mg mL^{-1}, já os extratos aquosos foram testados sem diluição. Discos de papel filtro estéreis de 9 mm de diâmetro foram impregnados com 25µL de extrato e depositados sobre as placas inoculadas, incubadas a 36 °C por 18-24 h. Para controle negativo foram utilizados discos impregnados com 25 µL de DMSO e para controle positivo discos comerciais de ampicilina (10 µg/disco) e cloranfenicol (30 µg/disco). O diâmetro da zona de inibição foi medido, em milímetros, e a inibição foi classificada em forte, moderada ou fraca conforme Carovic-Stanko et al. (2010). O ensaio foi realizado em triplicata e o valor apresentado como a média (± desvio padrão).

Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI)

Os extratos foram avaliados quanto à Concentração Mínima Inibitória (CMI) através do método de microdiluição com base no documento M7-A6 da CLSI (CLSI, 2009b) e com adaptações conforme Silveira et al. (2014).

Os extratos aquosos foram testados em uma faixa de 100 a 0,75 mg/ mL e os extratos hidroalcoólicos em uma faixa de 10 a 0,075 mg/mL.

Em cada poço da placa de microdiluição foram adicionados 90µL de caldo Muller Hinton, 10µL do extrato diluído e 10µL da suspensão bacteriana ajustada a uma concentração de aproximadamente 10^8 UFC mL^{-1}. Foram mantidos controles de esterilidade e controles de crescimento. A incubação das placas foi realizada a 36 °C por 18h-24h e o crescimento microbiano foi detectado visualmente e confirmado pela adição de 20 µL de solução aquosa de

cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) a 0,5% (m/v), com incubação adicional de 1 hora, à mesma temperatura. As análises foram realizadas em triplicata e a CMI foi definida como a menor concentração de cada extrato que inibiu totalmente o crescimento microbiano.

Avaliação da atividade antioxidante

A capacidade de sequestro do radical 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) ($ABTS^{\cdot+}$) foi realizada conforme Re et al. (1998) com algumas adaptações. O radical $ABTS^{\cdot+}$ foi gerado por uma reação do ABTS em solução aquosa a 7 mM/L e persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$) a 2,45 mM/L. Quantidades iguais de ambas as soluções foram misturadas com agitação e a solução resultante foi mantida em repouso em temperatura ambiente e em ausência de luz. Depois de 16 h, esta solução foi diluída com etanol até obter uma solução com absorbância de aproximadamente 0,700 a 734nm.

Os extratos hidroalcoólicos e aquosos foram diluídos até que ocorresse uma inibição entre 20-80% em relação ao branco, constituído por 3 mL de solução ABTS e 30 µL de etanol. Em seguida, 30 µL da solução do extrato foi misturada com 3 mL da solução previamente preparada de $ABTS^{\cdot+}$, a mistura foi agitada e permaneceu em repouso por 6 minutos em ausência de luz e em temperatura ambiente. Passado este tempo a absorbância foi medida a 734 nm em espectrofotômetro. A análise foi realizada em triplicata para todas as amostras e o valor apresentado como a média (± desvio padrão). Soluções de Trolox, um antioxidante sintético análogo a vitamina E, foi usada como curva padrão, em concentração final de 0,5- 2,0 mM/L. Os resultados foram expressos como mmol equivalente de Trolox por grama de extrato (mmol TEAC g^{-1} extrato).

RESULTADOS

Composição centesimal

A Tabela 1 apresenta os resultados referentes à composição centesimal das folhas frescas de *Taraxacum officinale* F.H. Wigg.

Tabela 1. Composição centesimal de folhas de *Taraxaum officinale.*

Constituintes	% em base úmida
Proteína bruta*	4,50 ± 0,50
Umidade	88,79 ± 0,40
Lipídeos	1,22 ± 0,35
Fibra bruta	1,72 ± 0,84
Cinzas	1,62 ± 0,12
Carboidratos**	2,15 ± 0,21

Resultados apresentados como média ± desvio padrão, *n* = 3.
* N x 6,25

**Calculado por diferença

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Na Tabela 2 são apresentados os resultados referentes à atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcóolicos e aquosos de *T. officinale*, através do método de disco-difusão.

Na Tabela 3, estão expressos os resultados dos discos de antibióticos e do controle negativo (DMSO) frente às seis espécies de bactérias testadas.

Os extratos foram também avaliados através da determinação da Concentração Mínima Inibitória por meio do método de microdiluição, porém não foi detectada nenhuma atividade dos extratos frente às seis espécies testadas (Tabela 4).

Tabela 2. Atividade antimicrobiana dos extratos aquosos e hidroalcóolicos de *T. officinale* avaliada no ensaio de disco-difusão (mm).

	Aquoso 1	Aquoso 2	Aquoso 3	Hidroacóolico 1	Hidroalcóolico 2	Hidroalcóolico 3
Bacillus cereus	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Staphylococcus aureus	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Listeria monocytogenes	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Escherichia coli	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Yersinia enterocolitica	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Pseudomonas aeruginosa	nd	nd	nd	nd	nd	nd

nd: não detectada.

Tabela 3. Atividade antimicrobiana dos discos de antibióticos e do controle negativo avaliados no ensaio de difusão em agar (mm).

	Ampicilina	Cloranfenicol	DMSO
Bacillus cereus	14,5 ± 0,6	28 ± 0,0	nd
Staphylococcus aureus	22 ± 0,6	28 ± 0,0	nd
Listeria monocytogenes	28,5 ± 0,6	25,5 ± 1,1	nd
Escherichia coli	22 ± 0,0	22 ± 1,0	nd
Yersinia enterocolitica	24,5 ± 0,0	33 ± 0,6	nd
Pseudomonas aeruginosa	nd	0,0 ± 0,0	nd

Resultados apresentados como a média ± desvio padrão. Graus de inibição: 10 -13,9 mm: fraca; 14-18 mm: moderada; >18 mm: forte. nd: não detectada

Tabela 4. Concentração Mínima Inibitória (CMI) ($mg.mL^{-1}$).

	Aquoso 1	Aquoso 2	Aquoso 3	Hidroacóolico 1	Hidroalcóolico 2	Hidroalcóolico 3
Bacillus cereus	>100	>100	>100	>10	>10	>10
Staphylococcus aureus	>100	>100	>100	>10	>10	>10
Listeria monocytogenes	>100	>100	>100	>10	>10	>10
Escherichia coli	>100	>100	>100	>10	>10	>10
Yersinia enterocolitica	>100	>100	>100	>10	>10	>10
Pseudomonas aeruginosa	>100	>100	>100	>10	>10	>10

Os testes foram realizados em triplicata e os valores modais são apresentados.

Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos, avaliada através da capacidade de sequestro do radical ABTS, está apresentada na Tabela 5 para os extratos hidroalcoólicos e na Tabela 6 para os extratos aquosos.

Tabela 5. Atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos avaliada pelo método do ABTS.

Extratos	ABTS (µmol TEAC/g)
Hidroalcoólico 1	415,4±31,7
Hidroalcoólico 2	423,8±48,8
Hidroalcoólico 3	527,3±32,4

Os dados são expressos como a média da triplicata ± DP. ABTS: radical 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico); µmol TEAC/g: capacidade antioxidante equivalente ao Trolox por grama de extrato.

Tabela 6. Atividade antioxidante dos extratos aquosos avaliada pelo método do ABTS.

Extratos	ABTS (µmol TEAC/g)
Aquoso 1	89,2±7,5
Aquoso 2	86,7±10,5
Aquoso 3	81,3±8,2

Os dados são expressos como a média da triplicata ± DP. ABTS: radical 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico); µmol TEAC/g: capacidade antioxidante equivalente ao Trolox por grama de extrato.

DISCUSSÃO

Composição centesimal

O teor de cinzas encontrado para *T. officinale* pode ser considerado elevado (1,62±0,12 g/100g). De acordo com Teske e Trentini (1997), *T. officinale* é um vegetal rico em minerais como ferro, cobre e potássio.

Outras plantas alimentícias não convencionais apresentam teor de minerais inferiores, como é o caso da beldroega, com 1,22 g/100g (MANGOBA, 2015) e da serralha, que apresenta 1,4 g/100g (TACO, 2011).

A quantidade de cinzas presentes nos alimentos é considerada uma indicação da riqueza da amostra em elementos minerais, sendo o ponto de partida para a análise de minerais específicos (MORETTO et al., 2002). Sabe-se que os minerais são largamente distribuídos na natureza e exercem importantes funções no organismo humano (KINUPP; BARROS, 2008).

Geralmente, além dos minerais, as plantas alimentícias não convencionais são mais ricas em fibras (KINUPP; BARROS, 2008). O teor de fibras obtido (1,72 g/100g) foi maior do que o encontrado na acelga, que de acordo com a TACO (2011), apresenta teor de 1,1 g/100g.

O teor de umidade encontrado (88,79g/100g) pode ser considerado baixo quando comparado aos valores de umidade de outras plantas alimentícias não convencionais, como por exemplo, a serralha e a beldroega. De acordo com a Tabela Brasileira de Composição dos

Alimentos (TACO, 2011), a serralha apresenta teor de umidade de 90,2 g/100g e de acordo com Mangoba (2015), na determinação do teor de umidade da beldroega obteve 91,23 g/100g.

A determinação do teor de umidade é de grande importância, pois através dele pode-se prever a durabilidade dos alimentos, uma vez que a sua preservação depende em grande parte da quantidade de água presente (MORETTO et al., 2002).

A fração lipídica é o constituinte de menor contribuição para a composição centesimal do *T. officinale*. Porém, o valor obtido (1,22 g/100g) é elevado quando comparado à rúcula (0,1 g/100g), ao brócolis (0,3 g/100g) e à alface roxa (0,2 g/100g) (TACO, 2011). O resíduo obtido na extração de lipídeos com solventes orgânicos como o éter de petróleo, apresenta todos os compostos que possam ser extraídos com o solvente, não somente os triglicerídeos (MORETTO et al., 2002), mas também os fosfolipídeos e os glicolipídeos que estão fortemente ligados a proteínas e à água (BRUM, 2004).

Em comparação com espécies vegetais convencionais (alface, chicória e almeirão) pertencentes à família *Asteraceae* (Tabela 7), as folhas de dente de leão apresentaram teores de proteínas, cinzas e lipídeos superiores às três espécies. Os teores de fibra e carboidratos encontrados no dente de leão são superiores ao encontrados na alface, porém inferiores aos da chicória e do almeirão, enquanto o teor de umidade do dente de leão é inferior aos três vegetais (TACO, 2011).

Tabela 7. Comparação entre componentes de espécies convencionais e *T. officinale* (g/100g).

	Dente de leão	Alface	Chicória	Almeirão
Proteínas	4,5	0,60	1,10	1,80
Fibras	1,72	1,00	2,20	2,60
Cinzas	1,62	0,30	0,80	1,00
Carboidratos	2,15	1,70	2,90	3,30
Lipídeos	1,22	0,10	0,10	0,20
Umidade	88,79	97,20	95,10	93,70

FONTE: Adaptado TACO (2011).

Ao avaliar espécies da família *Asteraceae* com potencial de hortaliças, Kinupp e Barros (2008), encontraram elevados teores de proteínas em base seca para o picão-branco (19,55%), picão-preto (21,27%), roseta (18,4%) e radite (16,1%).

Com a identificação de espécies vegetais ricas em proteínas e com o estímulo ao plantio e ingestão destas espécies, pode haver uma contribuição para diminuir as deficiências nutricionais da população com baixo poder aquisitivo ou com hábitos e dietas alimentares diferenciados, pois em geral folhas verdes são baratas e abundantes fontes de proteína vegetal (KINUPP; BARROS, 2007; ALETOR, OSHODI; IPINMOROTI, 2002; FASUYI, 2006).

Atividade antimicrobiana

Em estudo realizado por Fabri et al. (2011), *T. officinale* apresentou atividade antimicrobiana somente para as leveduras *C. albicans* e *C. neoformans* (CIM 0,039 mg mL^{-1}), não inibindo o crescimento de nenhuma cepa bacteriana.

Ao avaliar o potencial antimicrobiano de extratos aquosos e etanólicos de *A. australe,* popularmente conhecido como carrapicho de carneiro e também membro da família *Ateraceae,* Castro (2012), observou que os extratos apresentaram atividade significativa contra *Staphylococcus aureus* e que o extrato etanólico exerceu um efeito inibitório mais pronunciado do que as demais amostras quando o microrganismo confrontado foi *Escherichia coli.*

Bhat e Al-Daihan (2014), avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos metanólicos de *Portulaca oleracea* (beldroega), através do ensaio de difusão em agar e observaram halos inibitórios de 14mm para *S. aureus* e *E. coli*, 13mm para *Streptococcus pyogenes*, 11,5mm para *Bacillus subtilis* e de 10mm para *Pseudomonas aeruginosa.*

Silveira et al. (2019), não detectaram atividade de extratos hidroalcoólicos de folhas de caqui frente a 12 cepas bacterianas. No mesmo estudo, para folhas de abacate, *Bacillus cereus* foi a única bactéria testada que apresentou sensibilidade ao extrato hidroalcoólico.

Em estudo comparativo da atividade antimicrobiana de árvores nativas, Gonçalves et al. (2005), constataram que de todos os microrganismos utilizados (num total de 10), três deles *Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, mostraram total resistência aos extratos das 17 espécies de plantas estudadas.

Atividade antioxidante

De acordo com Del Ré e Jorge (2012), os extratos vegetais podem apresentar-se como fonte acessível de antioxidantes naturais. A adição destes de diferentes tipos e formas, pode evitar a deterioração oxidativa em vários sistemas, além de ser possível suplemento alimentício e farmacêutico.

Tiveron (2010), ao determinar a atividade antioxidante de verduras e legumes, observou os melhores resultados para amostras de açafrão (111,8±5,03 µmol TEAC/g), alface (96,5±0,87 µmol TEAC/g) e agrião (79,9±50,10 µmol TEAC/g) e os piores resultados para cenoura (8,1±0,14 µmol TEAC/g), aipo (6,2±1,77 µmol TEAC/g) e vagem (6,1±1,65 µmol TEAC/g). Todos os resultados encontrados por este autor foram inferiores aos valores determinados para *T. officinale* neste trabalho.

Bergamaschi (2010), ao analisar a atividades antioxidantes de talo de beterraba (121,48 µmol Trolox/g) e folha/talo de rabanete (13,58 µmol Trolox/g), considerou que ambos os vegetais apresentam potencial de utilização como agentes antioxidantes.

Por outro lado, Silveira et al. (2019), ao avaliarem o potencial antioxidante de extratos hidroalcoólicos pelo método do ABTS, observaram que extratos hidroalcoólicos das folhas de bardana, caqui e abacate apresentaram atividade antioxidante entre 233 e 619 µmol TEAC/g, valores considerados baixos pelos autores em comparação a outras espécies vegetais estudadas no referido trabalho.

Bezerra et al. (2017), ao analisarem o percentual de atividade antioxidante do almeirão (27,3%), radite (29,15%) e tansagem (17,82%), consideraram que tais plantas alimentícias não convencionais apresentam teores significativos de compostos antioxidantes.

A atividade antioxidante de frutas e hortaliças varia muito devido à utilização de diferentes sistemas de oxidação e métodos para análise dos compostos antioxidantes.

Diversos estudos têm demonstrado de forma conclusiva que as propriedades antioxidantes e antimicrobianas exibidas por muitos vegetais se deve, principalmente, aos compostos fenólicos, em especial aos flavonóides (MELO et al., 2009; RABÊLO, 2014). Compostos típicos que apresentam tais atividades incluem a classe de fenóis, ácidos fenólicos e seus derivados, flavonóides, tocoferóis, fosfolipídios, aminoácidos, ácido ascórbico, pigmentos e esteróis (BERNARDES et al., 2011).

São existentes inúmeras substâncias que podem ser responsáveis pela capacidade antioxidante, e por isso, os resultados encontrados estimulam a continuidade dos estudos dos compostos presentes nos extratos, com a intenção de identificar as substâncias responsáveis pela ação antioxidante.

CONCLUSÃO

T. officinale caracterizou-se como uma planta alimentícia não convencional de alto teor de proteínas, cinzas e lipídeos, diferentemente de muitas espécies de hortaliças convencionais.

O potencial antimicrobiano dos extratos aquosos e hidroalcoólicos de *T. officinale* não foram evidenciados frente às seis espécies bacterianas testadas.

A atividade antioxidante frente ao radical ABTS dos extratos de *T. officinale* é existente, fazendo-se necessário mais estudos referentes aos compostos antioxidantes presentes nesta espécie vegetal.

A ampliação e o aprimoramento do conhecimento e consequentemente do uso das plantas alimentícias não convencionais, quando realizados de forma adequada, podem contribuir para a melhoria da qualidade nutricional da dieta humana, além de fortalecer efetivamente a reintrodução de espécies vegetais no cotidiano da alimentação da população brasileira.

REFERÊNCIAS

1. ALETOR, V. A.; OSHODI, A. A.; IPINMOROTI, K. Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. **Food Chemistry**, v. 78, n. 1, 2002.

2. AOAC. **Crude Fiber Analysis in Feeds by Filter Bag Technique Ba 6a-05.** 2009.

3. BARBOSA, C. K. R.; COSTA, J. P. R.; BONFIM, F. P. G. Qualidade microbiológica de plantas medicinais cultivadas e comercializadas em Montes Claros - MG. **Revista Biotemas**. v. 23, n. 1. Florianópolis, 2010.

4. BHAT, R. S.; AL-DAIHAN, S. Phytochemical constituents and antibacterial activity of some green leafy vegetables. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. Volume 4, Issue 3, 2014.

5. BERGAMASCHI, K. B. **Capacidade antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP, 2010.

6. BERNARDES, N. R.; TALMA, S. V.; SAMPAIO, S. H.; NUNES, C; R.; ALMEIDA, J. A. R.; OLIVEIRA, D. B. Atividade antioxidante e fenóis totais de frutas de campos dos Goytacazes RJ. **Perspectivas on line – Ciências Biológicas e da Saúde**.v.1, n.1, 2011.

7. BEZERRA, A. S.; STANKIEVICZ, S. A.; KAUFMANN, A. I.; MACHADO, A. A. R.; UCZAY, J. Composição nutricional e atividade antioxidante de plantas alimentícias não convencionais da região sul do Brasil. **Arquivos Brasileiros de Alimentação**. p. 182-188, 2017.

8. BRASIL. RDC N° 360, de 23 de dezembro de 2003. **Diário Oficial da União**. Poder Executivo, Brasília, DF, 2003.

9. BRUM, A. A. S. **Métodos de extração e qualidade da fração lipídica.** Dissertação (Mestrado em Ciências) – USP. Piracicaba, SP, 2004.

10. CAROVIC-STANKO, K.; ORLIC, S.; POLITEOC, O.; STRIKIC, F.; KOLAKA, I.; MILOSC, M.; SATOVIC, Z. Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum taxa*. **Food Chemistry**, v. 119, p. 196-201, 2010.

11. CASTRO, L. C. **Avaliação das atividades antibacteriana e amebicida dos extratos aquoso e etanólico de Acanthospermum australe (Loefl.) O. Kuntze.** Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Santa Maria, RS, 2012.

12. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standard.** 8.ed. 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2009a. (CLSI document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]).

13. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard.** 8.ed. 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne.

14. CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília: MMA, 2011.

15. DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**. v.14, n.2, Botucatu, SP, 2012.

16. DE MORAES, J.; NASCIMENTO DA SILVA, M. P.; OHLWEILER, F. P.; KAWANO, T. Schistosoma mansoni and other larval trematodes in Biomphalaria tenagophila (Planorbidae) from Guarulhos, São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.** 51(2): 77-82, 2009.

17. DÍAZ, K. ESPINOZA, L. MADRID, A. PIZARRO, L. CHAMY, R. Isolation and Identification of Compounds from Bioactive Extracts of *Taraxacum officinale* Weber ex F. H. Wigg. (Dandelion) as a Potential Source of Antibacterial Agents. **Revista Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**. 2018.

18. FABRI, R. L.; NOGUEIRA, M. S.; DUTRA, L. B.; BOUZADA, M. L. M.; SCIO, E. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família *Asteraceae*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v.13, n.2, Botucatu, SP, 2011.

19. FAO. **Tratado internacional sobre os recursos fitogenéticos para a alimentação e a agricultura**. Roma, 2004.

20. FASUYI, A. O. Nutritional potentials of some tropical vegetable leaf meals: Chemical characterization and functional properties. **African Journal of Biotechnology**. v. 5, n. 1, 2006.

21. FONSECA, Cristine; LOVATTO, Patrícia; SCHIEDECK, Gustavo; HELLWIG, Letícia; GUEDES, Amanda F. A importância das Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCS) para a sustentabilidade dos sistemas de produção de base ecológica. **Cadernos de Agroecologia.** Anais do VI CLAA, X CBA e V SEMDF. v. 13, n. 1, 2018.

22. GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. **Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas**. Arquivos do Instituto Biológico. v.72, n.3, p.353-358. São Paulo, 2005.

23. IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: IAL, 2005.

24. IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: IAL, 2008.

25. KELEN, M. E. B.; NOUHUYS, I. S. V.; KEHL, L. C.; BRACK. P.; SILVA, D. B. **Plantas alimentícias não convencionais (PANCs): hortaliças espontâneas e nativas.** (1ª ed.). UFRGS, Porto Alegre, 2015.

26. KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. Riqueza de Plantas Alimentícias Não-Convencionais na Região Metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 5. Porto Alegre, RS, 2007.

27. KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. **Ciênc. Tecnologia de Alimentos**. 28(4): 846-857. Campinas, SP, 2008.

28. KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014.

29. LIBERATO, P. S.; LIMA, D. V. T.; SILVA, G. M. B. **PANCs – Plantas alimentícias não convencionais e seus benefícios nutricionais.** Environ, Smoke, v. 2, n. 2, 2019.

30. MACHADO, T. F.; BORGES, M. F.; BRUNO, L. M. **Aplicação de Antimicrobianos Naturais na Conservação de Alimentos.** Embrapa Agroindústria Tropical Fortaleza, CE, 2011.

31. MANGOBA, P. M. A. **Prospecção de características fitoquímicas, antibacterianas e físico-químicas de *Portulaca oleracea* L. (Beldroega).** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 2015.

32. MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; SANTANA, A. P. M. Antioxidant capacity of vegetables submitted to thermal treatment. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**. v. 34, n. 1, p. 85-95, São Paulo, SP, 2009.

33. MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L. V.; KUSKOSKI, E. M. **Introdução à ciência de alimentos.** Florianópolis: Ed. da UFSC, 2002.

34. RABÊLO, S. V. **Revisão de alcaloides do gênero Annona, estudo fitoquímico e avaliação da atividade biológica de atemoia (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*).** Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais) - Universidade Federal do Vale do São Francisco. Petrolina, PE, 2014.

35. RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 26, 1998.

36. SCHÜTZ, K.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. *Taraxacum*: A review on its phytochemical and pharmacological profile. **Journal of Ethnopharmacology**. v.107, Issue 3, 11 October 2006.

37. SILVEIRA, S. M.; LUCIANO, F. B. ; FRONZA, N. ; CUNHA JUNIOR, A. ; SCHEUERMANN, G. N. ; VIEIRA, C. R. W. . Chemical composition and antibacterial activity of Laurus nobilis essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7 °C. **Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie / Food Science + Technology**, v. 59, p. 86-93, 2014.

38. SILVEIRA, S. M.; MARASCHIN, M. ; VERRUCK, S. ; SECCHI, F. L.; SCHEUERMANN, G. N. ; PRUDENCIO, E. S. ; CUNHA JUNIOR, A. ; FRONZA, N.; VIEIRA, C. R. W. . Brazilian native species as potential new sources of natural antioxidant and antimicrobial agents. **Acta Alimentaria**, v. 48, p. 507-514, 2019.

39. SIMONATTO, E. **Estudo dos constituintes químicos de óleos voláteis de plantas medicinais do Rio Grande do Sul: isolamento, detecção e modificação estrutural e atividade biológica**. Tese (Doutorado em Química) - UFSM, Santa Maria, 2004.

40. SOUZA, M. R. M.; GOMES, A. L.; CORREA, E. J. A. **Conhecimento popular e uso de plantas tradicionais no meio rural em Minas Gerais**. In: VIII Congresso de Brasileiro de Sociologia Rural, Porto de Galinhas, PE, 2010.

41. TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos** / NEPA – UNICAMP- 4. ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011.

42. TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e hortaliças consumidos no Brasil.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – USP. Piracicaba, SP, 2010.

43. TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Compêndio da Fitoterapia**. 3. Ed. Herbarium. Curitiba, PR, 1997.

08

Compostos fenólicos e atividade antioxidante de bolos sem glúten contendo xantana elaborados com farinha de bagaço de azeitona

- Renata Fialho **Teixeira**
  UNIPAMPA
- Clóvis Antônio **Balbinot Filho**
  UNIPAMPA
- Miriane Lucas **Azevedo**
  UNIPAMPA
- Fernanda Germano Alves **Gautério**
  UNIPAMPA

10.37885/201102228

RESUMO

Objetivo: Avaliar o teor de compostos bioativos (compostos fenólicos totais, CFT e atividade antioxidante, AA) de bolos sem glúten com adição de goma xantana e farinha de bagaço de azeitona (FBA) proveniente da Região do Pampa Gaúcho. **Métodos:** O bagaço de azeitona (*Olea europaea* L. cv. Arbequina) fresco foi liofilizado por 24 h, moído e peneirado (12-80 mesh) para a obtenção da FBA. Os bolos sem glúten foram elaborados com ou sem a adição de 0,25 % (m/m) de xantana, e preparados com base em uma formulação fixa, onde apenas o tipo de farinha foi variado entre as diferentes formulações (FBA, farinha de arroz ou farinha de milho). O teor de CFT e AA do bagaço, da FBA e dos bolos foram determinados pelo método colorimétrico, utilizando o reagente Folin-Ciocalteau e, pelo método de captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picri-hidrazil), respectivamente. **Resultados:** A FBA apresentou uma perda de 58 % do teor de CFT em relação ao bagaço *in natura*. Nos bolos, o teor de CFT variou de 12,45 a 19,48 mg EAG/g, com o maior valor para o bolo contendo somente FBA, sem xantana. A presença de xantana não influenciou a AA dos bolos (62,27 a 90,13 % de inibição ao DPPH), que foi significativamente ($p<0,05$) menor na formulação contendo 33% de substituição pela FBA, e em torno de 90% nas demais formulações. **Conclusão:** A FBA obtida por liofilização pode ser considerada uma fonte de compostos fenólicos, apresentando potencial para ser incorporada aos bolos sem glúten, possibilitando um enriquecimento nutricional.

Palavras-chave: Compostos Bioativos, Aproveitamento de Coproduto, Doença Celíaca, Hidrocoloide.

INTRODUÇÃO

A doença celíaca (DC) é uma condição autoimune comum, caracterizada por uma desordem na mucosa intestinal de pacientes geneticamente predispostos, sendo desencadeada pela ingestão do glúten (MOSCOSO; QUERA, 2015). Embora se estime que a DC afeta aproximadamente 1 % da população mundial, há um considerável número de casos assintomáticos ainda não diagnosticados no mundo. Esse efeito, denominado de "*iceberg*", aliado à subinformação ou à falta de um diagnóstico correto da doença, faz com que a incidência da DC seja muito maior. Segundo Luglio (2015), no Brasil, a população celíaca pode chegar a 2 milhões de pessoas, com índices que variam de 0,15 a 1,94 %, a depender da região, o que representa uma alta prevalência comparável aos dos países europeus, onde a DC é mais comum. A principal forma de tratamento da DC consiste em eliminar o glúten da dieta, o que faz com que os portadores da DC procurem por produtos rotulados *gluten-free*.

A matriz formada pelas proteínas do glúten é fundamental para as propriedades viscoelásticas das massas para produtos de panificação, e a sua ausência resulta em defeitos de qualidade no produto final (GALLAGHER; GORMLEY; ARENDT, 2004). Reproduzir a funcionalidade do glúten em produtos de panificação isentos dessa proteína é um desafio tecnológico, uma vez que, a farinha de trigo é a base desses alimentos (CHAN, 2014). Dessa forma, o emprego de hidrocoloides que possam desempenhar função semelhante à do glúten, como agentes de gelificação, em conjunto com farinhas sem glúten, tem sido amplamente estudado. A incorporação de novas formulações alternativas torna-se uma necessidade crescente para consumidores celíacos que visam superar os problemas com a baixa qualidade nutricional e textura desagradável associados aos produtos *gluten-free*.

A produção de azeite de oliva gera uma grande quantidade de bagaço de azeitona, uma mistura semifluida composta pelo resíduo sólido dos frutos e a água de vegetação (GALLARDO-GUERRERO; ROCA; MÍNGUEZ-MOSQUERA, 2002), caracterizado por ser um coproduto rico em compostos bioativos e fibras (ANAL, 2013). Os fitoquímicos da azeitona, em sua maioria compostos fenólicos de natureza hidrofílica, após serem liberados da matriz vegetal no processamento do azeite se dividem entre as fases aquosa e oleosa, e a maior parte do seu potencial bioativo permanece na fase sólida (bagaço) após a remoção do azeite, por ser a fase rica em água (RODIS; KARATHANOS; MANTZAVINOU, 2002). Os compostos fenólicos presentes nos coprodutos da azeitona compreendem os ácidos fenólicos, alcoois, secoirioides, lignanas e flavonoides, caracterizados nas folhas, bagaço, água de vegetação e torta de prensagem. Assim, o bagaço de azeitona é considerado uma fonte natural e de baixo custo de importantes compostos nutricionais com grande potencial para reaproveitamento, especialmente na indústria de alimentos.

No entanto, apesar de seu uso contribuir para a inserção de novas alternativas alimentares, bem como, promover benefícios à saúde e reduzir o impacto ambiental causado pelo descarte inapropriado, o bagaço de azeitona não tem tido uma aplicabilidade considerável na indústria de alimentos (JÚLIO, 2014). Geralmente isso ocorre devido aos entraves econômicos impostos pela dificuldade do manejo das grandes quantidades geradas do resíduo, seu transporte, secagem e estocagem, bem como, a propensão à degradação química e microbiológica, o que faz com que essa fonte de nutrientes seja destinada à compostagem e alimentação animal. Há também um interesse atual em aproveitar esse recurso rico em material lignocelulósico para fins biotecnológicos (VARZAKAS; ZAKYNTHINOS; VERPOORT, 2016).

Dessa forma, a aplicação do bagaço de azeitona na forma de uma farinha isenta de glúten como ingrediente de produtos de panificação apresenta uma alternativa viável para inserção de alimentos diferenciados na dieta dos celíacos. Por outro lado, a adesão e aceitação por parte dos consumidores ainda é um desafio a ser superado. No intuito de quebrar esse paradigma, muitas pesquisas têm sido realizadas, a exemplo dos trabalhos de Duarte (2011) e Júlio (2014) com a obtenção da farinha e, estudos mais recentes que envolvem a aplicação em produtos de panificação, como pães (BRITO, 2016), biscoitos (LIN et al., 2017) e *snacks* extrusados (YING et al., 2017). Por fim, uma destinação mais apropriada ao bagaço de azeitona, a fim de torná-lo utilizável e, posteriormente apto para consumo, requer o conhecimento da sua composição e dos alimentos produzidos a partir do seu aproveitamento, como uma forma de agregar valor aos produtos finais.

OBJETIVO

Nesse contexto, o objetivo do presente estudo consiste em obter e caracterizar o bagaço de azeitona quanto ao teor de fitoquímicos, em termos da quantificação dos seus compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante. Em sequência, processar a farinha de bagaço de azeitona, a fim de enriquecer nutricionalmente bolos sem glúten elaborados com e sem a adição de goma xantana e, avaliar sua influência na bioatividade desses produtos.

MÉTODOS

Matérias-primas

O bagaço de azeitona cv. Arbequina (safra 2017), oriundo da extração do azeite de oliva pelo sistema de duas fases, foi gentilmente cedido por uma agroindústria do município de Pinheiro Machado (RS) em março de 2017. A amostra de bagaço foi coletada, transportada e armazenada sob refrigeração no mesmo dia da extração. Da mesma forma, amostras de

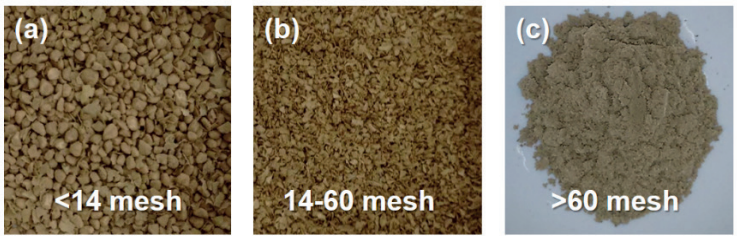
azeitonas frescas colhidas no mesmo dia foram fornecidas pela empresa para eventuais comparações do processamento.

Os insumos utilizados na preparação dos bolos (açúcar, farinha de arroz, farinha de milho, ovos, leite, óleo de soja e fermento químico) foram adquiridos do comércio local. Os reagentes (metanol, DPPH, Folin-Ciocalteau e carbonato de potássio 20 %) e o aditivo tecnológico (goma xantana) utilizados são provenientes de fornecedores externos.

Obtenção da farinha de bagaço de azeitona (FBA)

Para o processamento da farinha de bagaço de azeitona (FBA), porções individualizadas (aproximadamente 150 g) do bagaço fresco foram congeladas (-70 °C) em placas de Petri e mantidas em ultrafreezer, onde foram armazenados como etapa prévia ao processo de secagem por liofilização. O bagaço congelado foi seco por liofilização (Liotop L101, São Carlos, Brasil) em bateladas de 24 h. Cerca de 40 % da massa do bagaço (em teor de umidade) foi eliminada pela secagem. O bagaço seco foi triturado em moinho analítico (A11 Basic Mill IKA, Campinas, Brasil) por 60 s e peneirado em um agitador vibratório por 10 min utilizando jogo de peneiras da série Tyler (Bertel Indústria Metalúrgica, cidade) de 12 a 80 mesh (1,41 a 0,18 mm de abertura), para a remoção de porções remanescentes de caroço e sólidos grosseiros que não foram totalmente cominuídos.

Figura 1. Frações de bagaço retidas, compostas por (a) fragmentos grandes de caroços, (b) fragmentos menores de caroços e cascas e (c) FBA, obtidas do peneiramento do bagaço de azeitona liofilizado.



Pela análise de distribuição granulométrica do material retido em cada faixa de tamanho, distinguiram-se três frações distintas do material moído (Figura 1), sendo 31,87 % referente aos fragmentos grandes de caroços, maiores que 1,41 mm (Figura 1a), 13,42 % de fragmentos menores de caroços e cascas de 0,22 a 0,95 mm (Figura 1b) e o restante (54,71 %), um pó fino constituído pela polpa, cascas e fragmentos finos de caroço menores que 0,22 mm (Figura 1c), esta última considerada como a farinha de bagaço de azeitona (FBA).

Preparação dos bolos contendo FBA

A formulação base dos bolos tipo inglês (31 % açúcar, 22 % farinha, 22 % ovos, 18 % leite, 5 % óleo de soja e 2 % fermento químico, (m/m)) foi fixada de acordo com o trabalho

de (PREICHARDT et al., 2011), alterando apenas o tipo de farinha utilizada entre as diferentes formulações testadas, mantendo-se a mesma proporção entre os demais componentes. A base farinácea composta pela farinha de trigo foi substituída por farinhas isentas de glúten nas quatro formulações alternativas (Tabela 1). A FBA foi adicionada em cada formulação dos bolos de forma que a proporção 1:1 (ou 1:1:1) entre as farinhas isentas de glúten fosse mantida. Uma quarta formulação (F4), foi elaborada utilizando exclusivamente a FBA.

Tabela 1. Base farinácea das formulações de bolos sem glúten contendo FBA testadas.

	Códigos	% Farinha de milho[1] (FM)	% Farinha de arroz (FA)	% FBA
Formulação 1	F1, F1X	33,33	33,33	33,33
Formulação 2	F2, F2X	50	0	50
Formulação 3	F3, F3X	0	50	50
Formulação 4	F4, F4X	0	0	100

*Porcentagem sobre o total de farinha na formulação.

Para fins de comparação da performance da FBA como agente gelificante, as mesmas quatro formulações foram elaboradas com a adição de goma xantana, adicionada a uma concentração de 0,25 % (m/m) sobre o peso total da formulação (BALBINOT-FILHO et al., 2019; TEIXEIRA et al., 2018), determinada em ensaios preliminares (dados não mostrados). Dessa forma, o estudo compreendeu oito formulações de bolo com as seguintes codificações de bolos com xantana (F1X, F2X, F3X e F4X) e sem a presença do hidrocoloide (F1, F2, F3 e F4).

Inicialmente, as farinhas, o açúcar e, a xantana (quando adicionada) foram pesados (balança Shimadzu, precisão de 0,0001 g) e homogeneizados separadamente dos demais ingredientes, a massa foi misturada em batedeira (Mondial) por 2 min na velocidade máxima e 4 min na velocidade média e, o fermento foi misturado à massa final. Os bolos foram assados em formas retangulares de teflon (5,5 cm de altura, 9,5 cm de largura e 21 cm de comprimento) em forno elétrico (Stefanelli Du Chef) pré-aquecido a 180 °C por 45 min, e rotacionados na metade do tempo para garantir que fossem assados de maneira uniforme. Dois bolos foram assados por vez e, depois de prontos, foram desenformados, resfriados à temperatura ambiente e, imediatamente caracterizados.

Avaliação do potencial bioativo do bagaço de azeitona *in natura*, FBA e bolos isentos de glúten contendo FBA

Foram avaliadas quantitativamente o teor de compostos fenólicos totais (CFT) e a atividade antioxidante (AA) dos bolos, com e sem a adição de xantana, do bagaço de azeitona *in natura* e da FBA.

Preparação dos extratos metanólicos

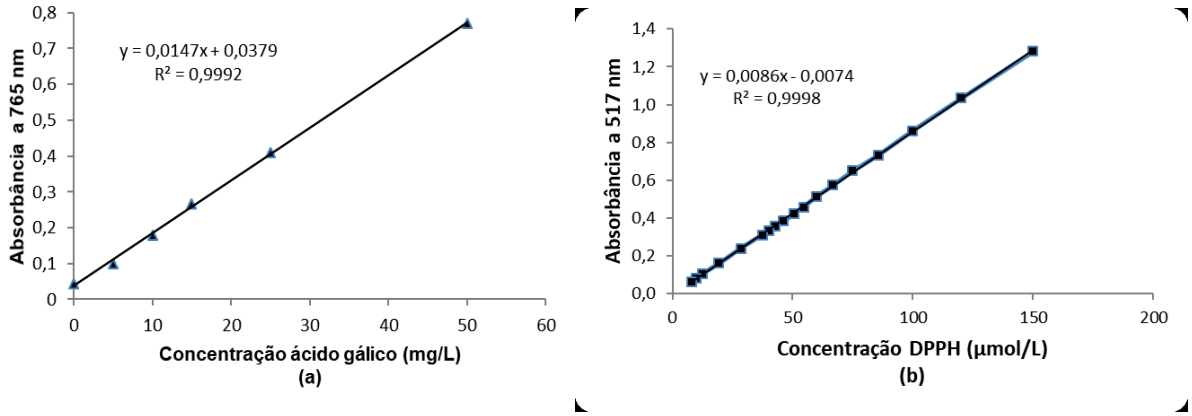
Um grama (1 g) de amostra foi pesado e adicionado à 20 mL de metanol em tubos falcon protegidos da luz, que foram na sequência armazenados a 25 °C em banho-maria por 3 h (CFT) ou a 4 °C por 24 h (AA). Após a maceração, os tubos foram centrifugados a 3000 rpm por 30 min, sendo os extratos alcoólicos (porção sobrenadante dos tubos) utilizadas para as análises e, o corpo de fundo descartado.

Determinação do teor de compostos fenólicos totais (CFT)

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado através de análise colorimétrica utilizando o reagente Folin-Ciocalteau, conforme descrito por Singleton e Rossi (1965). O sobrenadante foi filtrado com papel filtro e algodão em balões de 25 mL, e avolumados com metanol. Foram adicionados a tubos de ensaio alíquotas de 1 mL dos extratos junto à 10 mL de água destilada e 0,5 mL do reativo de Folin-Ciocalteu (0,2 N).

Após agitação prévia e passados 3 min, transferiu-se 1,5 mL de Na_2CO_3 20 % (1 N), foi aguardado o tempo de reação estabelecido pelo método de 2 h sob o abrigo de luz. Em seguida, a absorbância foi medida à 765 nm em espectrofotômetro UV/VIS (Bel Spectro S-2000). As leituras de absorbâncias dos extratos foram comparadas com uma curva de calibração de ácido gálico (CFT = (Abs_{765} – 0,0379)/0,0147; R^2 = 0,992) (Figura 2a), e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico (EAG) (mg EAG/g amostra *in natura*).

Figura 2. Curvas padrão de (a) ácido gálico e (b) DPPH.



Determinação da atividade antioxidante in vitro por DPPH

A atividade antioxidante (AA) dos extratos foi determinada pelo método de captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo

da absorbância a 517 nm, de acordo com a metodologia adaptada de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Para isso, foi utilizado 100 µL do extrato sobrenadante acrescentado de 3,9 mL da solução metanólica de DPPH (Abs_{517} = 1,11), realizando a leitura a 517 nm após o período de 1 h de reação sob a ausência de luz.

Para a quantificação da capacidade antioxidante, as absorbâncias foram comparadas com uma curva padrão de calibração de DPPH (DPPH = (Abs + 0,0074)/0,0086; R^2 = 0,9998) (Figura 2b), de onde pode-se observar o incremento da absorbância com a concentração de DPPH. A atividade de eliminação dos radicais livres das amostras foi lida a 517 nm contra um branco (DPPH sem amostra), e calculada pelo percentual de redução (% inibição) usando a Equação 1.

$$\text{Atividade antioxidante (\% inibição)} = \left[1 - \left(\frac{\text{Abs amostra}_{517nm}}{\text{Abs branco}_{517nm}}\right)\right] * 100 \quad (1)$$

Análise estatística dos dados

Cada bolo foi assado em duplicata e, as análises realizadas em triplicata, sendo os resultados expressos em termos da média ± desvio padrão. Os resultados foram tratados por Análise de Variância (ANOVA, fator único) utilizando o software Statistica versão 13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, EUA), e as diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste Tukey a um nível de significância de 5 %.

RESULTADOS

Os resultados para o teor de compostos fenólicos totais (CFT) e a atividade antioxidante (AA) do bagaço de azeitona *in natura*, bem como, da farinha de bagaço de azeitona (FBA) e dos frutos da oliveira frescos são apresentados na Tabela 2. O teor de CFT diferiu estatisticamente ($p<0,05$) entre todas as amostras, sendo superior na FBA, no bagaço de azeitona e nos frutos *in natura,* respectivamente. Quanto à AA, apenas os frutos apresentaram valores estatisticamente inferiores ($p<0,05$) do que o bagaço e a FBA, ainda assim, todos extratos apresentaram mais de 90 % da capacidade de neutralizar os radicais livres.

Tabela 2. Compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante (AA) no bagaço de azeitona in natura e farinha de bagaço de azeitona.

	CFT (mg EAG/g)[1]	AA (% inibição ao DPPH)
cv. Arbequina *in natura*	$28,23^{c}$±1,43	$90,87^{b}$±0,40
Bagaço de azeitona	$33,47^{b}$±1,99	$93,02^{a}$±0,63
FBA	$38,57^{a}$±0,46	$92,80^{a}$±0,11

[1]Expresso em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de amostra em base úmida. [a,b]Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p<0,05$).

Para os bolos elaborados com a FBA, o teor de CFT e a AA são mostrados na Tabela 3. Nos bolos contendo xantana, o teor de CFT foi significativamente ($p<0,05$) maior do que

a respectiva formulação sem o hidrocoloide apenas naquela elaborada com a mistura das três farinhas: FBA + farinha de milho + farinha de arroz (F1X). Nas demais formulações contendo o *mix* de FBA + farinha de milho (F2, F2X) e FBA + farinha de arroz (F3, F3X), a presença de goma xantana (0,25 %) não interferiu significativamente ($p>0,05$) no teor de CFT. Contrariamente, o bolo elaborado somente com FBA sem xantana (F4), obteve o maior conteúdo destes compostos.

Tabela 3. Compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante (AA) dos bolos contendo farinha de bagaço de azeitona (FBA) com e sem a adição de 0,25 % de xantana.

Formulação[1]	CFT (mg EAG.g^{-1})[2]	AA (% inibição ao DPPH)
F1X	$15,81^{b,c}$±0,79	$72,74^{b}$±0,59
F1	$12,45^{d}$±0,90	$62,27^{c}$±0,67
F2X	$16,57^{b}$±0,54	$88,75^{a}$±0,86
F2	$14,24^{b,c,d}$±0,79	$88,31^{a}$±0,37
F3X	$15,78^{b,c}$±0,14	$87,17^{a}$±0,69
F3	$13,77^{c,d}$±0,36	$89,45^{a}$±0,68
F4X	$12,50^{d}$±0,99	$89,60^{a}$±0,49
F4	$19,48^{a}$±0,78	$90,13^{a}$±0,12

[1]Formulações: F1 (33,3 % FA + 33,3 % FM + 33, 3% FBA); F2 (50 % FM + 50 % FBA); F3 (50 % FA + 50 % FBA); F4 (100 % FBA); X = com 0,25 % de xantana; FA = farinha de arroz; FM = farinha de milho; FBA = farinha de bagaço de azeitona. [2]Valores expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de amostra (base úmida). [a,b,c,d]Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p<0,05$).

Para a AA, apenas a formulação 1 (33 % FBA) apresentou inibição significativamente ($p<0,05$) menor do que as demais formulações de bolos, contendo a partir de 50 % de substituição da farinha pela FBA.

DISCUSSÃO

O teor de CFT encontrado no bagaço de azeitona foi maior do que o dos frutos da cv. Arbequina *in natura* (Tabela 2). Isto pode ser explicado pelo efeito da diluição, ocasionado pela maior quantidade de óleo (19,69 %) nos frutos, comparado ao bagaço (7,31 %), justificado por Teixeira et al. (2015) nos dados da composição química de azeitonas cv. Arbequina da Região da Campanha Gaúcha. Ocorre que, após a extração do azeite, os fenólicos se concentram no bagaço e, esse resultado corrobora com a hipótese de que a maior parte da bioatividade das azeitonas, permanece no bagaço (98 %), ficando apenas 2 % remanescente no azeite (RODIS; KARATHANOS; MANTZAVINOU, 2002), tornando o bagaço uma potencial fonte de biomoléculas com atividade biológica (OBIED et al., 2005). De forma análoga, na FBA, o teor de CFT foi significativamente maior ($p<0,05$), estando os compostos mais concentrados na farinha devido ao menor conteúdo de umidade da FBA (6,72 % ± 0,08) comparada à do bagaço (66,29 % ± 0,15).

Comparando os resultados para CFT em base seca, observa-se também que houve perda significativa ($p<0,05$) de fenólicos na FBA, uma vez que, o teor de CFT

no bagaço (99,28 ± 5,91 mg EAG/g) é 2,4 vezes mais concentrado do que na FBA (41,35 ± 0,50 mg EAG/g), ou seja, o processamento do bagaço para obtenção da farinha, acarretou na perda de aproximadamente 58 % do seu aporte fenólico. Ainda assim, os resultados demonstram que a FBA obtida por meio de um processo tecnológico adequado, como a liofilização, preserva uma quantidade considerável dos compostos fenólicos, associados com a atividade antioxidante da azeitona que permanecem no bagaço.

Segundo Medeiros et al. (2016), os compostos fenólicos têm despertado a atenção principalmente por seu efeito na prevenção ou redução do estresse oxidativo de tecidos vivos, geralmente associados à patogênese de doenças como a aterosclerose, câncer, diabetes mellitus, doenças inflamatórias e neurodegenerativas. Em alimentos, esses compostos também previnem a deterioração pela inibição da oxidação lipídica, dado o atual interesse em elaborar alimentos que possam ser fontes destes compostos bioativos.

Analogamente, o conteúdo de fibra dietética contido no bagaço de azeitona é outro aspecto que tem sido explorado, grande parte devido às propriedades funcionais e capacidade de gelificação que apresenta, onde uma ampla gama de produtos alimentícios enriquecidos com fibras tem sido desenvolvida (MEDEIROS et al., 2016). O extrato péctico do bagaço de azeitona úmido possui uma habilidade de formar géis comparável à da pectina de baixa metoxilação comercial (BTM) (GALANAKIS; TORNBERG; GEKAS, 2010), sendo considerado uma alternativa em potencial à substituição do glúten.

Os bolos isentos de glúten contendo FBA, com ou sem a adição de xantana (0,25 %) apresentaram valores para CFT que variaram de 12,45 a 19,48 mg EAG/g e a AA de 62,27 a 90,13 % (Tabela 3). Primeiramente, observou-se uma queda gradual entre a matéria-prima da FBA, o bagaço, a FBA e o produto final (bolos). Os tratamentos mecânicos e térmicos inerentes ao processamento da farinha e dos bolos tendem a reduzir o conteúdo destes compostos que costumam ser instáveis à incidência de luz e calor. Ainda assim, foi possível elaborar bolos com um considerável conteúdo fenólico e capacidade antioxidante.

As formulações de bolo contendo xantana apresentaram teores de CFT que foram significativamente ($p<0,05$) maiores (F1X), iguais (F2X e F3X) ou menores (F4X), do que as respectivas formulações sem o hidrocoloide (F1, F2, F3 e F4). A xantana foi adicionada aos bolos com o objetivo de aumentar a viscoelasticidade da massa e suprir a carência do glúten. O bolo elaborado com 100 % FBA, sem xantana (F4), obteve o maior teor de CFT dentre as formulações testadas. Sugere-se que, na formulação F4X, a xantana possa ter encapsulado os compostos fenólicos na rede polimérica, impedindo-os de serem lixiviados da estrutura do bolo e quantificados na análise. De acordo com Godhsall (1997), a ação de encapsulamento de compostos pela xantana está relacionada com mecanismos que envolvem interações moleculares específicas que promovem adsorção, retenção em microrregiões,

complexação e formação de pontes de hidrogênio. Na ausência de glúten, é provável que a xantana interaja com as farinhas empregadas nas demais formulações, ligando-se aos grânulos de amido gelatinizados pela absorção da umidade. Entretanto, na ausência do amido proveniente das farinhas de milho e de arroz, como nas formulações F4X e F4, a goma possui maior disponibilidade para se ligar aos compostos fenólicos através da água, uma vez que ambos possuem caráter hidrofílico. A goma xantana apresenta resistência térmica e desempenha um importante papel na preservação destes compostos bioativos, através do encapsulamento dos mesmos, visto que, é estável a altas temperaturas (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2015). A ausência de xantana na formulação F4 pode ter permitido uma maior reação de sequestro dos radicais pelos compostos antioxidantes e, portanto, maior quantificação dos mesmos KUCK, 2012). No entanto, as interações entre a xantana e a proteção dos compostos fenólicos ainda não está bem estabelecida.

Quanto à AA dos bolos contendo FBA, a formulação F1X diferiu da F1 ($p<0,05$), enquanto todas as demais apresentaram valores de AA estatisticamente iguais ($p>0,05$). A partir dos resultados obtidos, presume-se que o maior percentual de inibição na formulação F1X (72,74 %), em relação à F1 (62,27 %), se deve ao efeito protetor que a goma xantana exerce ao encapsular compostos responsáveis pela atividade antioxidante na rede polimérica, corroborando com o teor de CFT, que foi significativamente ($p<0,05$) maior na formulação F1X.

A quantificação da AA pelo método de DPPH, consiste em determinar a capacidade das moléculas em doar hidrogênio e sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina, sem produzir reações de oxidação em cadeia ou reagir com radicais livres intermediários (APAK et al., 2016). Essa redução é verificada pela queda da absorbância e, mudança de coloração (violeta escuro para o amarelo clara), ou seja, quanto maior a redução do DPPH, menor será a coloração violeta e, consequentemente, maior a atividade antioxidante da amostra (ALVES et al., 2010). Na Figura 3, pode-se observar a perda gradual da intensidade característica do DPPH (indício da reação) conforme se aumenta a proporção de FBA na amostra.

Figura 3. Intensidade das reações colorimétricas de DPPH com amostras e, com o branco (sem amostra).

Ao relacionar esses resultados com as demais formulações (F2, F3 e F4), estima-se que houve uma concentração mínima de compostos antioxidantes nos bolos suficiente para promover uma alta AA, próxima a 90 %, nos bolos contendo um nível de substituição das farinhas de no mínimo 50 % pela FBA. Esse resultado se deve, em partes, à concentração CFT da FBA, que permanecem nos bolos assados. Lafka et al. (2011) ao avaliarem coprodutos de azeitona, não encontraram correlação entre ambos os resultados, enquanto Alu'datt et al. (2010), encontraram correlação linear entre o teor total de fenólicos e a AA no bagaço de azeitona. Uma alusão desta correlação entre CFT e a AA dos bolos não pode ser claramente estabelecida em função da AA ser próxima de 90 %, independente do teor de CFT, sendo mais correta a correlação com o percentual de FBA nas formulações.

Entretanto, a AA de uma fonte vegetal pode não estar associada somente ao conteúdo fenólico, uma vez que, outras substâncias como carotenoides, pigmentos e fibras podem contribuir para a inibição da ação do radical DPPH. As fibras, apesar de não serem compostos fenólicos, são polissacarídeos que têm a capacidade de reduzir espécies oxidativas (radicais) e, assim, contribuem para o valor da AA dos bolos contendo FBA. Outros compostos que também absorvem energia na faixa de 517 nm e, que podem causar interferências nos resultados, são derivados dos próprios insumos utilizados na elaboração dos bolos, como carotenoides presentes no ovo, nas farinhas de arroz e de milho e no óleo de soja (luteína, zeaxantina, β-criptoxantina, β-caroteno etc.). De certa forma, pelos resultados obtidos no presente trabalho, sugere-se que a FBA é o insumo responsável pela maior parte da capacidade antioxidante encontrada nos bolos, pelo alto conteúdo de CFT presente no bagaço de azeitona e que foram preservados na FBA.

CONCLUSÃO

Os resultados *in vitro* aqui apresentados demonstram que um nível de substituição de 50 % por FBA em relação à quantidade de farinha na formulação dos bolos sem glúten foi suficiente para alcançar um nível de atividade antioxidante de aproximadamente 90 % nesses produtos, representando ser uma grande aliada no combate ao estresse oxidativo causado por radicais livres. Embora os mecanismos de reação por trás das interações entre o material péctico da FBA e o papel da goma xantana na encapsulação e proteção dos fenólicos nos bolos, ainda não tenham sido totalmente esclarecidos, estima-se que a adição deste hidrocoloide é favorável, permitindo melhorar os atributos de qualidade dos bolos isentos de glúten.

A FBA obtida por liofilização mostrou capacidade de preservar os compostos fenólicos do bagaço de azeitona, apresentando potencial para ser adicionada na formulação de bolos sem glúten, em combinação com outras farinhas alternativas, pela capacidade de gelificação

e melhora da qualidade nutricional que pode desempenhar. Entretanto, foi verificado que há a necessidade de mais estudos com enfoque no aproveitamento integral do bagaço de azeitona. Pesquisas incluindo a incorporação das porções fibrosas do caroço na farinha, bem como, a avaliação da toxicidade e aceitabilidade da FBA como um ingrediente funcional, tendem a complementar o estudo em questão, de modo a valorizar esse coproduto de baixo valor comercial para obtenção de um produto com alto valor agregado.

REFERÊNCIAS

1. ALU'DATT, M. H. et al. Optimisation, characterisation and quantification of phenolic compounds in olive cake. **Food Chemistry**, v. 123, n. 1, p. 117–122, 2010. doi:10.1016/j.foodchem.2010.04.011

2. ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quimica Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010. https://doi.org/10.1590/S0100-40422010001000033

3. ANAL, A. K. Food processing by-products. In: TIWARI, B.; BRUNTON, N.; BRENNAN, C. S. (Eds.). . **Handbook of Plant Food Phytochemicals: sources, stability and extraction**. West Sussex, UK: Wiley-Blackwell, 2013. p. 180–197. https://www.wiley.com/en-us/Handbook+of+Plant+Food+Phytochemicals%3A+Sources%2C+Stability+and+Extraction-p-9781118464687

4. APAK, R. et al. Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 5, p. 997–1027, 2016. https://pubs.acs.org/toc/jafcau/64/5

5. BALBINOT-FILHO, C. A. et al. **Determinação de fenóis totais e capacidade antioxidante avaliados em bolos desenvolvidos com farinha de bagaço de azeitona e xantana**. XXI Encontro Nacional e VI Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos. **Anais**...Florianópolis: 2019. https://icongresso.sbaal.itarget.com.br/anais/index/index/cc/2

6. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie**, v, 28, p. 25-30, 1995. 10.1016/s0023-6438(95)80008-5

7. BRITO, R. F. **Valorização Integrada de Resíduos e Subprodutos da Extração do Azeite: Extração e Caraterização de Compostos Bioativos do Bagaço de Azeitona**. Faro: Universidade do Algarve, 2016. https://sapientia.ualg.pt/handle/10400.1/8667

8. CHAN, S. Dietetic Bakery Products. In: HUI, Y. H. et al. (Eds.). **Bakery Products: Science and Technology**. 2st. ed. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 2014. p. 639-656. doi/book/10.1002/9781118792001

9. DUARTE, C. **Extracção e Encapsulamento de Compostos Bioactivos do Bagaço de Azeitona**. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa, 2011. https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/4195/1/Extrac%C3%A7%C3%A3o%20e%20Encapsulamento%20dos%20Compostos%20Bioactivos%20do%20Baga%C3%A7o%20de%20Azeitona.pdf

10. FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Dossiê gomas**. v. 18, n. 32, p. 28-48, 2015. https://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/20160606949080014648894 09.pdf

11. GALANAKIS, C. M.; TORNBERG, E.; GEKAS, V. Dietary fiber suspensions from olive mill wastewater as potential fat replacements in meatballs. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 7, p. 1018–1025, 2010. doi:10.1016/j.lwt.2010.01.005

12. GALLAGHER, E.; GORMLEY, T. R.; ARENDT, E. K. Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, n. 3–4, p. 143–152, 2004. doi:10.1016/j.tifs.2003.09.012

13. GALLARDO-GUERRERO, L.; ROCA, M.; MÍNGUEZ-MOSQUERA, M. I. Distribution of chlorophylls and carotenoids in ripening olives and between oil and alperujo when processed using a two-phase extraction system. **JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 79, n. 1, p. 105–109, 2002. http://lib3.dss.go.th/fulltext/Journal/J.AOCS/J.AOCS/2002/no.1/v.79n1p105-109.pdf

14. GODSHALL, M. A. How carbohydrates influence food flavor. **Food Technology**, Chicago, v. 1, n. 51, p.63-67, 1997. https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US19970112451

15. JÚLIO, L. R. C. **Tratamento, caracterização química e estudo in vivo do bagaço de azeitona resultante da extração do azeite de oliva**. Lavras, MG: Universidade Federal de Lavras, 2014. http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/4941/1/TESE_Tratamento%2C%20caracteriza%C3%A7%C3%A3o%20qu%C3%ADmica%20e%20estudo%20In%20vivo%20do%20baga%C3%A7o%20de%20azeitona%20resultante%20da%20extra%C3%A7%C3%A3o%20do%20azeite%20de%20oliv.pdf

16. KUCK, L. S. **Desenvolvimento de polpa de mirtilo (Vaccinium ashei Reade) e preservação das suas antocianinas para elaboração em alimentos.** Dissertação: Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, 126 p., 2012. http://dctaufpel.com.br/ppgcta/manager/uploads/documentos/dissertacoes/disserta__o_luiza_kuck1.pdf

17. LAFKA, T. I. et al. Phenolic and antioxidant potential of olive oil mill wastes. **Food Chemistry**, v. 125, n. 1, p. 92–98, 2011. doi:10.1016/j.foodchem.2010.08.041

18. LIN, S. et al. Sensory and nutritional properties of chinese olive pomace based high fibre biscuit. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 29, n. 7, p. 495–501, 2017. doi/10.9755/ejfa.2016-12-1908

19. LUGLIO, A. **Pessoas intolerantes ao glúten podem chegar a dois milhões no Brasil.** (2015). http://www.bandab.com.br/jornalismo/pessoas-intolerantes-ao-gluten-podem-chegar--a-dois-milhoes-no-brasil-muitas-ainda-sem-diagnostico

20. MEDEIROS, R. M. L. et al. Destinação e reaproveitamento de subprodutos da extração olivícola. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 2, p. 100–108, 2016. http://dx.doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v15n2p100-108

21. MOSCOSO, F.; QUERA, R. Enfermedad Celiaca: Revisión. **Revista Médica Clínica Las Condes**, v. 26, n. 5, p. 613–627, 2015. doi/10.1016/j.rmclc.2015.09.007

22. OBIED, H. K. et al. Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 4, p. 823–837, 2005. doi/10.1021/jf048569x

23. PREICHARDT, L. D. et al. The role of xanthan gum in the quality of gluten free cakes: Improved bakery products for coeliac patients. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 12, p. 2591–2597, 2011. doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02788.x

24. RODIS, P. S.; KARATHANOS, V. T.; MANTZAVINOU, A. Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 3, p. 596–601, 2002. doi/10.1021/jf010864j

25. SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965. https://www.ajevonline.org/content/16/3/144

26. TEIXEIRA, R. F. et al. **Avaliação das características físico-químicas do resíduo do processamento do azeite na Região da Campanha Gaúcha**. VII Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão. **Anais**...Alegrete, RS: 2015. http://200.132.146.161/index.php/siepe/article/view/16453

27. TEIXEIRA, R. F. et al. **Compostos fenólicos e atividade antioxidante de bolos sem glúten contendo xantana elaborados com farinha de bagaço de azeitona**. 2° Workshop de Compostos Bioativos e Qualidade de Alimentos. **Anais**...Santa Maria, RS: UFSM, 2018. https://www.ufsm.br/cursos/pos-graduacao/santa-maria/ppgcta/eventos/2-workshop-de-compostos-bioativos-e-qualidade-de-alimentos/

28. VARZAKAS, T.; ZAKYNTHINOS, G.; VERPOORT, F. Plant Food Residues as a Source of Nutraceuticals and Functional Foods. **Foods**, v. 5, n. 4, p. 88, 2016. doi:10.3390/foods5040088

29. YING, D. Y. et al. Physical properties and FTIR analysis of rice-oat flour and maize-oat flour based extruded food products containing olive pomace. **Food Research International**, v. 100, n. July, p. 665–673, 2017. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.062

09

Depleção do anticoccidiano nicarbazina em peito de frango

- Vivian **Feddern**
  Embrapa Suínos e Aves/NTPA
- Anildo **Cunha Júnior**
  Embrapa Suínos e Aves/NTPA
- Vanessa **Gressler**
  Embrapa Suínos e Aves/NTPA
- Gerson Neudí **Scheuermann**
  Embrapa Suínos e Aves/NTPA
- Arlei **Coldebella**
  Embrapa Suínos e Aves/NTPA
- Luizinho **Caron**
  Embrapa Suínos e Aves/NTPA
- Danniele Miranda **Bacila**
  UFPR
- Luciana **Igarashi-Mafra**
  UFPR

doi 10.37885/201101970

RESUMO

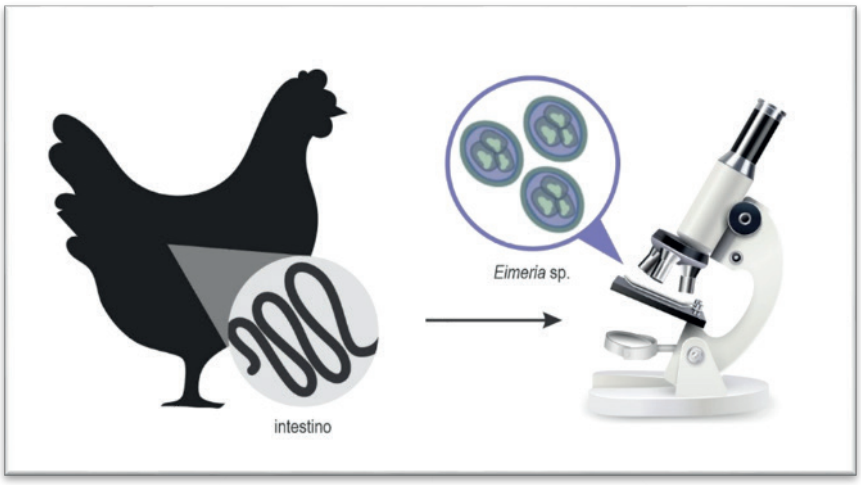
Na produção comercial de frangos sobre cama indispensável a utilização de anticoccidianos para preservar a saúde do plantel. Nesse sentido, um dos anticoccidianos mais utilizados é a nicarbazina. A substância é constituída de um complexo equimolar de hidroxidimetil-pirimidinol e dinitrocarbanilida (DNC), e possui limites máximos de resíduos (LMR) de 200 μg/kg em carne de frango. O objetivo da pesquisa foi verificar se o período de retirada da substância da ração é adequado para permitir níveis de resíduos inferiores a 200 μg/kg. Para isso, foram criados frangos de corte em condições controladas, alimentados com nicarbazina, sendo a mesma retirada da ração em diferentes dias que antecedem o abate: 0, 2, 4, 7 e 10 dias. Para cada dia de retirada, foram abatidos seis frangos, coletando-se o músculo peitoral. A quantificação de DNC foi realizada por LC-MS/MS. A análise estatística explorou cinco curvas para verificar qual mais se adequava aos resultados do experimento. Os resultados mostraram que o modelo de Gompertz foi o que melhor se ajustou à depleção de DNC como uma função do tempo de retirada. A DNC foi rapidamente metabolizada até seis dias de retirada da nicarbazina da ração, possibilitando níveis de DNC menores que o LMR estabelecido por órgãos reguladores. Portanto, podem ser recomendados 6 dias antes do abate de frangos comerciais, como tempo seguro de retirada do anticoccidiano nicarbazina da ração.

Palavras-chave: Aves, Produtos Veterinários, Legislação, Frangos de Corte, Cromatografia.

INTRODUÇÃO

O Brasil é líder mundial na exportação de carne de frango e destina ao mercado interno, 66% da sua produção (ABPA, 2020). Um dos problemas comuns que pode acometer a produção comercial de frangos de corte sobre cama a ocorrência da coccidiose, doença causada por um grupo de protozoários do gênero *Eimeria* (Figura 1). A consequência desta doença são perdas econômicas, devido à queda no desempenho e à mortalidade dos frangos (CHAPMAN, 2014). Assim, é extremamente importante utilizar os aditivos anticoccidianos na ração de frangos de corte, para manutenção da saúde do plantel.

Figura 1. Coccidiose em frangos causada por *Eimeria* sp.



A nicarbazina possui vantajoso custo-benefício e dificulta o desenvolvimento de resistência das espécies de *Eimeria*, quando comparada a outros anticoccidianos. Porém, a presença de resíduos na carne tem sido uma preocupação recorrente das indústrias e órgãos regulamentadores, no sentido de oferecer um alimento seguro ao consumidor. Para isso, foram estabelecidos limites máximos de resíduos (LMRs) e período de retirada para essas e outras substâncias.

A nicarbazina é constituída de 4,4´- dinitrocarbanilida (DNC) e 2-hidroxi-4,6-dimetil-pirimidina (HDP) (ROGERS et al., 1983). O componente DNC é considerado o resíduo marcador da nicarbazina, visto que estudos metabólicos em frangos evidenciaram que a deposição de DNC em tecidos musculares, gordura e órgãos foi muito superior aos níveis de HDP (EFSA, 2010). O amplo uso deste anticoccidiano na avicultura industrial levanta preocupações em relação à ocorrência de seus resíduos na carne (BACILA ET AL., 2017; CLARKE ET AL., 2014; DORNE ET AL., 2013). Em relação à segurança dos alimentos, a legislação brasileira é mais rigorosa em relação a este resíduo quando comparada aos Estados Unidos e União Europeia, estabelecendo o LMR de 200 μg/kg, conforme recomendado *Codex Alimentarius* (BRASIL, 2020; EFSA, 2010; FAO/WHO, 2015; USA, 2012).

O período de retirada, que por definição é considerado o número de dias que antecedem ao abate sem o uso de aditivos na ração, é a principal estratégia adotada na produção de frangos de corte para evitar não-conformidades quanto ao LMR de DNC na carne. O país segue o limite indicado pelo *Codex Alimentarius* de 200 μg/kg para carne de frango (FAO/WHO, 2015). Segundo histórico dos últimos anos do Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, há registros de amostras não conformes quanto à nicarbazina, expresso como DNC, oriundas de Sistema de Inspeção Federal (BRASIL, 2020).

No Brasil, a concentração de nicarbazina permitida na ração é de 125 mg/kg com período de retirada de 10 dias (BRASIL, 2015; POLI-NUTRI, 2018), enquanto que a União Europeia permite a mesma concentração do anticoccidiano com 1 dia de retirada. No caso dos Estados Unidos, a concentração máxima permitida de nicarbazina na ração de frangos é de 181,6 mg/kg com tempo de retirada de 4 a 5 dias (EFSA, 2010; USA, 2012). Para estabelecer ou revisar o período de retirada é importante que estudos considerando outras concentrações de nicarbazina e tempos de remoção do anticoccidiano da ração sejam disponibilizados para tomadas de decisão.

OBJETIVO

Avaliar a depleção do resíduo marcador da nicarbazina em carne de frango em diferentes períodos de retirada.

MÉTODOS

Reagentes

Produção da carne de frango

Frangos de corte foram criados em boxes coletivos sobre cama de cepilho (simples mas bem conhecido), sendo alimentados *ad libitum* com ração contendo 15 ppm de nicarbazina comercial. A substância foi retirada da ração aos 0, 2, 4, 7 e 10 dias que antecedem ao abate (42 dias de vida do frango). Para cada tempo de retirada, foram abatidos cinco frangos, com coleta imediata da carne de peito. Este tecido foi posteriormente utilizado para avaliar o conteúdo de DNC. O experimento foi autorizado pelos Comitês de Ética no Uso de Animais de Experimentação (CEUA) e de Biosseguridade (ComBio), ambos da Embrapa Suínos e Aves, protocolados sob número 013/2016 e 009/2017, respectivamente. O está ilustrado no Esquema 1.

Determinação cromatográfica por LC-MS/MS

As amostras oriundas do experimento a campo foram armazenadas a -20 °C até o momento da análise. O procedimento de extração e determinação de DNC seguiu o proposto por Coleman et al. (2014), com pequenas modificações. Resumidamente, a 1,5 ± 0,05 g da amostra seca e moída foi adicionado 1 g de sulfato de sódio anidro seguido de adição de 200 µL do padrão interno de DNC-d_8 (1 µg/mL) e agitação vigorosa em vórtex por 15 s. Após, 20 mL de acetonitrila foram adicionados seguido de agitação em vórtex por 30 s e em agitador de Wagner por mais 30 min. A centrifugação foi realizada a 3500g a 5 ºC por 10 min. O sobrenadante foi transferido para tubo cônico de 50 mL e o pellet da amostra extraído novamente com acetonitrila (20 mL). Os sobrenadantes foram combinados e o volume ajustado a 50 mL com acetonitrila. Uma alíquota da solução foi filtrada em membrana de 0,22 µm e o filtrado coletado em vial de 2 mL. A amostra foi armazenada a -20 ºC até o momento da análise por LC-MS/MS (Figura 2). A separação cromatográfica foi realizada em um cromatógrafo 1290 Infinity (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, EUA), com eluição gradiente linear em uma coluna analítica C_{18} Symmetry (50 x 2,1 mm, 3,5 µm) da Waters (EUA) com pré-coluna AJ0-4287 C_{18} (4,0 x 3,0 mm) da Phenomenex (Torrance, CA, USA). A eluição gradiente da fase móvel está demonstrada na Tabela 1. O volume de injeção foi 5 µL, a nicarbazina e o padrão interno (DNC-d_8) foram separados a uma taxa de 0,3 mL/min a temperatura da coluna de 40 ± 1.0 °C.

Figura 2. Processo de extração de dinitrocarbanilida (DNC) em peito de frango.

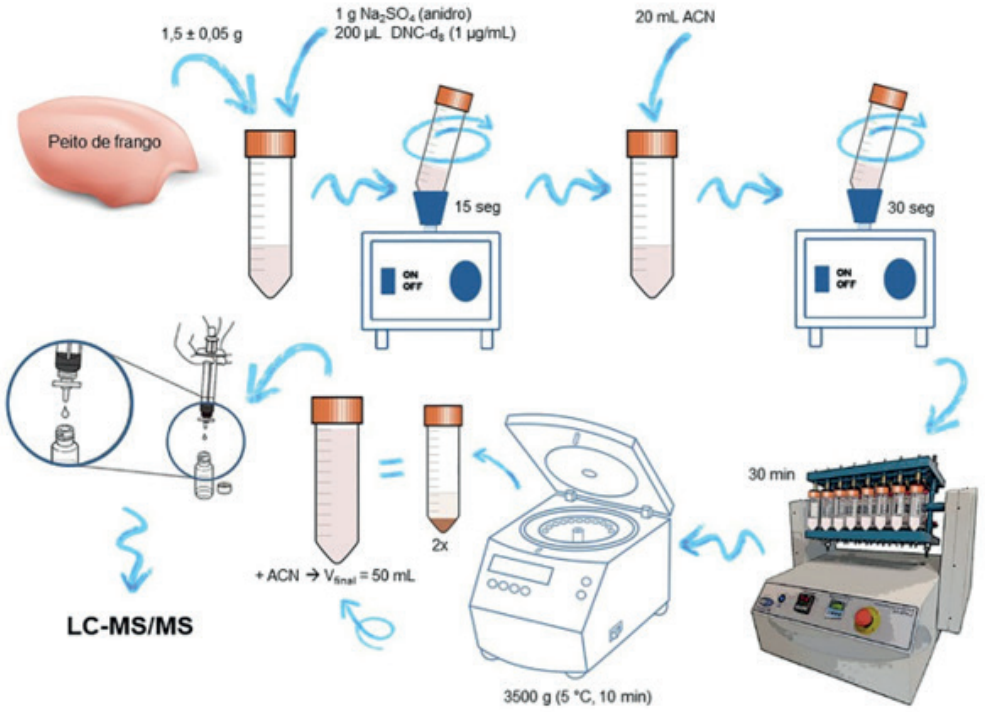


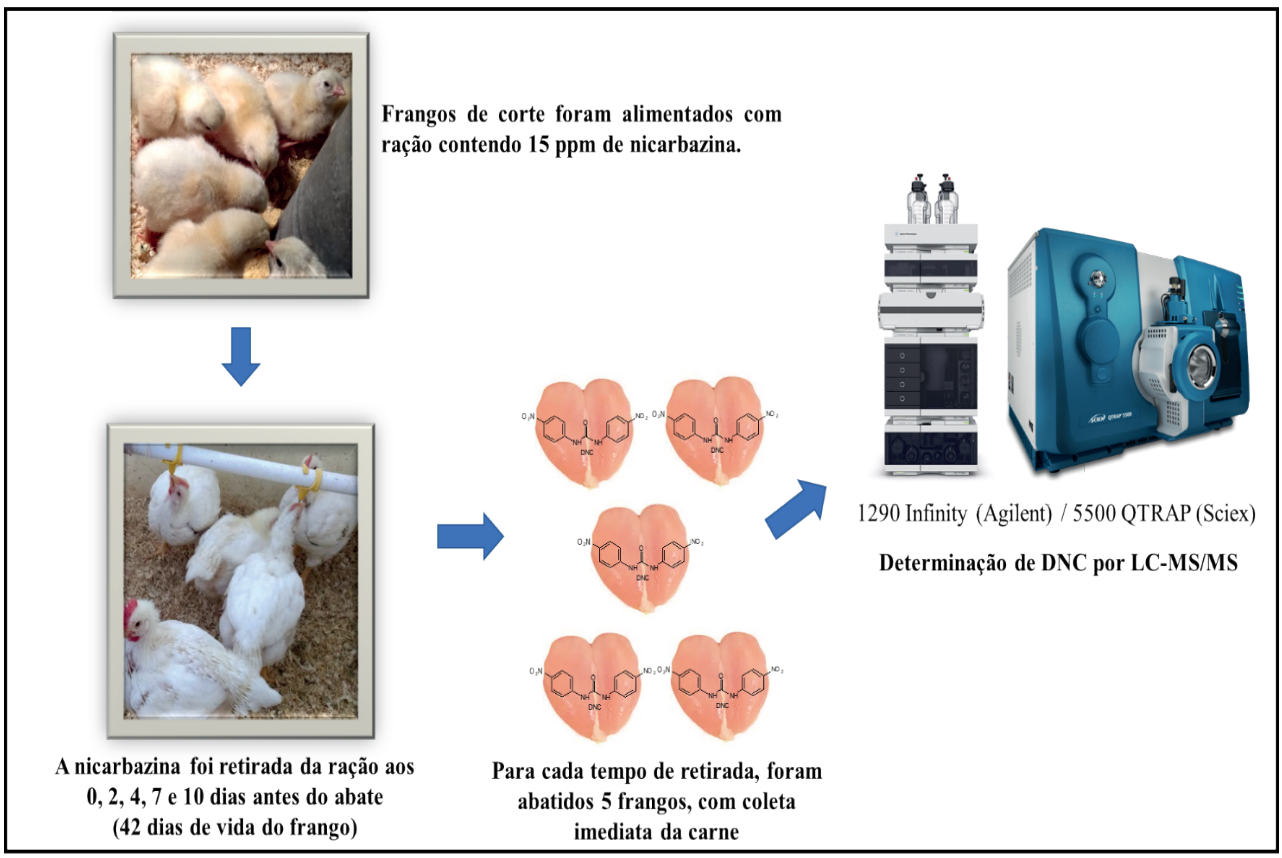
Tabela 1. Gradiente da fase móvel da corrida cromatográfica

Fase A	Fase B	Rampa
95%	5%	0 a 1 min
50%	50%	2 a 5 min
10%	90%	5 a 6 min
30%	70%	6 a 7 min
95%	5%	7 a 9 min

A = solução aquosa com acetato de amônio 100 mM e 0,05% ácido acético
B = solução de metanol com acetato de amônio 100 mM e 0,05% ácido acético

O espectrômetro de massas QTRAP 5500 (Sciex, Framingham, MA, EUA) foi operado em modo de ionização negativo (Turbo Íon Spray), com monitoramento seletivo de reações (SRM) na transição determinativa de *m/z* 301,0 Da → 137,0 Da para a DNC e de *m/z* 308,9 Da → 141,2 Da para a DNC-d_8; e na transição confirmatória de *m/z* 301,0 Da → 106,8 Da para a DNC e de *m/z* 308,9 Da → 111,0 Da para a DNC-d_8. Os parâmetros de operação do equipamento foram: resolução unitária; gás de cortina: nitrogênio, 25,0 CUR; potencial na fonte de íons de – 4500 V; dissociação ativada por colisão, alta; potencial de orifício, 55 V; temperatura na fonte de íons, 500 °C. O software Analyst 1.6.2 (AB Sciex, Foster City, CA) realizou a aquisição e processamento de dados.

Esquema 1. Resumo do experimental



Análise estatística

A concentração de DNC foi transformada em log (DNC + 1) para atender aos pressupostos da análise de variância realizada para o modelo de delineamento inteiramente casualizado, considerando o efeito do tempo de retirada. Os detalhes da análise foram realizados por meio de análise de regressão de modelos lineares e não lineares. Foram testadas cinco equações (linear, quadrática, linha quebrada com platô, logística e Gompertz) para determinar qual se ajusta melhor em função do tempo de retirada. A escolha da melhor equação para predizer a concentração de DNC foi baseada no *Akaike Information Criterion* (AIC). As análises foram realizadas utilizando os procedimentos GENMOD e NLMIXED (SAS INSTITUTE INC, 2012).

RESULTADOS

A Figura 3 mostra o cromatograma obtido da análise de DNC por LC-MS/MS e na Figura 4 são apresentados os resultados da concentração de DNC em função do tempo de retirada e da respectiva equação ajustada.

Figura 3. Cromatograma obtido da análise de nicarbazina na forma de dinitrocarbanilida (DNC).

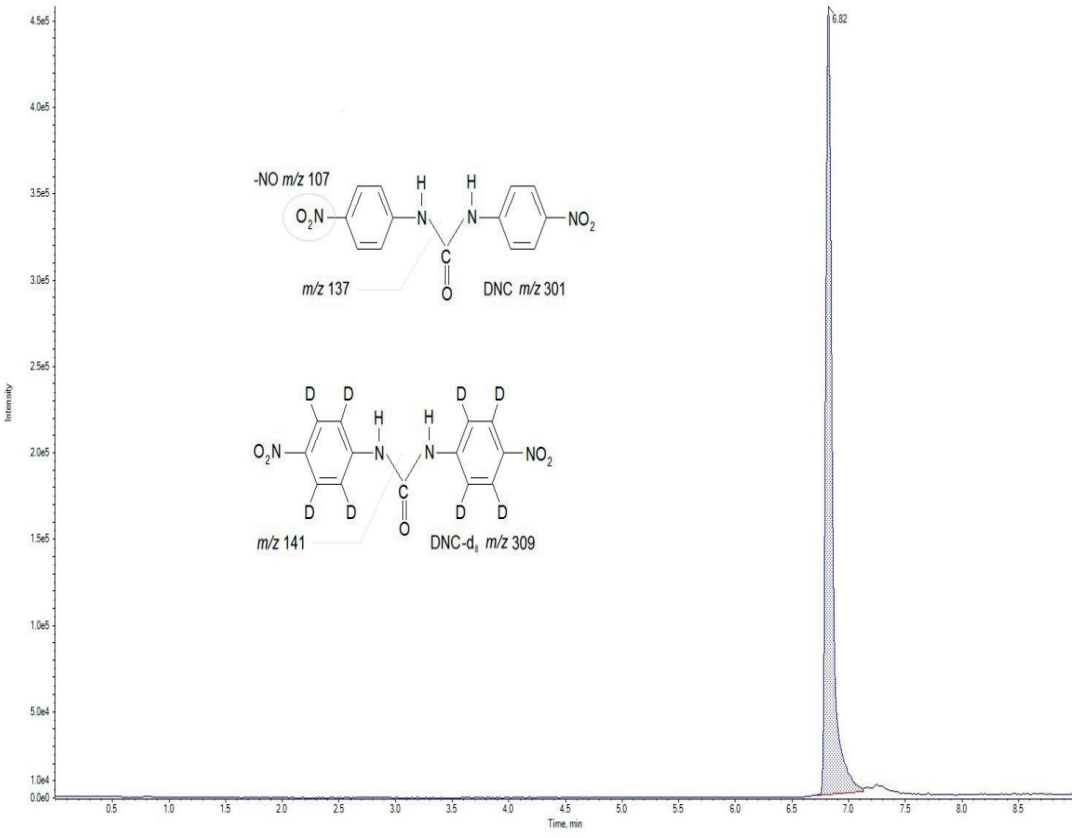
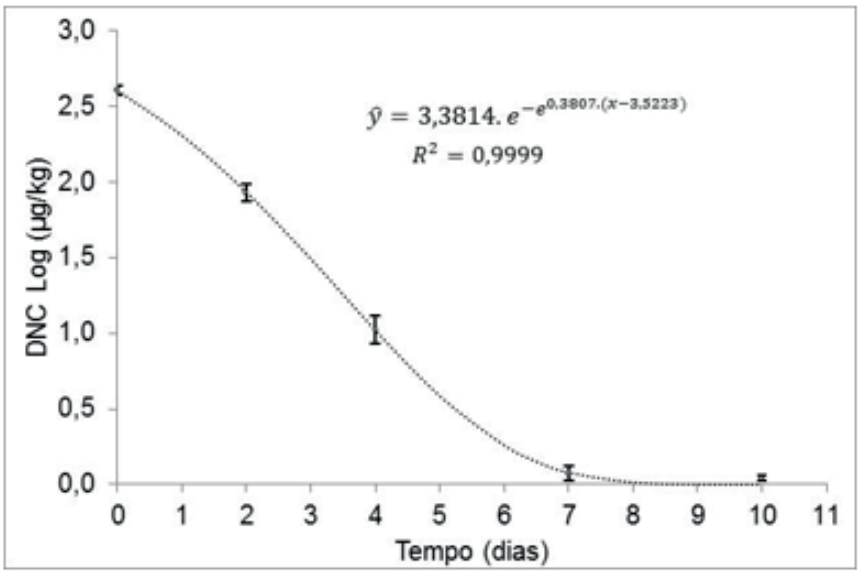


Figura 4. Depleção média de dinitrocarbanilida (DNC) e erro padrão em função do tempo de retirada da nicarbazina da ração.



Houve um efeito significativo ($p \leq 0,05$) do tempo de retirada na concentração de DNC. A análise detalhada do tempo de retirada indicou que a equação de Gompertz apresentou o melhor ajuste baseado no valor de AIC.

Através da equação de Gompertz, partindo de uma concentração inicial de DNC = log 2,60 ~ 400 µg/kg no tempo zero, ou seja, sem considerar o período de retirada se teria uma concentração duas vezes acima dos limites máximos de resíduos estabelecido pela legislação. No entanto, quando se retira a nicarbazina da ração no sexto dia que o abate, a concentração de DNC cai para LMR aceitável (< 200 µg/kg), podendo ser inferido que 6 dias são suficientes para limpar os tecidos do animal e deixar baixos os níveis de resíduos. Isto significa que os valores são inferiores aos LMR estabelecido pela legislação, abaixo do qual, não há implicação para a saúde do consumidor. Além disso, deve ser considerado que a carne sofrerá tratamento térmico antes do consumo, o que reduzirá ainda mais o nível de resíduos na carne de frango (BACILA et al., 2017; TARBIN et al., 2005).

DISCUSSÃO

Lima et al. (2017) ao realizar experimento com frangos utilizando dois anticoccidianos (nicarbazina e narasina) observou que os níveis de DNC eram maiores quando a nicarbazina foi administrada individualmente com narasina durante todo o período experimental. Os autores também afirmaram que seis dias de período de retirada são suficientes para diminuir os níveis de DNC em coxa de frango abaixo do limite de 200 µg/kg, quando a nicarbazina foi administrada como único anticoccidiano. No entanto, quando a nicarbazina foi administrada

de forma combinada com narasina, as concentrações de DNC foram inferiores ao LMRs após 4 dias de período de retirada.

Outros autores (OLEJNIK; SZPRENGIER-JUSZKIEWICZ; JEDZINIAK, 2011) avaliaram resíduos de nicarbazina e narasina em tecidos de frango e ovos, em condições de cama de aviário. A concentração de DNC no fígado no dia 0 da retirada foi de 4,44 μg/kg e rapidamente caiu atingindo o platô após 5 dias. A persistência prolongada de DNC em nível de platô e sua presença no conteúdo gástrico durante a retirada, sugerem que a DNC foi reingerida pelos animais, quando estes praticam a coprofagia da cama de vidro, o qual um comportamento normal das aves coprofagia na cama de aviário. Os autores relataram que a concentração de narasina em tecidos e ovos foi baixa, mesmo no início do período de retirada, o que confirma a baixa probabilidade de ocorrência de resíduos de narasina nos alimentos.

CONCLUSÃO / CONSIDERAÇÕES FINAIS

O modelo de Gompertz foi o que melhor se ajustou à depleção de dinitrocarbanilida (DNC) como uma função do tempo de retirada. A DNC é rapidamente metabolizada a partir dos músculos do frango até seis dias de retirada, uma vez que os níveis de DNC foram menores que o limite máximo de resíduos, estabelecido por órgãos reguladores. Portanto, a carne de frango é segura do ponto de vista de resíduos do anticoccidiano nicarbazina segundo os critérios adotados no presente trabalho.

AGRADECIMENTOS

À empresa que cedeu a nicarbazina para realizar o experimento. Aos funcionários Djalmo e Valter Felício *(in memoriam)*, pelo auxílio no experimento a campo, em 2017 e 2018, nas instalações da Embrapa Suínos e Aves. Ao Laboratório Federal de Defesa Animal - LFDA/RS, Seção Laboratorial Avançada SLAV, de São José/SC, pelo auxílio nas determinações cromatográficas, à Marina Schmidt, pelo auxílio na elaboração das figuras. À Embrapa, pelo uso das instalações e apoio financeiro do projeto 13.16.05.004. À CAPES (1533827) e ao CNPq (421626/2016-0), pelas bolsas concedidas. À FAPEG, pelo apoio financeiro na publicação do artigo.

REFERÊNCIAS

1. ABPA. (2020). *Relatório anual*. São Paulo: Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA). Disponível em: <http://abpa-br.org/relatorios/>. Acesso em: 21 Nov. 2020.

2. BACILA, D. M.; FEDDERN, V.; MAFRA, L. I.; SCHEUERMANN, G. N.; MOLOGNONI, L.; DAGUER, H. Current research, regulation, risk, analytical methods and monitoring results for nicarbazin in chicken meat: A perspective review. Food Research International, v. 99, p. 31–40, 2017. doi: 10.1016/j.foodres.2017.07.011

3. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Tabela de aditivos antimicrobianos, anticoccidianos e agonistas com uso autorizado na alimentação animal - 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/aditivos>. Acesso em: 21 Nov. 2020.

4. _____ . Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes PNCRC/Animal. *Resultados PNCRC* - 2020. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes>. Acesso em: 21 Nov. 2020.

5. CHAPMAN, H. D. Milestones in avian coccidiosis research: a review. Poultry Science, v. 93, n. 3, p. 501–511, 2014. doi: 10.3382/ps.2013-03634

6. CLARKE, L.; FODEY, T. L.; CROOKS, S. R. H.; MOLONEY, M.; O'MAHONY, J.; DELAHAUT, P.; O'KENNEDY, R.; DANAHER, M. A review of coccidiostats and the analysis of their residues in meat and other food. Meat Science, v. 97, n. 3, p. 358–374, 2014. doi: 10.1016/j.meatsci.2014.01.004

7. COLEMAN, M. R.; RODEWALD, J. M.; BRUNELLE, S. L.; NELSON, M.; BAILEY, L.; BURNETT, T. J. Determination and confirmation of nicarbazin, measured as 4,4-dinitrocarbanilide (DNC), in chicken tissues by liquid chromatography with tandem mass spectrometry: First action 2013.07. Journal of AOAC International, v. 97, n. 2, p. 630–640, 2014. doi: 10.5740/jaoacint.13-197

8. DORNE, J. L. C. M.; FERNÁNDEZ-CRUZ, M. L.; BERTELSEN, U.; RENSHAW, D. W.; PELTONEN, K.; ANADON, A.; FEIL, A.; SANDERS, P.; WESTER, P.; FINK-GREMMELS, J. Risk assessment of coccidostatics during feed cross-contamination: Animal and human health aspects. Toxicology and Applied Pharmacology, v. 270, n. 3, p. 196–208, 2013. doi: 10.1016/j.taap.2010.12.014

9. EFSA. Scientific Opinion on the safety and efficacy of Koffogran (nicarbazin) as a feed additive for chickens for fattening. EFSA Journal, v. 8, n. 3, 1551:1-40, 2010. doi: 10.2903/j.efsa.2010.1551

10. FAO/WHO. Maximum Residue Limits (MRLs) and Risk Management Recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods. CAC/MRL 2-2015. Updated as at the 38th Session of the Codex Alimentarius Commission (July 2015).

11. LIMA, A. L. DE; BARRETO, F.; RAU, R. B.; SILVA, G. R. DA; LARA, L. J. C.; FIGUEIREDO, T. C. DE; ASSIS, D. C. S. de; CANÇADO, S. DE V. Determination of the residue levels of nicarbazin and combination nicarbazin-narasin in broiler chickens after oral administration. (M. Olejnik, Ed.) *PLOS ONE*, *12*(7), e0181755, 2017. doi: doi.org/10.1371/journal.pone.0181755

12. OLEJNIK, M.; SZPRENGIER-JUSZKIEWICZ, T.; JEDZINIAK, P. Depletion study on nicarbazin and narasin in tissues and eggs of hens housed in deep litter. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, v. 55, n. 4, p. 761–766, 2011.

13. POLI-NUTRI. (2018). Poli-Nutri. *Lista de Produtos. Poli-nicarb premix 25%.* Disponível em: <http://www.polinutri.com.br/hotsites/produtos_detalhe.asp?id_tb_produto=2985&id_tb_categoria=2>. Acesso em: 28 Jan. 2018.

14. ROGERS, E. F.; BROWN, R. D.; BROW, J. E.; KAZAZIS, D. M.; LEANZA, W. J.; NICHOLS, J. R.; OSTLIND, D. A.; RODINO, T. M. Nicarbazin complex yields dinitrocarbanilide as ultrafine crystals with improved anticoccidial activity. Science, v. 222, n. 10, p. 630–632, 1983. doi: 10.1126/science.6635662

15. SAS INSTITUTE INC. System for Microsoft Windows, Release 9.4, Cary, NC, USA, 2012 (CD-ROM).

16. TARBIN, J. A.; BYGRAVE, J.; BIGWOOD, T.; HARDY, D.; ROSE, M.; SHARMAN, M. The effect of cooking on veterinary drug residues in food: Nicarbazin (Dinitrocarbanilide component). Food Additives and Contaminants, v. 22, n. 11, p. 1126–1131, 2005. doi: 10.1080/02652030500357193

17. USA. (2012). *Title 21 - Food and Drugs. Chapter I - Food and Drug Administration, Department of Health and Human services. Subchapter E - animal drugs, feeds, and related products part 556 - tolerances for residues of new animal drugs in food. Subpart B - Specific Tol. US Government Publishing Office*. Disponível em: <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2012-title21-vol6/pdf/CFR-2012-title21-vol6-sec556-445.pdf>. Acesso em: 21 Nov. 2020.

10

Desenvolvimento de *brownies* funcionais com substituição do açúcar comum

- Ana Luiza Almeida **Umbelino**
  UFOP
- Edislene Joviana de Souza **Tavares**
  UFOP
- Bruna Eugênia Ferreira **Mota**
  UFOP
- Patrícia Aparecida Pimenta **Pereira**
  UFOP
- Aureliano Claret da **Cunha**
  UFOP
- Simone de Fátima Viana da **Cunha**
  UFOP

10.37885/201102175

RESUMO

O *brownie* é um bolo de chocolate originário dos Estados Unidos, produzido sem adição de fermento e apresenta maior consistência que um bolo comum. Sua receita tem sido adaptada para satisfazer o gosto e o desejo dos consumidores mais exigentes, ora com a adição, ora com a supressão de algum ingrediente que adicione funcionalidade (ex: fibras). Objetivo: O objetivo deste trabalho foi elaborar *brownies* nutritivos, além de realizar substituição do açúcar cristal por açúcar mascavo, açúcar *light* e adoçante. Métodos: A partir de uma preparação padrão de *brownie*, foram adicionados ingredientes nutritivos (beterraba, cacau e farinha de linhaça) e substitutos do açúcar cristal, sendo que as formulações continham açúcar cristal (A1), açúcar mascavo (A2), açúcar *light* (A3) e adoçante (A4). A análise da composição nutricional dos *brownies* foi realizada utilizando as tabelas de composição química de alimentos. Os custos das preparações foram determinados e a avaliação sensorial foi realizada por 113 provadores utilizando teste de aceitação. Avaliou-se também a escala do ideal em relação à doçura e à consistência bem como intenção de compra. Resultados: De modo geral, as formulações com melhor aceitação foram A1 e A2 em relação a todos os atributos avaliados. Maiores conteúdos de gorduras mono e poliinsaturadas, além de fibras e baixo custo foram encontradas nas amostras de *brownies* nutritivos quando comparados à preparação padrão. Conclusão: A partir dos resultados obtidos, verificou-se a possibilidade de desenvolver *brownies* de baixo custo quando comparados aos *brownies* tradicionais e com valor nutricional agregado devido à adição de ingredientes considerados funcionais e menor teor de açúcar. Com isso, os *brownies* elaborados são boas opções para lanches saudáveis que podem substituir os alimentos industrializados e ricos em gorduras, os quais são nocivos à saúde.

Palavras-chave: Beterraba, Linhaça, Análise Sensorial, Custos, Fichas Técnicas de Preparo.

INTRODUÇÃO

A alimentação constitui uma das atividades humanas mais importantes, não só por razões biológicas evidentes, mas também por envolver aspectos econômicos, sociais, científicos, políticos, psicológicos e culturais fundamentais na dinâmica da evolução (PROENÇA, 2010).

Segundo Franco (2006), as pessoas estão cada vez mais conscientes de que são, em grande parte, responsáveis pela manutenção de sua saúde, seja por meio de uma alimentação balanceada ou pela prática regular de atividade física e quando inadequada, a dieta pode comprometer a saúde. Dessa forma, as pessoas estão preocupadas em evitar o consumo de alimentos que podem ser prejudiciais ao organismo e aumentar o consumo de alimentos que podem contribuir para a melhoria da qualidade de vida. Com isso, a demanda por alimentos nutritivos e seguros está crescendo mundialmente, e a ingestão de alimentos balanceados é a maneira correta de evitar ou mesmo corrigir problemas de saúde, como obesidade, diabetes, desnutrição, entre outros que geralmente têm origem nos erros alimentares (GUTKOSKI, 2007).

O conceito de alimentos funcionais surgiu no início dos anos 80 no Japão, a partir da preocupação com os problemas de saúde associados ao aumento da expectativa de vida da população (BASHO; BIN, 2010). Segundo a resolução nº 18, de 30 de Abril de 1999, o alimento com alegação de propriedade funcional é aquele que, além de exercer suas funções nutricionais básicas também exerce papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica, no entanto, essas alegações podem fazer referência à manutenção geral da saúde, ao papel fisiológico dos nutrientes e não nutrientes e à redução de risco a doenças, porém não são permitidas alegações de saúde que façam referência à cura ou prevenção de doenças (BRASIL, 1999). São permitidas alegações de função e/ou conteúdo para nutrientes e não nutrientes, podendo ser aceitas aquelas que descrevem o papel fisiológico do nutriente ou não nutriente no crescimento, desenvolvimento e funções normais do organismo, mediante demonstração de eficácia (BRASIL, 1999).

A adição de ingredientes naturais que possuem funções específicas ao organismo na dieta alimentar visa melhorar os mecanismos de defesa biológica, a prevenção ou terapia de alguma enfermidade ou disfunção, melhoria das condições físicas e mentais e do estado geral de saúde e retardo no processo de envelhecimento orgânico (BASHO; BIN, 2010).

O consumo e a comercialização de bolo no Brasil vêm crescendo, principalmente com a tendência de alimentos prontos para consumo ou as misturas para bolos. Nesse contexto, empresas de pequeno porte e indústrias de alta escala estão se beneficiando, cada vez mais com diversificações de bolos, sabores, texturas, recheios e de produtos semelhantes aos bolos, *cupcakes*, *brownies* e *muffins* (SIMON, 2014). A incorporação de ingredientes

funcionais a produtos de panificação tem crescido muito nas duas últimas décadas, em função da preocupação com a saúde dos consumidores (MACIEL et al., 2008).

OBJETIVO

O objetivo geral deste trabalho foi elaborar *brownies* funcionais com substituição do açúcar comum; determinar a composição nutricional das formulações; confeccionar as fichas técnicas de preparo; calcular o custo e realizar análise sensorial.

MÉTODOS

Elaboração das formulações

As formulações foram elaboradas no Laboratório de Técnica Dietética da Escola de Nutrição (ENUT) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), onde, partindo de uma receita padrão de *brownie* de chocolate foram elaboradas novas receitas substituindo o açúcar cristal (A1) por açúcar mascavo (A2), açúcar *light* (sacarina sódica e ciclamato de sódio - Magro® - A3) e edulcorante (ciclamato e sacarina sódica - Tal Qual® - A4) e adicionados ingredientes que pudessem tornar o *brownie* um alimento mais nutritivo, como a beterraba, a castanha, o cacau e a farinha de linhaça. A adição de ingredientes funcionais foi realizada a fim de melhorar o valor nutritivo dessa formulação.

Ao final dos experimentos, 4 formulações foram confeccionadas conforme apresentado na Tabela 1. Posteriormente, foram elaboradas fichas técnicas de preparo com peso, fatores de correção, modo e tempo de preparo, rendimento, etc.

Tabela 1. Ingredientes básicos dos *brownies* e suas respectivas quantidades

Ingredientes	Quantidades (%)			
	A1	A2	A3	A4
Farinha de trigo integral	15,37	15,63	18,31	18,60
Ovos	18,04	18,35	21,50	21,84
Chocolate 70% cacau	10,02	10,20	11,94	12,14
Beterraba	10,02	10,20	11,94	12,13
Óleo de canola	8,35	8,50	9,95	10,11
Farinha de linhaça	6,70	6,80	7,96	8,09
Cacau em pó (100%)	5,01	5,09	5,97	6,07
Castanha do pará	5,01	5,09	5,97	6,07
Raspas de limão	1,00	1,02	1,19	1,21
Essência de baunilha	0,42	0,42	0,50	0,50
Açúcar cristal	20,05	-	-	-
Açúcar mascavo	-	18,70	-	-
Açúcar *light*	-	-	4,77	-
Adoçante	-	-	-	3,24

*A1 (*brownie* com açúcar cristal), A2 (b*rownie* com açúcar mascavo), A3 (*brownie* com açúcar *light*), A4 (*brownie* com adoçante).

Composição Nutricional

Os *brownies* produzidos foram analisados quanto ao teor de energia, carboidrato, proteína, lipídio, colesterol, fibras, ácido graxo saturado, ácido graxo monoinsaturado, ácido graxo poliinsaturado, ácido graxo ômega 3, ácido graxo ômega 6, magnésio, ferro, sódio, potássio, zinco, retinol (vitamina A), tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), piridoxina (vitamina B6), niacina (vitamina B3) e vitamina C.

Para a determinação da composição nutricional, foram utilizados a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011), a Tabela de Composição Química de Alimentos (Franco, 2008), a Tabela de Composição de Alimentos (Philippi, 2016) e as informações nutricionais dos rótulos de alguns ingredientes.

Custo das preparações

Para a comparação de preços realizou-se uma pesquisa em supermercados, localizados no bairro Bauxita em Ouro Preto, Minas Gerais, com a finalidade de comparar o custo das formulações elaboradas.

Análise sensorial

A avaliação sensorial foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial da ENUT, contando com 113 provadores, dos quais, alunos, funcionários e professores da UFOP, sendo todos os procedimentos realizados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FUMEC/MG, sob o parecer nº 2.086.304 de 28/05/2017. Primeiramente, os provadores foram orientados quanto ao objetivo do estudo, seguido da leitura e preenchimento de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Após o preenchimento do TCLE, os provadores foram encaminhados a cabines individuais, onde foram orientados sobre como a degustação deveria ser feita e a forma correta de preenchimento da ficha de avaliação.

Foi realizado teste de aceitação e os atributos avaliados (aparência, sabor, consistência, cor e impressão global) foram julgados por meio de uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (1 = desgostei extremamente a 9 = gostei extremamente). Avaliou-se também a escala do ideal em relação à doçura e à consistência (-4 = extremamente menos doce/consistente que o ideal, +4 = extremamente mais doce/consistente que o ideal) e intenção de compra (1= Certamente não compraria a 5 = certamente compraria) das amostras de *brownie* (STONE; SIDEL, 1985).

Para a realização das análises, cada provador recebeu uma bandeja preta com 4 amostras de peso médio de 10 gramas cada, porcionadas em copinhos enumerados de forma

codificada, sendo que todas apareceram em número igual de vezes e em blocos aleatórios e um copo de água.

Análise dos resultados

Para avaliar os parâmetros sensoriais foi realizado teste de médias (*Tukey*), com 5% de significância em *software* Sisvar (Ferreira, 2014) e para correlacionar os parâmetros sensoriais fez-se também o mapa de preferência interno, obtido por PARAFAC em *software* Senso Maker versão 1.0 (NUNES; PINHEIRO, 2012).

RESULTADOS

Composição nutricional

Os *brownies* elaborados foram analisados quanto à composição de carboidratos, proteínas e lipídios e valor calórico total (VCT) (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição de macronutrientes e valor calórico em uma porção de 60 g das formulações Padrão, A1, A2, A3 e A4

*Amostras	Carboidrato (g)	Proteína (g)	Lipídio (g)	VCT (kcal)
Padrão	33,0	3,1	13,5	265,7
A1	25,7	5,4	9,4	245,6
A2	24,1	5,5	13,5	239,8
A3	17,8	6,4	16,2	243,0
A4	17,0	6,5	16,4	241,7

*A1 (*Brownie* com açúcar cristal), A2 (*Brownie* com açúcar mascavo), A3 (*Brownie* com açúcar *light*), A4 (*Brownie* com adoçante).

Houve uma redução percentual de carboidratos em todas as amostras quando comparada à amostra padrão que contém 33,0g de carboidratos (A1 = 22,1%/25,7g, A2 = 27%/24,1g, A3 = 46,1%/17,8g e A4 = 48,5%/17,0g). Já quando se compara a redução de carboidratos em relação a amostra A1, observa-se uma redução de 6,2% em A2, 30,7% em A3 e de 33,9% em A4.

Pode-se observar um aumento no percentual proteico das amostras quando comparadas à amostra padrão (A1 = 74,2%/5,4g, A2 = 77,4%/5,5g, A3 = 106,4%/6,4g e A4 = 109,7%/6,5g). Também há um aumento da porcentagem de proteínas nas amostras A2 (1,8%), A3 (18,5%) e A4 (20,4%) quando comparadas a A1. Observou-se uma redução de 30,4% de lipídios em A1 e aumento percentual de aproximadamente 20% em A3 e A4 quando comparadas à amostra padrão. Quando se compara os teores de lipídios das amostras em relação à A1, observa-se um aumento percentual no teor de lipídios em A2 (43,6%), A3 (72,3%) e A4 (74,5%).

Observou-se uma redução calórica em todas as amostras quando comparadas à amostra padrão (A1 = 7,5%, A2 = 9,7%, A3 = 8,5% e A4 = 9,0%). Da mesma forma, verificou-se uma maior redução do valor calórico de A2 (2,4%) e menores reduções em A3 (1,1%) e A4 (1,6%) quando comparadas à amostra A1.

Foram analisados o perfil lipídico da preparação a partir dos valores de colesterol, ácido graxo saturado, ácido graxo monoinsaturado, ácido graxo poliinsaturado, ácido graxo ômega 3 e ácido graxo ômega 6 (Tabela 3).

Tabela 3. Perfil lipídico das formulações em uma porção de 60 g

*Amostras	Colesterol (mg)	Saturado (g)	Monoinsaturado (g)	Poliinsaturado (g)	w-3 (g)	w-6 (g)
Padrão	33,9	4,5	3,4	3,4	0,2	3,1
A1	32,7	3,0	5,1	3,7	0,4	2,0
A2	32,8	3,0	5,1	3,7	0,4	2,0
A3	39,4	3,7	6,2	4,5	0,5	2,4
A4	39,9	3,7	6,3	4,5	0,5	2,4

*A1 (*Brownie* com açúcar cristal), A2 (*Brownie* com açúcar mascavo), A3 (*Brownie* com açúcar *light*), A4 (*Brownie* com adoçante).

Houve redução nos níveis de colesterol em A1 (3,5%) e A2 (3,2%), enquanto aumentou-se os percentuais em A3 (16,2%) e A4 (17,7%), quando comparadas à amostra padrão. Os aumentos nos níveis de colesterol foram observados também nas amostras A3 (20,5%) e A4 (22%) quando comparadas a A1.

Houve uma redução de ácidos graxos saturados nas amostras A1, A2 (ambas 33,3%), A3 e A4 (ambas 17,7%) quando comparados à amostra padrão. No entanto, quando comparados à amostra A1, a amostra A2 não apresentou alteração, porém apresentou aumento de 23,3% desses valores tanto em A3 quanto em A4.

Além disso, analisou-se o teor de fibras, magnésio, ferro, sódio, potássio e zinco (Tabela 4).

Tabela 4. Teor de fibras, magnésio, ferro, sódio, potássio e zinco das preparações em uma porção de 60g das preparações testadas A1, A2, A3 e A4

*Amostra	Fibras (g)	Magnésio (mg)	Ferro (mg)	Sódio (mg)	Potássio (mg)	Zinco (mg)
Padrão	1,1	16,0	0,4	126,5	52,4	0,3
A1	3,8	27,9	0,7	17,7	62,6	0,3
A2	3,8	37,9	1,7	20,9	127,7	0,3
A3	4,6	33,5	0,8	21,3	75,0	0,3
A4	4,6	33,8	0,8	21,6	75,9	0,3

*A1 (*Brownie* com açúcar cristal), A2 (*Brownie* com açúcar mascavo), A3 (*Brownie* com açúcar *light*), A4 (*Brownie* com adoçante).

Foi observado aumento no teor de fibras em A1, A2 (ambas 245,4%), A3 e A4 (318,1%) quando comparados à amostra padrão. Quando comparadas a A1, houve um aumento em A3 e A4 (ambas 4,6%) e não houve alteração em A2.

Os teores de magnésio, ferro e potássio aumentaram enquanto os teores de sódio reduziram quando se compara a amostra padrão às demais amostras, no entanto, observou-se um aumento nas porcentagens de magnésio, ferro, sódio e potássio da amostra A2 quando comparada a A1. Já o teor de zinco não se alterou em nenhuma das preparações.

O teor de sódio elevado nas preparações A3 (20,3%) e A4 (22%) foi observado. Por fim analisou-se o teor de vitaminas como o retinol (vitamina A), tiamina (vitamina B1), riboflavina (B2), piridoxina (B6), niacina (B3) e vitamina C (Tabela 5).

Tabela 5. Teor de retinol, tiamina, riboflavina, piridoxina, niacina e vitamina C das formulações em uma porção de 60g das amostras A1, A2, A3 e A4

*Amostra	Retinol (mcg)	Tiamina (mg)	Riboflavina (mg)	Piridoxina (mg)	Niacina (mg)	Vitamina C (mg)
Padrão	63,1	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0
A1	7,3	0,2	0,1	0,03	416,7	0,5
A2	7,3	0,2	0,1	0,04	418,2	0,5
A3	8,7	0,2	0,1	0,04	501,9	0,6
A4	8,8	0,2	0,1	0,05	508,0	0,6

*A1 (*Brownie* com açúcar cristal), A2 (*Brownie* com açúcar mascavo), A3 (*Brownie* com açúcar *light*), A4 (*Brownie* com adoçante).

Em relação às vitaminas, houve uma redução em A1 e A2 (ambas 88,4%) de retinol, bem como em A3 (86,2%) e A4 (86%), os valores de tiamina aumentaram 20% em todas as amostras, não houve alteração nos valores de riboflavina, aumentou-se 3% de piridoxina em A1, 4% em A2 e A3 e 5% em A4, os valores de niacina aumentaram e os valores de vitamina C apresentaram aumentos variando de 50 a 60% quando comparados à amostra padrão. Já, quando se compara os valores à amostra A1, o retinol, a piridoxina, a niacina e a vitamina C apresentaram aumentos que variaram de 19,0 a 33,5% com exceção do teor de piridoxina em A4 que apresentou aumento de 66,37% em relação à amostra A1. Já os valores de tiamina e riboflavina não sofreram alterações.

Custos das preparações

Os valores referentes ao cálculo de custo das preparações estão demonstrados na Tabela 6, sendo considerados uma porção de 60g de *brownies*.

Tabela 6: Comparação dos custos total e de uma porção de 60g dos *brownies*

*Amostra	Rendimento (g)	Custo (R$)	
		Porção (60g)	Total
Padrão	2.844	R$2,62	R$56,86
A1	1.590	R$1,74	R$46,01
A2	1.584	R$1,87	R$49,43
A3	1.320	R$2,12	R$46,43
A4	1.304	R$2,37	R$51,42

*A1 (*Brownie* com açúcar cristal), A2 (*Brownie* com açúcar mascavo), A3 (*Brownie* com açúcar *light*), A4 (*Brownie* com adoçante).

Ao se comparar os custos das 4 formulações testadas à amostra padrão, verificou-se maior custo da padrão em relação às demais. Já quando se comparou as amostras à A1, a que obteve maior custo foi a A4, onde o açúcar foi substituído pelo adoçante artificial Tal & Qual®.

Análise Sensorial

No atributo aparência, a amostra A1 situou-se entre os termos hedônicos 7 e 8, "gostei moderadamente" e "gostei muito", sendo a melhor classificada entre todas as formulações (Tabela 7). Não houve diferença estatística entre as amostras A2 e A3. A amostra A4 apresentou média entre 6 e 7, os termos hedônicos situaram-se entre "gostei ligeiramente" e "gostei moderadamente".

Tabela 7. Avaliação sensorial dos atributos aparência, sabor, consistência, cor e impressão global das amostras de *brownie* A1, A2, A3 e A4

*Amostra	Aparência	Sabor	Consistência	Cor	Impressão global
A1	7,71^{a}	7,00^{a}	7,47^{a}	7,93^{a}	7,42^{a}
A2	7,33^{b}	6,91^{a}	7,19^{a}	7,73^{ab}	7,30^{a}
A3	7,08^{b}	6,19^{b}	6,20^{b}	7,63^{ab}	6,51^{b}
A4	6,66^{c}	5,93^{b}	6,18^{b}	7,47^{b}	6,35^{b}

*A1 (*Brownie* com açúcar cristal), A2 (*Brownie* com açúcar mascavo), A3 (*Brownie* com açúcar *light*), A4 (*Brownie* com adoçante).

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras diferentes indicam diferença estatística.

Em relação aos atributos sabor, consistência e impressão global, as amostras A1 e A2, não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$), e obtiveram melhor aceitação entre os provadores, pois as médias situaram-se entre os termos hedônicos "gostei moderadamente" e "gostei muito" para os aspectos avaliados. Já as amostras A3 e A4 ficaram próximos da média 6, ou seja, os provadores gostaram ligeiramente do sabor dessas preparações, no entanto, a amostra A4, em relação ao quesito sabor ficou entre as médias 5 (indiferente) e 6.

Já em relação ao atributo cor, a amostra A1 se diferiu estatisticamente apenas da amostra A4, não havendo diferença para as outras amostras. Entretanto, todas as preparações

apresentaram entre os termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei muito”. De modo geral, todas as preparações foram bem aceitas pelos provadores, apesar das amostras A3 e A4 apresentarem menores médias de pontuação em relação às amostras A1 e A2, todas situaram-se entre os termos hedônicos “indiferente” e “gostei muito”.

Foi avaliado também o que os provadores definiam o que seria o ideal de doçura e o ideal de consistência para os *brownies* avaliados e os resultados obtidos encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8: Avaliação das características ideais dos *brownies* A1, A2, A3 e A4

*Amostra	Ideal doçura	Ideal consistência
A1	-0,04^{a}	0,29^{ab}
A2	-0,17^{ab}	0,30^{a}
A3	-0,76^{c}	-0,12^{b}
A4	-0,52^{bc}	0,06^{ab}

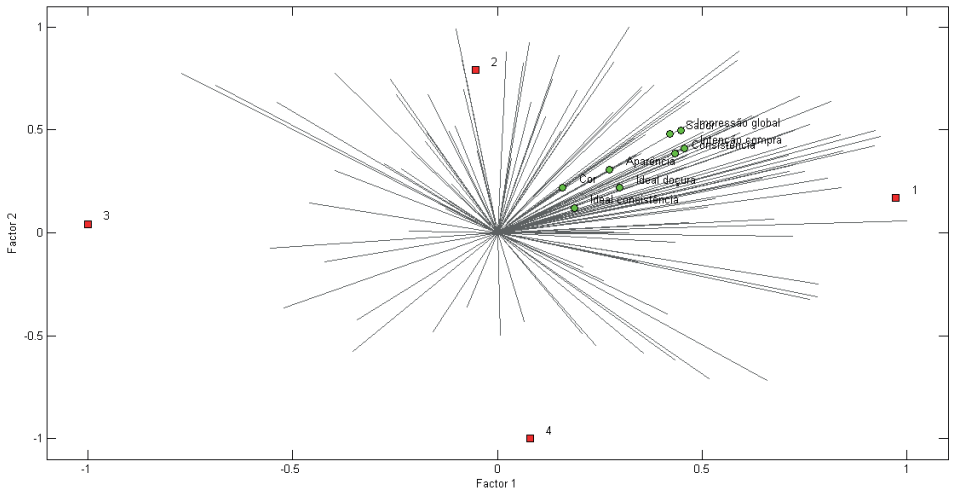
*A1 (*Brownie* com açúcar cristal), A2 (*Brownie* com açúcar mascavo), A3 (*Brownie* com açúcar *light*), A4 (*Brownie* com adoçante).

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De modo geral, todas as amostras apresentaram-se na faixa de ligeiramente menos doce que o ideal (<0), no entanto, a amostra A1 apresentou-se mais próxima do ideal (0). Tendo a amostra A1 como padrão, observou-se que a amostra A2 obteve o mesmo ideal de doçura e consistência, enquanto A3 e A4 foram classificadas como menos doce que o ideal e com o mesmo ideal de consistência que A1.

Foi realizada uma análise de fatores paralelos (PARAFAC) e a partir dessa análise foi gerado um mapa de preferência interno multidimensional, o qual mostra uma análise simultânea das interações entre a aceitação dos consumidores (Figura 1).

Figura 1. Mapa de preferência interno de três vias (PARAFAC) das diferentes formulações de brownies



*1 (*Brownie* com açúcar cristal), 2 (*Brownie* com açúcar mascavo), 3 (*Brownie* com açúcar *light*), 4 (*Brownie* com adoçante).

As formulações que tiveram menor aceitação pelos provadores foram A3 e A4 (Figura 1), as quais apresentaram menor aceitação em relação aos atributos sabor, aparência, consistência e impressão global, observadas nos testes de médias (Tabela 7).

A2 obteve aceitação semelhante à A1 que foram as melhores avaliadas dentre as amostras analisadas. Para ambas as preparações, todos os atributos avaliados obtiveram as médias mais elevadas, justificando sua melhor aceitação.

Em relação à intenção de compra (Tabela 9), as médias de avaliação em todas as amostras ficaram entre "não sei se compraria" e "provavelmente compraria" sendo que, A1 e A2 se aproximaram mais de "provavelmente compraria" devido a sua maior aceitação em relação aos atributos avaliados nas Tabelas 7 e 8. As amostras A3 e A4 ficaram mais próximas de "não sei se compraria", tal resultado sendo justificado pela sua menor aceitação.

Tabela 9: Avaliação da intenção de compra dos *brownies* A1, A2, A3 e A4

*Amostra	Intenção de compra
A1	3,75[a]
A2	3,73[a]
A3	3,14[b]
A4	3,04[b]

*A1 (*Brownie* com açúcar cristal), A2 (*Brownie* com açúcar mascavo), A3 (*Brownie* com açúcar *light*), A4 (*Brownie* com adoçante).

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

DISCUSSÃO

O maior consumo de alimentos fonte de carboidratos simples e lipídios, associada ao consumo insuficiente de frutas e hortaliças e o sedentarismo, reflete, primeiramente, o processo de transição nutricional pelo qual passa a população de países desenvolvidos e em desenvolvimento, além disso, traz como consequência o aumento da prevalência de excesso de peso, das Doenças Cardiovasculares (DCV) e de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT), ou seja, uma dieta inadequada tem como consequência efeitos deletérios à saúde do indivíduo.

Apesar da baixa redução calórica da formulação com açúcar mascavo (A2) em relação a com açúcar cristal (A1), esta amostra apresenta uma melhor qualidade nutricional, já que o açúcar mascavo possui teores maiores de ferro, magnésio, potássio, manganês, fósforo e cálcio em relação aos valores encontrados na mesma quantidade (100 g) de açúcar cristal (TACO, 2011). No entanto, apesar do benefício relacionado ao ganho quanto a vitaminas e minerais, o que interfere na glicemia são as calorias e os carboidratos, desse modo os

diabéticos devem seguir as mesmas instruções quanto ao consumo do açúcar comum ao consumir o açúcar mascavo, e consumi-lo moderadamente (OLIMPIO, 2014).

Durante as últimas décadas, as recomendações nutricionais alertaram para uma diminuição do consumo de ácidos graxos saturados (AGS), pois sua ação no organismo tende a elevar tanto a LDL como a HDL e aumentam o nível de colesterol sanguíneo porque reduzem a atividade do receptor LDL-colesterol e o espaço livre de LDL na corrente sanguínea, o que culmina ao aumento do risco de doença cardiovascular (NOVELLO; FRANCSCHINI; QUINTILIANO, 2010; SANTOS et al., 2013).

O efeito dos ácidos graxos é comparado com outros nutrientes, como por exemplo, os carboidratos. No entanto, a substituição de AGS por carboidratos pode gerar efeitos controversos, pois depende do tipo de carboidrato, por exemplo, os carboidratos simples, refinados podem ocasionar efeitos neutros ou piores que os AGS, sendo esses, diminuição do colesterol total, LDL-c e HDL-c, aumento dos triglicerídeos, aumento da incidência de obesidade, diabetes, doença cardíaca e risco para síndrome metabólica. A troca de AGS por ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) resulta na diminuição do LDL-c, mas também pode acarretar em diminuição do HDL-c, sendo assim, a melhor escolha é trocar os AGS por ácidos graxos poli-insaturados (PUFA), pois pode ocasionar diminuição do LDL-c, aumento da razão HDL/LDL, diminuição da razão colesterol total/HDL, redução do risco de DCV e doença cardíaca isquêmica, no entanto, também pode levar a diminuição do HDL-c (SANTOS et al., 2013).

Segundo a I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular, a recomendação de ingestão de AGS por um indivíduo varia de 7 a 10% do valor calórico total (VCT), por exemplo, para um indivíduo que consome 2000 kcal/dia, a recomendação de ingestão de AGS por essa pessoa varia de 16 g a 22 g/dia, sendo que valores superiores podem representar riscos à saúde (SANTOS et al., 2013).

Quanto ao teor de MUFA, a amostra A2 não apresentou diferença em relação a A1, entretanto, a amostra A3 aumentou em 21,6% e A4, 23,5%. Já em relação aos PUFA houve um aumento dos seus valores de 21,6% tanto em A3 quanto em A4. Os MUFA e PUFA apresentam um potencial de produzir significantes e benéficas mudanças do perfil lipoproteico, particularmente em indivíduos que tem hipercolesterolemia, além de reduzirem agregações de plaquetas e os triglicerídeos e, consequentemente, o risco de doenças cardíacas (NOVELLO, FRANCESCHINI, QUINTILIANO, 2010).

Estudos demonstram que dietas contendo MUFA em substituição aos PUFA tornam a LDL menos suscetível à oxidação, o que pode resultar em inibição do processo aterogênico, já que é amplamente aceito que a molécula de LDL oxidada tem relevante papel na inflamação vascular, na disfunção do endotélio e na formação das células espumosas na parede intimal. Existem também evidências fisiopatológicas de um efeito positivo dos MUFA sobre

diversos mecanismos envolvidos na etiopatogenia do diabetes tipo 2, onde intervenções de curto prazo, com substituição de PUFA por MUFA, ou o simples aumento do consumo de MUFA, pode levar a melhoras na resistência à insulina e redução do *clearence* de insulina. O consumo de MUFA de fontes vegetais também pode diminuir discretamente a pressão arterial e possivelmente desempenham papel relevante na prevenção da pressão arterial (SANTOS et al., 2013). Sendo assim, pode-se dizer que existe um conjunto de evidências a favor dos benefícios dos MUFA para um melhor controle dos fatores de risco tradicionais para a doença cardiovascular aterosclerótica, principalmente quando se substitui os AGS por MUFA (SANTOS et al., 2013).

Dentre os poliinsaturados, foram avaliados os teores de ácidos graxos ω-3 e ω-6, que possuem vários efeitos sobre a resposta imune e inflamatória, sendo que os ω-3 possuem efeitos supressores, como inibição da proliferação de linfócitos, produção de anticorpos e citocinas, expressão de moléculas de adesão e ativação das células *Natural Killers* (NK). No entanto, os ω-6 possuem ambos os efeitos, tanto inibitório, quanto estimulatório da resposta imune (PERINI et al., 2010). O teor de ácido graxo ω-3 aumentou em 25% tanto em A3 quanto em A4, assim como o valor de ω-6 também não apresentou alteração em A2 e aumento de 20% tanto em A3 quanto em A4. Um balanço adequado de ω-3 e ω-6 na dieta é essencial no metabolismo do organismo humano, uma vez que são metabolicamente e fisiologicamente diferentes e apresentam funções fisiológicas opostas, podendo levar a prevenção de doenças cardiovasculares e crônicas degenerativas e também a uma melhor saúde mental (NOVELLO; FRANCESCHINI; QUINTILIANO, 2010; PERINI et al., 2010).

De acordo com Novello; Franceschini e Quintiliano (2010), o consumo de ácidos graxos deve obedecer a relação de 5:1 de ω-6:ω-3, deste modo, as preparações apresentaram esses valores dentro dos limites recomendados, sendo consideradas boas fontes de ácidos graxos poliinsaturados.

Deste modo, ao analisar o perfil lipídico, apesar das formulações ter alto teor de lipídios, há um maior teor de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados em relação aos ácidos graxos saturados e ao colesterol, o que mostra que a qualidade lipídica das preparações é melhor, uma vez que os ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados são mais indicados para consumo por serem benéficos à saúde dos indivíduos.

Quanto a análise sensorial, a aparência de A4 pode ter sido menor pontuada devido ao fato da substituição por adoçantes afetarem negativamente a gelatinização do amido, restringindo a expansão da massa e afetando sua textura, alterando assim, a aparência e a consistência do produto (BARBOSA; SILVA, 2015).

A menor pontuação da amostra produzida com adoçante pode ter ocorrido pelo fato de os edulcorantes artificiais ciclamato e sacarina sódica apresentarem sabor residual alterando o paladar e diminuindo a aceitação do produto pelos provadores, esse resultado

foi observado por Mendes (2015), que ao analisar bolos com substituição e/ou diminuição de açúcar, as amostras com menor aceitação foram as preparadas com 100% açúcar *light* e 100% adoçante.

Os adoçantes possuem um relevante papel na alimentação, principalmente para pessoas com Diabetes Mellitus (DM), uma vez que adoçam alimentos com pouca ou nenhuma caloria, podendo contribuir para o controle metabólico do DM e também para o controle de ganho de peso em indivíduos com sobrepeso e obesidade, o que melhora a qualidade de vida dos pacientes. Sendo assim, a amostra A4 é mais indicada para pacientes que possuem DM, no entanto, devido às grandes quantidades de sódio presentes no açúcar *light* e no adoçante, estes não são indicados para pacientes com hipertensão arterial (OLIVEIRA et al., 2010).

Quanto ao ideal de doçura, os resultados do presente trabalho foram encontrados por Buainain (2014), que ao realizar análise sensorial de bolo de baunilha, obteve menor aceitação em relação ao ideal de doçura das amostras que utilizaram adoçante devido ao fato da presença de gosto amargo residual que estes ingredientes causam.

A maior aceitação de A2 pelos provadores foi contrária à observada por Fonteles et al. (2010), que ao estudarem a possibilidade de uso de adoçantes alternativos em café, as bebidas adoçadas com açúcar mascavo não obtiveram grande aceitação quando comparadas com açúcar refinado convencional e açúcar refinado orgânico, provavelmente devido ao sabor semelhante ao da rapadura, que confere a esse açúcar um sabor próprio, que pode alterar o gosto dos alimentos e consequentemente, reduzir a aceitabilidade pelos consumidores.

Sendo assim, de modo geral, as formulações mais aceitas foram as A1 e A2 em relação a todos os atributos avaliados (aparência, sabor, consistência, cor, impressão global, ideal de doçura, ideal de consistência e intenção de compra).

CONCLUSÃO

No estudo realizado, verificou-se a possibilidade de desenvolver *brownies* funcionais de baixo custo e com um valor nutricional agregado devido à adição de ingredientes considerados funcionais como a farinha de linhaça e o cacau; hortaliças e frutas como a beterraba e o limão; além da substituição de margarina ou manteiga por óleo de canola que contém maior teor de ácidos graxos poliinsaturados, tipos de gorduras mais recomendadas para a alimentação humana e ainda manter uma boa aceitação sensorial quando comparados à *brownies* tradicionais normalmente consumidos pela população.

Os *brownies* elaborados apresentaram alta concentração de ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados, além de uma proporção adequada de ômega 6 e ômega 3 de acordo com a recomendação da Sociedade Brasileira de Cardiologia, mostrando a presença de gorduras de melhor qualidade, consideradas mais saudáveis para o consumo. Além disso,

as preparações foram consideradas fonte de fibras, sendo assim, boas opções de lanches considerados saudáveis para serem substituídos por produtos industrializados e ricos em gorduras saturadas, colesterol e gorduras *trans* que são nocivas à saúde.

No entanto, na análise sensorial as amostras com açúcar cristal e açúcar mascavo obtiveram a melhor aceitação uma vez que os produtos elaborados com edulcorantes costumam deixar sabor residual, contribuindo com a menor aceitação pelos provadores, como foi constatado neste trabalho pela menor aceitação das amostras com açúcar *light* e adoçante.

REFERÊNCIAS

1. BARBOSA, A. V. O.; DA SILVA, C. E. M. Comparação entre os efeitos do uso de diferentes adoçantes artificiais como substituto parcial do açúcar sobre o processo de gelatinização do amido em bolos tipo esponja. **Blucher Chemical Engineering Proceedings,** 1(2), 3285-3292, 2015.

2. BASHO, Sirley Massako; BIN, Márcia Crestani. Propriedades dos alimentos funcionais e seu papel na prevenção e controle da hipertensão e diabetes. **Interbio**, v. 4, n. 1, p. 48-58, 2010.

3. BUAINAIN, ANA PAULA MUNIS. Impacto do uso de edulcorantes na formulação de bolos sabor baunilha: perfil descritivo e estudo de consumidor (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2014.

4. BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Portaria n.27, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o regulamento técnico referente a informação nutricional complementar. **Ministério da Saúde,** 1998. http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1998/prt0027_13_01_1998.html

5. BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução n.18, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Anvisa**, 1999. http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/1999/prt0398_30_04_1999.html

6. FERREIRA, Daniel Furtado. Sisvar: A Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciênc. Agrotec**. [Online]. 2014, v.38, n.2 [citado 2015-10-17], p. 109-112. Disponivel em: ISSN 1413-7054. http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001

7. FONTELES, T. V., FAHEINA JÚNIOR, G. S., OLIVEIRA, S. L. R.; RODRIGUES, M. C. P. Avaliação do uso de adoçantes alternativos na aceitabilidade da bebida de café. **Alimentos e Nutrição**, 21(3), p. 391-398, 2010.

8. FRANCO, Guilherme. **Tabela de Composição Química dos Alimentos.** 9ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

9. FRANCO, Roberta Calhes. **Análise comparativa de legislações referentes aos alimentos funcionais**. Dissertação de mestrado. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2006.

10. GUTKOSKI, Luiz Carlos et al. Desenvolvimento de barras de cereais à base de aveia com alto teor de fibra alimentar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p.355-363, 2007. http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000200025

11. MACIEL, Leda Maria Braga; PONTES, Dorasilvia Ferreira; RODRIGUES, Maria do Carmo Passos. Efeito da adição de farinha de linhaça no processamento de biscoito tipo cracker. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 19, n. 4, p. 385-392, 2009.

12. MENDES, Elaine Cristina. Formulação de bolos com redução e/ou substituição do açúcar. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, 2015.

13. NOVELLO, Daiana; FRANCESCHINI, Priscilla; QUINTILIANO, Daiana Aparecida. A importância dos ácidos graxos ω-3 e ω-6 para a prevenção de doenças e na saúde humana. **Revista Salus**, v. 2, n. 1, 2010. https://revistas.unicentro.br/index.php/salus/article/view/694

14. NUNES, C. A.; PINHEIRO, A. C. M. ***Software SensoMarker.*** Version 1.8. Lavras: UFLA. 2012.

15. OLIMPIO, José Adauto. **O açúcar do Brasil**. 2014.

16. OLIVEIRA, Paula Barbosa de et al. Consumo de adoçantes e produtos dietéticos por indivíduos com diabetes melito tipo 2, atendidos pelo Sistema Único de Saúde em Ribeirão Preto, SP. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 54, n. 5, p. 455-462, 2010. https://doi.org/10.1590/S0004-27302010000500005

17. PERINI, João Ângelo De Lima et al. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Rev. Nutr**, v. 23, n. 6, p. 1075-1086, 2010. https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000600013

18. PHILIPPI, Sonia Tucunduva. **Tabela de Composição de Alimentos: suporte para decisão nutricional.** 5ª ed. Barueri, São Paulo: Manole, 2016.

19. PROENÇA, Rossana Pacheco da Costa. Alimentação e globalização: algumas reflexões. **Ciência e Cultura**, v. 62, n. 4, p. 43-47, 2010. http://cienciaecultura.bvs.br/pdf/cic/v62n4/a14v62n4.pdf

20. SANTOS, R.D., GAGLIARDI, A.C.M., XAVIER, H.T., MAGNONI, C.D., CASSANI, R., LOTTENBERG, A.M. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. **Arq. Bras. Cardiol**.; 100 (1Supl.3), p. 1-40, 2013. http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2013/Diretriz_Gordura.asp

21. SIMON, Aline. Elaboração de *brownie* de chocolate sem glúten com a utilização de farinha de arroz e trigo sarraceno. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2014.

22. STONE, H.; SIDEL, J. L. (1985). **Sensory Evaluation Practices.** Orlando: Academic Press, p. 311.

23. TACO, **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.** NEPA-UNICAMP. 2011. http://www.nepa.unicamp.br/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?arquivo=taco_4_versao_ampliada_e_revisada.pdf

11

Determinação da qualidade de cachaças da região do norte de Minas Gerais

- Felipe Cimino **Duarte**
  IFNMG/SALINAS
- Roberta Magalhães Dias **Cardozo**
  IFNMG/SALINAS
- Henrique Ângelo de **Melo**
  IFNMG/SALINAS
- Ernando Gonçalves do **Egito**
  IFNMG/SALINAS
- Félix Moreira **Ribeiro**
  IFNMG/SALINAS
- Leonardo Lima da **Paixão**
  IFNMG/SALINAS
- Andressa Alves **Nascimento**
  IFNMG/SALINAS
- Richard Bispo **Barbosa**
  UFLA/LAVRAS
- Maria das Graças **Cardoso**
  UFLA/LAVRAS

doi 10.37885/201102194

RESUMO

A Região de Salinas possui estabelecimentos produtores de cachaça credenciados e um grande quantitativo produzido informalmente. No entanto, o aumento da produção e do consumo têm estimulado a pesquisa na qualidade da bebida. No referido setor, é a produção dos pequenos alambiques de cobre que é a mais procurada, pelo sabor e pela forma como é produzida. Diante do mencionado, o presente trabalho teve como objetivo realizar visitas *in loco,* coletando informações por meio de questionários, do tipo lista de verificação e amostras para realização das análises laboratoriais de 32 alambiques. Pôde-se observar que os participantes são produtores informais e verificou-se os aspectos relacionados ao desenvolvimento do local, analisando as características físico-químicas da bebida e correlacionando com fatores associados às Boas Práticas de Fabricação (BPF's). Nas amostras coletadas realizaram-se análises da graduação alcoólica, cobre, aldeído, acidez volátil, extrato seco e cromatografia dos voláteis, seguindo os parâmetros descritos pela legislação. Foi diagnosticado, a partir do questionário aplicado, que os alambiques produzem juntos, 2.519.600 litros de cachaça por ano, sendo que a maioria não tem suporte técnico, nenhum possui registro legal e o produto possui valor comercial da bebida muito baixo. Os resultados físico-químicos obtidos foram satisfatórios quanto aos padrões exigidos pela legislação. Sendo encontrados valores acima do permitido, para o composto cobre e acidez volátil. Em contrapartida, todas as amostras apresentaram valores de aldeído dentro do padrão exigido. Este estudo poderá contribuir para desenvolvimento de ações relacionado a questões socioeconômicas, processo produtivo e mercado de cachaça artesanal no município.

Palavras-chave: Controle de Qualidade, BPF´s, Análises Físico-Químicas e Voláteis.

INTRODUÇÃO

No país cerca de 10 % dos municípios apresentam cachaças registradas. Sendo a região sudeste a representante de 70% desses registros. Considerando-se o ano de 2019, os produtores de cachaça totalizaram 894 (oitocentos e noventa e quatro) e deles 375 são no Estado de Minas Gerais, que ocupa a primeira posição, sendo que o número de produtores registrados é quase o triplo do segundo colocado, São Paulo. A Região de Salinas apresenta 21 estabelecimentos com 125 marcas e 105 registros no Mapa (BRASIL, 2020).

De acordo com os dados do censo agropecuário de 2006, a microrregião de Salinas possui 861 estabelecimentos rurais de produção de cachaça, abrangendo 17 municípios. Dentre os municípios, a cidade de Rio Pardo de Minas possui maior concentração de estabelecimentos, com cerca de 266. A produção média de cachaça por estabelecimento do município é de 5,3 mil litros por ano, alcançando à média de Minas Gerais que é de 5,7 mil litros por ano (JESUS, ORTEGA E PEROSA, 2016).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE (2016), a cidade de Rio Pardo de Minas teve a origem de sua povoação na época da mineração de ouro e diamantes praticada pelos portugueses, nas serras do distrito de Serra Nova. Segundo dados da pesquisa, o município de Rio Pardo de Minas é uma importante produtora de cachaça artesanal da região, porém sua produção ainda é toda clandestina. Informações referentes ao setor de cachaça desta região são pouco encontradas, assim, é de grande importância para o desenvolvimento da cadeia produtiva da bebida a geração de conhecimentos e informações mais recentes.

O aumento da produção e o consumo de cachaça têm estimulado a pesquisa na qualidade da bebida. A cachaça de alambique, produzida em pequena quantidade em alambique de cobre, tem grande procura, pelo sabor e pela forma como é produzida (DUARTE, et al 2014).

A cachaça é composta predominantemente por água e etanol e diversos compostos estão presentes em menores quantidades, podendo ser chamados de contaminantes e congêneres, que são formados durante os processos de fermentação e destilação, tendo importante papel nas características sensoriais da bebida (VIANA, 2016).

Segundo Viana (2016), as características físico-químicas e a presença de compostos indesejáveis devem ser acompanhadas e controladas durante a produção da cachaça, em busca de uma melhor qualidade da mesma, pois nas etapas de produção da bebida há formação de diversos compostos secundários. Esses compostos mudam de aspectos conforme as etapas de produção, os mesmos podem reagir entre si e com componentes externos, como o cobre do destilador. No quesito qualidade sensorial esses compostos podem definir se a cachaça é boa ou ruim, mas também determina se é ou não tóxico ao organismo humano. Por isso é tão importante fazer o monitoramento da qualidade físico-química da

bebida, assim produtos que não estão de acordo com a legislação podem ser identificados e medidas de adequação efetuadas. Dessa maneira, empresas passarão a se empenhar para ofertar seus produtos com maior qualidade, assim conquistando consumidores que irão ter a sua saúde preservada.

OBJETIVO

Analisar o perfil das cachaças produzidas na região de Rio Pardo de Minas-MG e verificar aspectos relacionados ao desenvolvimento do local, tendo em vista a compreensão de fatores e problemas relacionados a boas práticas de fabricação (BPFs) que foram correlacionados com análises físico-químicas das amostras coletadas de cachaças branca, envelhecidas e/ou curtidas em quaisquer outros tipos de ervas, cascas ou raízes.

MÉTODOS

Ao visitar os alambiques para coletar as amostras de cachaças foi realizado a aplicação de um questionário onde os produtores foram convidados a participar da pesquisa de acordo com as condições apresentadas pelo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), para o levantamento de dados que abrangeu desde a colheita de matéria prima, produção até a comercialização da cachaça, problemas relacionados a recursos naturais, financeiro e sociais.

As análises físico-químicas de graduação alcoólica, cobre, aldeídos, acidez volátil, álcoois superiores e extrato seco foram realizadas no laboratório de Análise Físico Químicas de Aguardentes do IFNMG – campus Salinas, sendo verificadas 32 amostras de cachaças alambique coletadas no município supracitado, empregando a metodologia descrita pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), para “Análises de Bebidas e Vinagres” (BRASIL, 2005). Para a condução das análises realizou-se em duplicatas. Sendo descritas as metodologias utilizadas sucintamente: para análise de grau alcoólico aferiu-se a concentração de álcool etílico presente na bebida por via de medição como um densímetro eletrônico de leitura direta. Para acidez volátil foi determinada a partir da extração por arraste de vapor de ácidos voláteis no destilador eletrônico Enochimico Gibertini. Em seguida, os vapores ácidos foram condensados e coletados em erlenmeyer, sendo titulados com hidróxido de sódio 0,1 mol L^{-1}. Para análise dos aldeídos totais foram empregadas algumas reações químicas de complexação e após isso foi realizada a sua titulação e os valores foram calculados. O extrato seco foi efetuado por método gravimétrico e por fim foi efetuado o cálculo da diferença de peso. A análise de cobre foi realizado com auxílio de uma elaboração de

uma curva padrão, e preparo prévio das amostras, e após a interação das reações químicas foram realizadas as leituras em um espectrofotômetro no comprimento de onda de 546 nm.

Para as análises de cromatografia foi utilizado um cromatógrafo gasoso Shimadzu (GC2010), autoamostrador AOC-20i, detector de ionização de chama e coluna DB-WAX (30 mm x 0,25 mm x 0,25 μm), seguindo a metodologia proposta por Vilela et al. (2007), com modificações. Para essa análise foram utilizados os padrões álcoois isoamílico, amílico, sec-butílico, butílico, metílico e propílico, todos da marca Merck e de grau analítico para cromatografia. A curva analítica, foi preparada a partir de uma solução com concentração de 4 gL-1 em etanol 40%.

Durante análise a temperatura da coluna foi de 55°C, o injetor com temperatura de 150°C e o detector 170°C. Durante a análise o fluxo foi de 1,4 mL por minuto com Split 1:10.

RESULTADOS

Diagnóstico da produção de cachaça

Verificado o conjunto estrutural e aspectos socioeconômicos da fabricação de cachaça na região de Rio Pardo de Minas-MG, foi possível dimensionar sua produção, bem como as dificuldades para elaboração e comercialização da bebida. Cada figura abaixo aborda os pontos que foram analisados.

Figura 1. Capacidade de produção

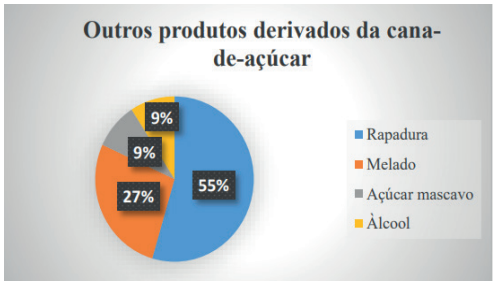


Figura 2. Outros derivados da cana-de-cachaça em litros pelos produtores.

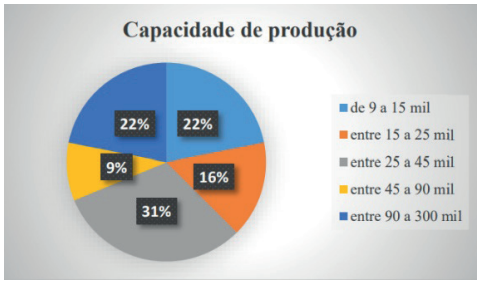


Figura 3. Principais dificuldades enfrentadas durante a produção.

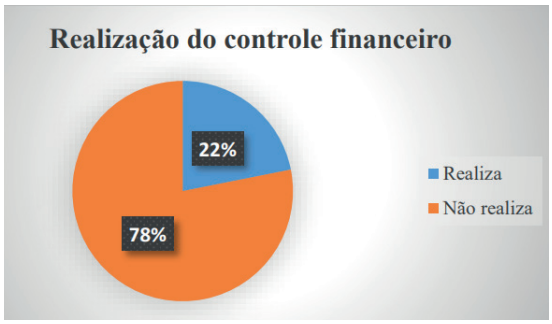


Figura 4. Porcentagem de produtores que enfrentadas durante a produção.

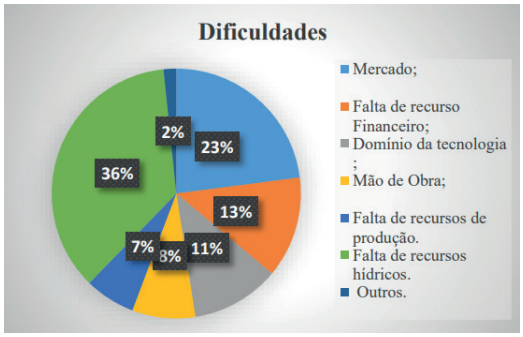
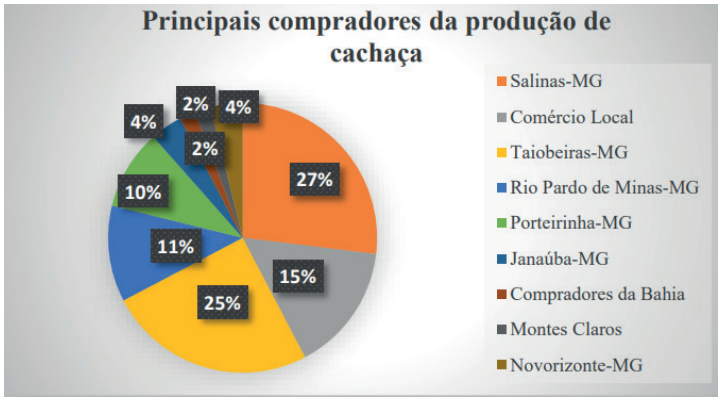


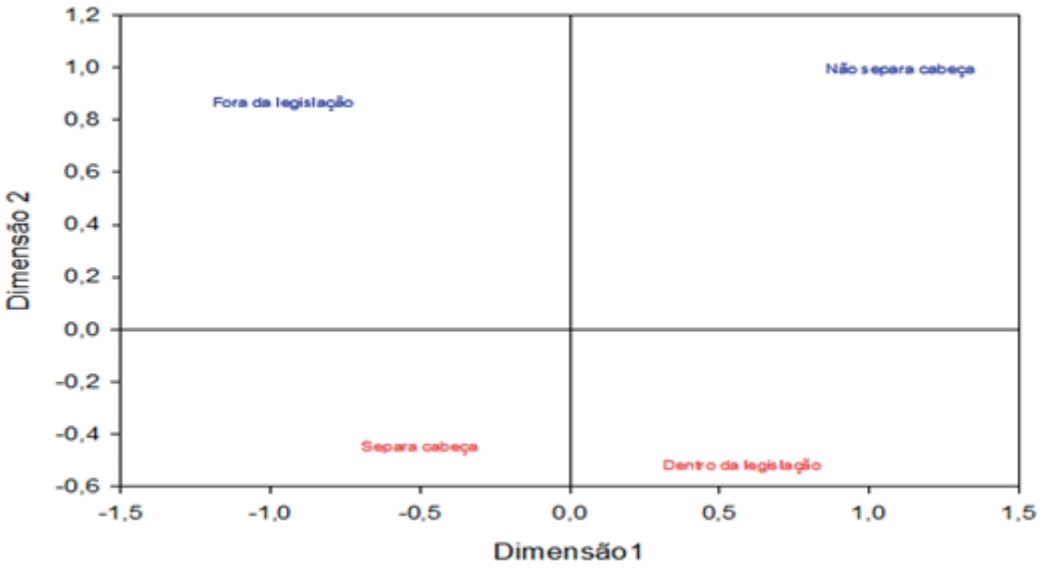
Figura 5. Principais consumidores da cachaça produzida.



Correlação entre BPF's e índice de cobre

O gráfico da Figura 1 foi elaborado com os componentes principais e permitiu a visualização entre os agrupados, assim a proximidade dos pontos referentes. Dessa forma, em relação ao cobre, avaliou-se os parâmetros separação ou não separação da cabeça com conformidade ou não com a legislação, e verificou-se ligação entre os dados.

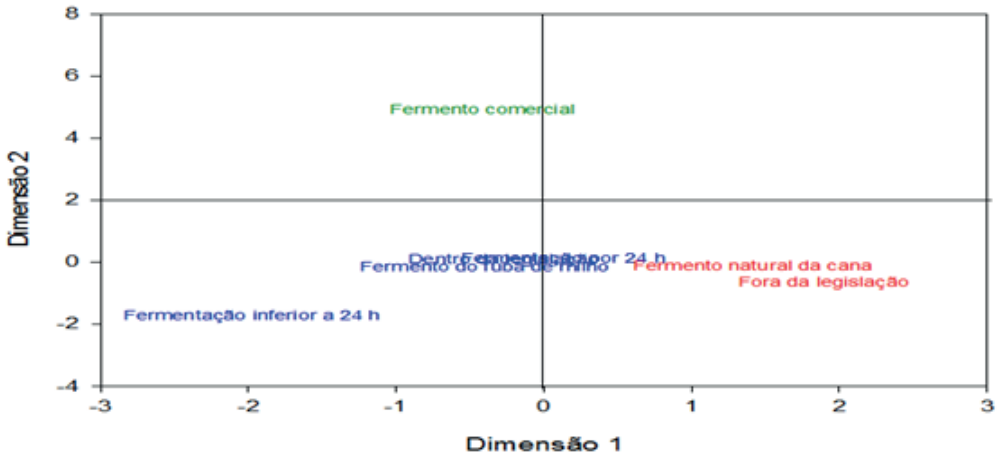
Figura 6. Correlação entre BPF's e índice de cobre.



Correlação entre BPF's e índice de acidez

Os índices de acidez apresentados na Figura-7 foram avaliados e julgados "fora" ou "dentro" da legislação, correlacionados a BPF's, sendo avaliadas a filtração do caldo e o tempo de fermentação.

Figura 7. Correlação entre BPF's e índice de acidez



Análises físico-químicas e cromatográficas

Os resultados das análises físico-químicas das amostras estão demonstrados nas Figuras de 8 a 12 dos analitos da acidez volátil, aldeídos, grau alcoólico, cobre, e extrato seco. As figuras de 13 a 16 apresentam os resultados da análise de cromatografia gasosa para os voláteis butan-1-ol, butan-2-ol, metanol e álcoois superiores (os álcoois isobutílico, isoamílico e propílico).

Figura 8. Leituras das análises de acidez volátil das amostras de cachaças.

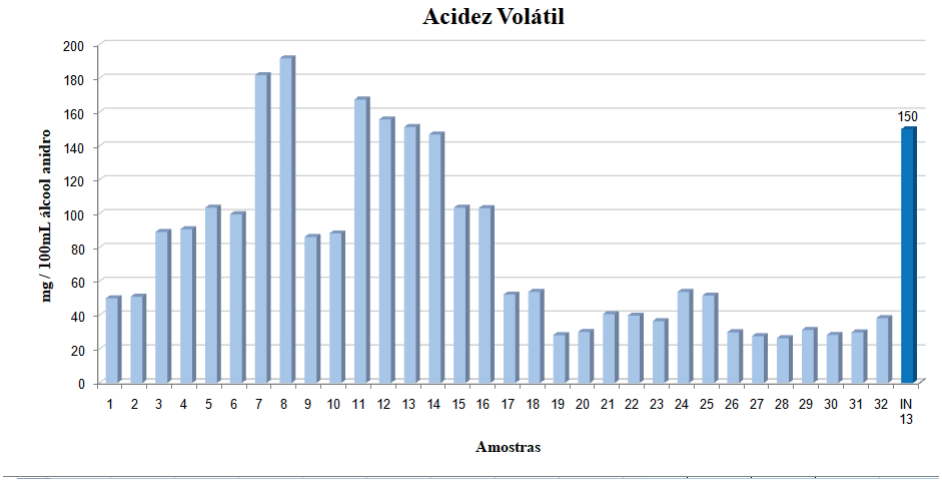


Figura 9. Leituras das análises de aldeídos das amostras de cachaças.

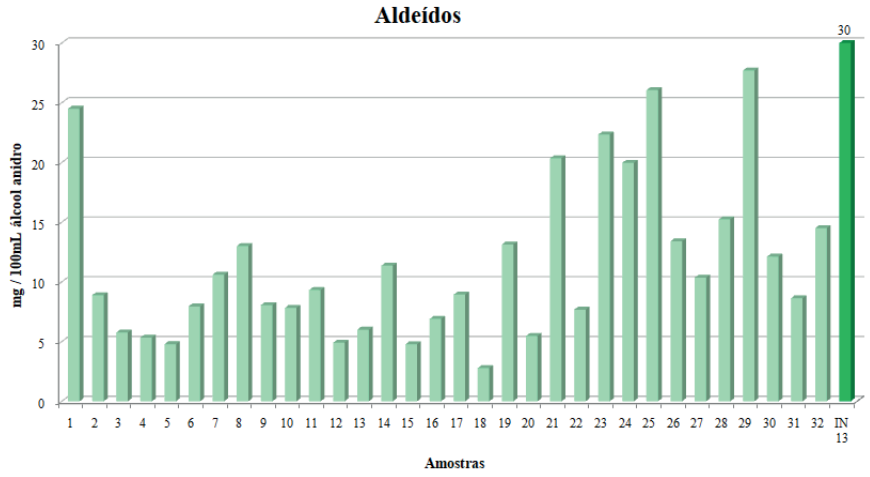


Figura 10. Leituras das análises do grau alcoólico das amostras de cachaças.

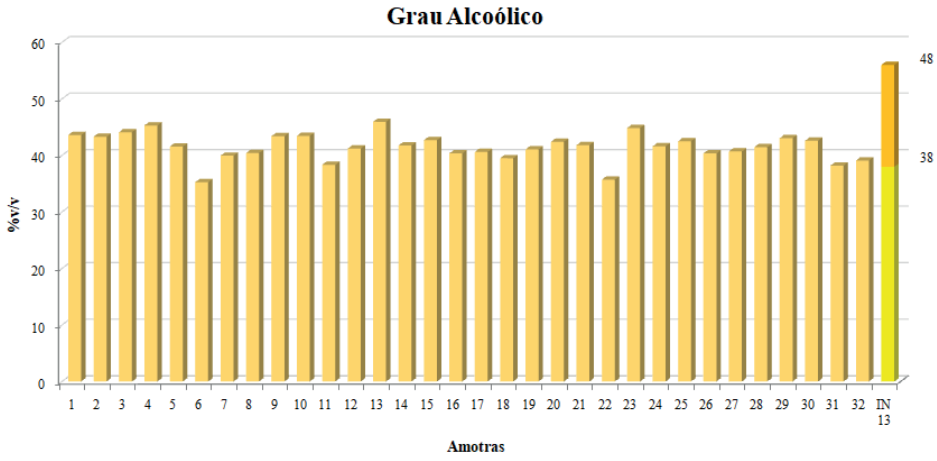


Figura 11. Leituras das análises de cobre das amostras de cachaças.

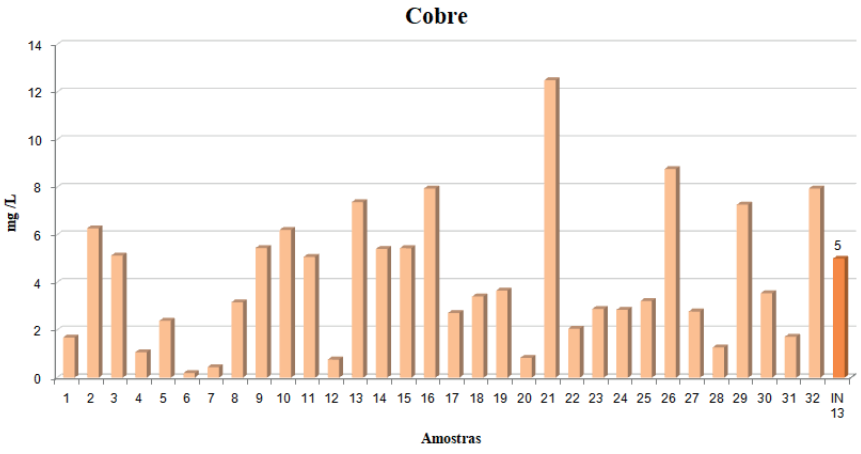


Figura 12. Leituras das análises de extrato seco das amostras de cachaças.

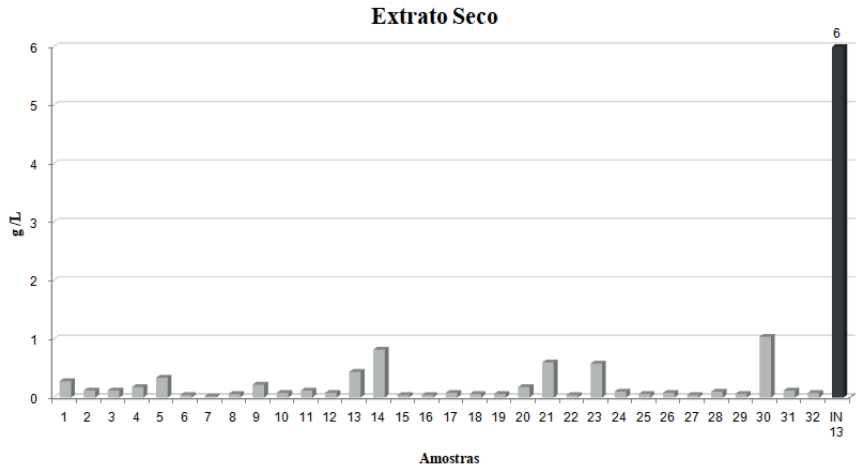


Figura 13. Leituras das análises de butan-1-ol das amostras de cachaças.

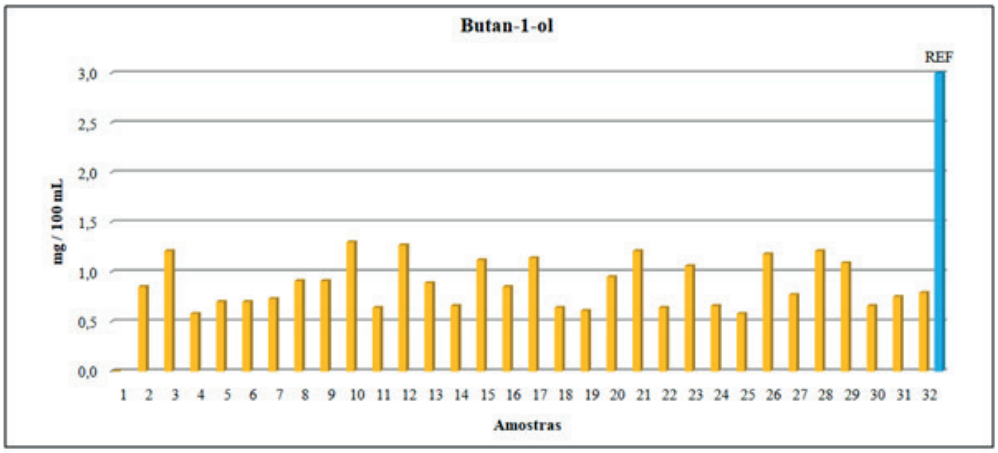


Figura 14. Leituras das análises de butan-2-ol das amostras de cachaças.

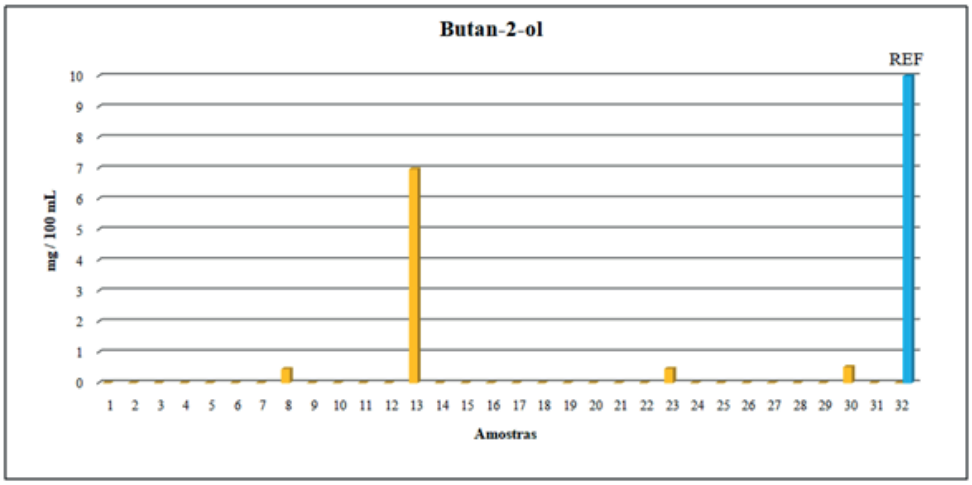


Figura 15. Leituras das análises de metanol das amostras de cachaças.

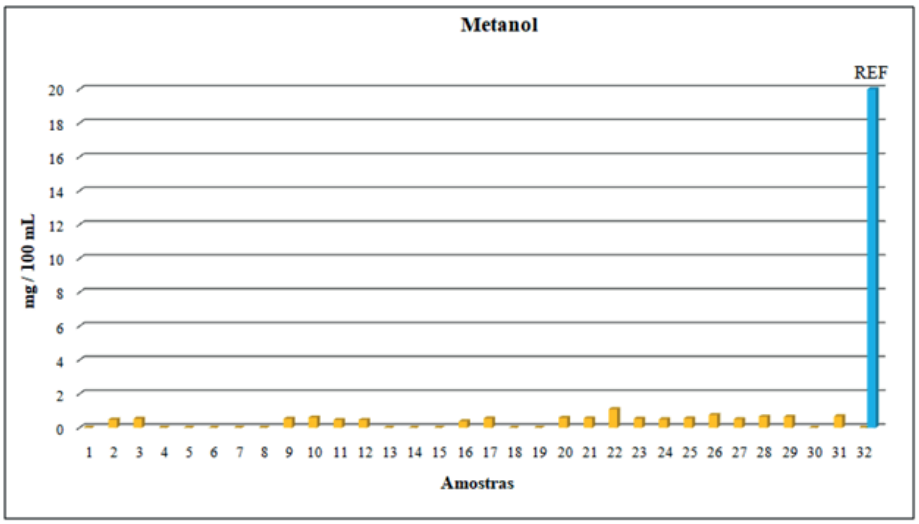
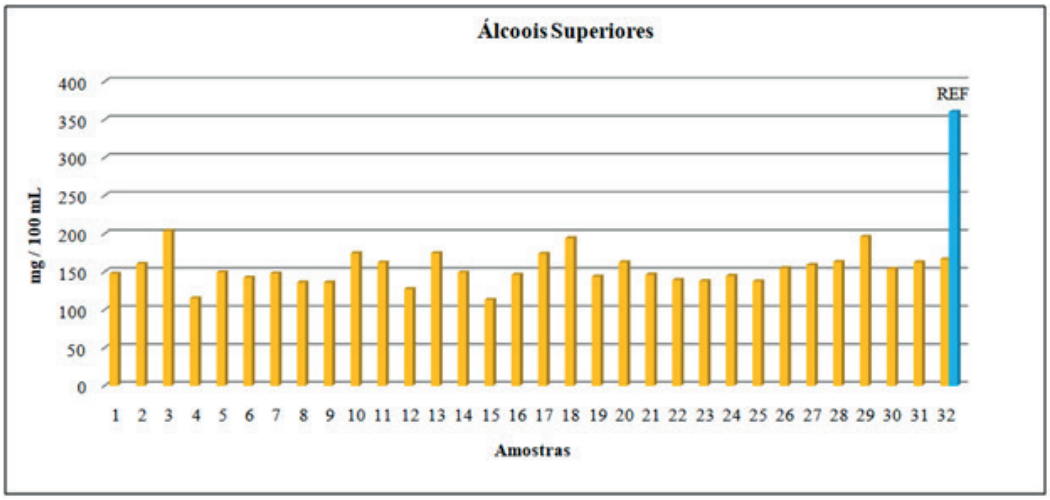


Figura 16. Leituras das análises de álcoois superiores das amostras de cachaças.



DISCUSSÃO

A partir dos dados obtidos com a verificação do conjunto estrutural e aspectos socioeconômicos da fabricação de cachaça na região de Rio Pardo de Minas-MG, pode-se estimar, de acordo com a Figura-1, que a produção anual de cachaça no município corresponde ao volume 2.519.600 litros. Do total de cachaça produzida na safra de 2016, 22% foram fabricadas por alambique com capacidade de 25 até 15.000 L por ano; 16% entre 15.000 L a 25.000 L; 31% entre 25.000 L a 45.000 L e 22% entre 90.000 L a 30.0000 L.

Além da cachaça, uma parcela de 25% dos produtores ainda produz outros derivados da cana-de-açúcar, e de acordo com a Figura 2, deste total, 55% produzem rapadura; 27% produzem melado; 9% açúcar mascavo e 9% produzem álcool. Porém, mesmo produzindo outros fabricos a cachaça ainda é a principal, e em alguns casos a única fonte de renda uma vez que os outros derivados são produzidos apenas para consumo próprio.

Analisando a Figura 3, vê-se que as principais dificuldades para produção da cachaça relatadas pelos produtores foram, em ordem de relevância, falta de recurso hídrico (36%); mercado (23%); falta de recurso financeiro (13%); domínio da tecnologia (11%); mão de obra (8%); falta de recurso de produção (7%); e outros (2%).

Outro ponto que também foi abordado foi o controle financeiro da produção pelos produtores. Ao serem questionados sobre a realização de controle financeiro, menos de um quarto dos entrevistados responderam que realizam, como mostra a Figura 4. Ainda abordando a parte financeira, 87% dos entrevistados afirmaram a obtenção de lucro, quanto aos que falaram não obter lucro (13%), metade respondeu que irão continuar produzindo cachaça e a outra metade não têm esta intenção.

Quanto ao mercado consumidor da cachaça produzida em Rio pardo de Minas – MG, a Figura 5 mostra os principais destinos da produção, sendo estes o município de Salinas (27%) e Taiobeiras (25%), além de vendas no local de produção (15%) e bares e revendedores de Rio Pardo de Minas (11%), por fim, pequenos volumes são comercializados em vários municípios circunvizinhos que somam 22%. Para a pesquisa dos valores e preço de mercado das cachaças, a maior fonte de informações são os compradores do comércio local, pois apenas a minoria dos produtores coloca o preço na bebida. Os valores pagos pelo litro de cachaça variaram de R$ 2,00 a R$ 3,00. Nota-se que a produção artesanal delineia-se como um seguimento de produto importante. De acordo com Barbosa e Faria (2015) os produtores são distribuídos em dois grupos: o das empresas regularizadas e o das informais. Essas últimas caracterizam-se na grande maioria por serem desarticuladas e por não apresentarem regras de convivência com a concorrência. Sendo assim, partem para a competição predatória, não se preocupando com a qualidade do produto produzido e vendendo muitas vezes até por preços abaixo do custo de produção.

Sobre a correlação entre BPF's e índice de cobre expressa na Figura 6, no que se refere a separação da cabeça, no processo de destilação, a mesma está vinculada a menores índices de cobre, sendo que das 32 amostras analisadas 62,5% estão dentro da legislação, dessas, 40,63% fazem a separação da cabeça. Das 37,5% amostras que apresentaram fora da legislação, apenas 25% não fazem a separação da cabeça. O motivo de 21,88% amostras de cachaça que não foram feitas separação da cabeça estarem dentro da legislação, pode estar relacionado a higienização inadequada dos destiladores.

De acordo Corniani (2013), as cachaças com teores elevados de cobre indicam limpeza inadequada do alambique. Para tal, recomenda-se, manter o alambique e as serpentinas cheias com água durante os intervalos entre uma destilação e outra. A água reduz a oxidação do cobre, evitando a formação do azinhavre e a consequente contaminação da cachaça com o metal. Já o motivo de 28,13% das amostras que fazem uso da separação da cabeça

estarem fora da legislação pode estar relacionado a má condução da separação dessa parte do destilado, o volume retirado pelos produtores provavelmente é inferior ao recomendado, sendo indicado 10% do total.

Segundo Boza e Horii (2000), o surgimento do cobre na cachaça ocorre na etapa de destilação, uma vez que o metal constituinte do equipamento, quando exposto ao ar úmido contendo gás carbônico lentamente se oxida, ficando coberto por uma camada esverdeada conhecido como azinhavre. Esta camada é então dissolvida pelos vapores alcoólicos ácidos, gerados durante o processo de destilação da cachaça, o que acaba contaminando o produto.

Neste trabalho, visto que as BPF's estão diretamente correlacionadas com a concentração de compostos físico-químicos que podem melhorar ou diminuir a qualidade da cachaça, há necessidade de um controle apurado para que não gere problemas à saúde do consumidor. Como a presença de concentrações de cobre acima do permitido pela legislação estão relacionadas a não retirada da cabeça ou remoção em menores proporções de maneira errônea, deve ser feito um treinamento para que seja implantada as BPF's. Ainda vale ressaltar, que o controle fiscal é importante nesses casos, porém nenhum dos alambiques possuem registro no MAPA, talvez isso favoreça a má prática de fabricação desses produtos.

Já analisando a correlação entre BPF's e índice de acidez conforme pode ser demonstrado na Figura 7, existe uma forte correlação entre a ocorrência da fermentação nas primeiras 24 h, a utilização do fubá de milho incorporado ao caldo e o índice de acidez dentro do limite permitido pela legislação.

Em relação à utilização do fermento, observa-se que a utilização do fermento natural da cana (selvagem) está correlacionado à níveis de acidez acima do permitido pela legislação, pois não existe controle sobre a multiplicação das leveduras, bem como pode ocorrer incidência das bactérias acéticas durante a fermentação. Já quanto a utilização do fermento comercial, foi possível notar que não existe nenhuma correlação com os níveis de acidez, uma explicação pode ser devido apenas um produtor fazer a utilização do mesmo. Segundo Maia (1994), o alto índice de acidez presente em cachaças pode estar atribuída à contaminação da cana ou do próprio mosto fermentativo por bactérias acéticas e outras, seja na estocagem da cana ou no próprio caldo de cana, fazendo com que parte do substrato sofra fermentação acética, elevando, assim, a acidez e diminuindo o rendimento da produção de etanol.

Medidas preventivas para o controle de acidez podem ser utilizadas nas cachaçarias, como a higienização adequada da cana, controle de tempo e temperatura nos processos fermentativos, utilização de fermento livre de bactérias.

Com base nos resultados das análises físico-químicas percebe-se que os níveis de acidez volátil, obteve uma variação de 26,50 a 191,90 mg/100 mL de álcool anidro. Em cinco

amostras obteve-se valores acima do permitido pela legislação (≤150 mg/100 mL álcool anidro), como mostra Figura 8, são elas as amostras 7, 8, 11, 12 e 13.

O alto índice de acidez depende do controle no processo fermentativo da cachaça, em relação a fatores como: levedura predominante no pé-de-cuba, pureza da fermentação, temperatura, tempo e manejo do mosto. A aeração do mosto durante a fermentação deve ser evitada, uma vez que na presença de oxigênio faz com que o açúcar se transforme em ácido acético, em vez de etanol (CARDOSO, 2013).

Mesmo conhecendo as instalações físicas dos alambiques e se embasando que o processo fermentativo é realizado sob condições desfavoráveis ao controle do mesmo, notou-se uma resposta positiva referente às demais amostras nos quais se obtiveram resultados dentro dos padrões da legislação.

Todas as amostras analisadas obtiveram resultados dentro a norma referente a presença de aldeídos e os níveis quantificados de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2005), como mostra a Figura 9. O aldeído é proveniente da oxidação do etanol, ocorrendo sobretudo, nas primeiras horas da fermentação, logo é reduzido em condições de anaerobiose. Sabe-se que este composto aparece durante o processo fermentativo, porém sua concentração está ligada aos processos da adequação e eficácia, devendo haver a separação da fração cabeça durante o processo de destilação (CARDOSO, 2013).

Os valores encontrados para a graduação alcoólica variaram entre 35,25 ± 0,21 e 45,3 ± 0,78% v/v, sendo que os limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, para o grau alcoólico de cachaça, situam-se entre 38% e 48% v/v (BRASIL, 2005). Analisando a Figura 10, foram encontradas duas amostras em desacordo com o limite mínimo exigido pela legislação, são elas a 7 e 22 que foram encontradas 35,25 ± 0,21 e 35,7 ± 2,40 % v/v, respectivamente. Esta não conformidade com a legislação pode ter ocorrido, devido à condução inadequada do processo de destilação, sendo separadas as frações da cabeça, do coração e da cauda da cachaça, sem a utilização do densímetro. Neste caso pode ser incorporada ao coração a água fraca (cauda), que por sua vez possui uma baixa concentração de etanol. A destilação é um fator fundamental para a qualidade da cachaça, merecendo atenção especial, pois pode melhorar a qualidade do produto, agregando a este maior valor de mercado (NOVAES, 2000; LIMA et al. 2001).

Analisando os resultados obtidos com a análise de cobre, percebe-se que algumas amostras estão com alto teor de cobre, sendo encontrados valores acima do permitido pela legislação (máximo 5 mg/L) (BRASIL, 2005), como mostra a Figura 11. De um total de trinta e duas amostras, 37,5% amostras encontram-se em desacordo com a legislação. Um dos principais motivos que podem estar relacionados aos altos teores de cobre em cachaça é a falta de higiene nos alambiques, sendo o cobre proveniente do “azinhavre” (carbonato básico

de cobre solúvel em ácido) formado no interior do alambique, principalmente, nas partes internas da serpentina do condensador. Com a realização de uma sanitização adequada do aparelho pode-se obter aguardente com um teor de cobre menor (AZEVEDO *et al*., 2003). Assim, uma maneira de baixo custo e viável para a redução dos valores de cobre na cachaça, é promover uma destilação com água e limão antes de iniciar o procedimento com o vinho para remoção do azinhavre, resíduo proveniente da oxidação do cobre, assim acarretando em uma higienização mais eficiente, além de gerar uma bebida de melhor qualidade.

Os valores encontrados para quantificação do extrato seco das amostras de cachaça estão expressos na Figura 12. Apresentando valores baixos que é justificado devido a maioria das amostras coletadas serem de bebidas novas, recém destiladas, e percebe-se que não houve adição de açúcares e outros elementos que possam vir aumentar a concentração desse analito. Não existe na legislação valores para que seja controlado.

A concentração de butan-1-nol também conhecido como n-butílico nas amostras de cachaça, como mostra a Figura 13, variou de 0 a 1,3 mg/100 mL e estão de acordo a legislação vigente , que estabelece quantidade não superior a 3 mg.100 mL-1 (BRASIL, 2005). Assim também como os resultados obtidos Parazzi *et al.* (2008), onde a concentrações similares a este trabalho apresentando média igual a 1,05 mg.100 mL. De acordo com Bogusz Junior (2006), para evitar sua presença na bebida é recomendado que utilizasse leveduras com alta atividade fermentativa, mantendo o controle da temperatura na fermentação entre 28º a 32º C e pH próximo a 4,5 para a boa atividade das leveduras.

Analisando os dados da Figura 14, nota-se que não foi detectado álcool Butan-2-ol em 87,5% das amostras, e mesmo nos outros 12,5% das amostras que possuíam a concentração inferior ao limite máximo de 10,0 mg/ 100mL estabelecido por lei (BRASIL, 2005). Este resultado difere-se dos dados encontrados por Bortoletto e Alacarde (2015), que mesmo obtendo uma média igual a 8,64 mg/100 mL para suas amostras.

O álcool metílico é um composto produzido pela degradação, especialmente da pectina presente no caldo de cana, ocorre durante a fermentação a partir da hidrólise enzimática, ou desmetilação das pectinas que compõem as fibras do bagacilho, pela ação das leveduras. Este composto após produzido concentra-se principalmente na fração “ cabeça” e por isso ocorre quando há separação incorreta desta fração, a cachaça pode conter altos níveis de metanol, o que é indesejável, pois possui características de toxicidade, mesmo em baixas concentrações (CARUSO; NAGATO; ALABURDA, 2020; PARAZZI *et al*. 2008). Analisando-se a Figura 15, percebe-se que nenhuma das amostras estavam fora dos padrões estabelecidos pela atual legislação, que determina 30 mg/100 mL (BRASIL, 2005). Os resultados apresentados neste trabalho, em sua quase totalidade, foram menores que os valores apresentado

por Miranda (2007), que cita que para amostras de cachaça e aguardente encontrou-se um valor médio de 8,53 mg/100 mL.

Os teores de álcoois superiores foram obtidos pela soma dos componentes propan--1-nol, isobutílico e isoamílico, que são compostos majoritáriamente formados pela degradação de aminoácidos durante a fermentação (RIBEIRO, 2016; PARAZZI et al., 2008). Embora, os valores da soma destes componentes sejam elevados, não superam o limite máximo de tolerância, relação expressa na figura 16, permitido pela legislação que é 360 mg/100 mL (BRASIL, 2005). De acordo com Yokoya, (1995) a formação de álcoois superiores é maior quando o fermento apresenta atividade fraca, ocasionando pela demora no processo fermentativo. Sendo assim para diminuir esse analito é necessário utilizar um fermento com atividade mais rápida. O álcool isoamílico está mais frequente em processos com a introdução de proteínas de origem de milho, farelos e outros para iniciar o pé de cuba e na porção cauda da cachaça, sendo assim é necessário que realize uma produção sem o emprego das proteínas e se faça o corte corretamente da mesma para sua diminuição. Outros fatores que podem ter contribuído para elevação dos álcoois superiores dessas amostras foram estocagem da cana mais de 36 horas após o corte, utilização de cepa de levedura com alta concentração de contaminantes; utilização de matéria prima sem limpeza prévia para a moagem; fermentação com tempo superior a 24 horas; temperaturas extremamente elevada, e pH não muito ácido (CARDOSO, 2013; e FERNANDES et al., 2007).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do estudo realizado, constatou-se um alto volume de produção de cachaça artesanal, incidindo diretamente na economia do município. Porém, todos os produtores que participaram do estudo trabalham na ilegalidade, não possuindo registro de sua produção, fato que limita a comercialização da bebida em maior abrangência, pois não se pode garantir a qualidade da cachaça. Entretanto, as análises físico-químicas demonstraram resultados satisfatórios quanto a qualidade da cachaça artesanal, obtendo valores dentro dos limites estabelecidos pela legislação. Para aqueles analitos que estão em desacordo com a legalidade tem-se que realizar com maior rigor a aplicação das BPF´s, bem como realizar a condução do fabrico da cachaça de forma mais técnica e com profissionalismo. A valorização da cachaça na região é muito cogitada pelos produtores, os mesmos estão à mercê das fábricas com registro e atravessadores, que compram grande volume da produção a um preço baixo. Nesse sentido, nota-se que Rio Pardo de Minas possui potencial para se desenvolver no mercado de cachaça artesanal, pela qualidade e volume produzido, sendo necessário o governo do município apoiar com mais intensidade essas pequenas fábricas, com suporte técnico e investimento financeiro.

REFERÊNCIAS

1. AZEVEDO, S. M.; et al. *Levantamento da contaminação por cobre nas aguardentes de cana-de-açúcar produzidas em Minas Gerais.* Ciênc. Agrotec. Lavras. v.27, n.3, 2003.

2. BARBOZA, R. A. B.; FARIA, J. B. *Inovação em pequena empresa: um estudo com produtores de cachaça*. Rev. Ciênc. Ext. v.11, n.2, p.38-55, 2015.

3. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 13, de 29 de junho de 2005. *Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça*. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 30 jun. 2005.

4. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *A cachaça no Brasil: dados de registros de cachaça e aguardentes* / Secretária de Defesa Agropecuária. 2ª ed. – Brasília: Mapa/AECS, 2020.

5. BOGUSZ Junior, S. et al . *Composição química da cachaça produzida na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil.*Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas , v. 26, n. 4, p. 793-798, Dec. 2006 . http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000400013&lng=en&nrm=iso. acesso 06 de Outubro. 2020.

6. BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R..*Assessment of chemical quality of Brazilian sugar cane spirits and cachaças.FoodControl*.p. 1-6. ago.54 (2015).

7. BOZA, Y.; HORII, J. *Influência da destilação sobre a composição e a qualidade sensorial da aguardente de cana-de-açúcar.* Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 18, n. 4, p. 391-396, 1998. Disponível em: <http://www.educadores.diaadia.pr.gov.br/arquivos/File/2010/veiculos_de_comunicacao/CTA/VOL18N4/CTA18N4_6.PDF>. Acesso em:12 de dezembro de 2017.

8. CARDOSO, M. G. *Produção de Aguardente de Cana*. Lavras-MG, UFLA, 3° ed., 2013.

9. CARUSO, M. S. F.; NAGATO, L. A. F.; ALABURDA, J. *Benzo(a)pireno, carbamato de etila e metanol em cachaças.* O Quím. Nova, São Paulo , v. 33, n. 9, p. 1973-1976, 2010 . Disponível emhttp://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000900027&lng=en&nrm=isohttp://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100=40422010000900027-&lng=en&nrm-isoAcesso em 29 de setembro de 2020.

10. CORNIANI, L. S. *Boas práticas na destilação de cachaça.* Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/cprural/boapratica/mostra/76/boas-praticas-na-destilacao-dacachaca-.html>. Acesso em: 12 de dezembro de 2017.

11. DUARTE, F. C. et al. *Remoção de cobre em cachaça usando argilas*. Ciênc.agrotec. [online]. 2014, vol.38, n.4, pp.382-389.ISSN 1413-7054. http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000400009.

12. FERNANDES, W. J. *et al. Physicochemical quality of a blend of domestic cachaças from the south of Minas Gerais.*Journal of food Composition and Analysis, San Diego, v. 20, p. 257–261, 2007.

13. IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Histórico do município 2016.* Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/painel/historico.php?lang=&codmun=315560&search=llinfogr%E1ficos:-hist%>Acesso em: 19 de novembro 2017.

14. JESUS, C. M.; ORTEGA, A. C.; PEROSA, B. B. *Cachaça "Região de Salinas": Uma Indicação Geográfica de Procedência em Construção.* Disponível em: <http://diamantina.cedeplar.ufmg.br/2016/anais/economia/163-267-V_2016_10_09_00_40_38_470.pdf> Acesso em: 17 de novembro de 2017.

15. LIMA, U. A. *et al*. *Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos*. São Paulo: Edgard Blucher, 2001.

16. MAIA, A. B. et al. *Segundo curso de tecnologia para produção de aguardente de qualidade*. Escola de Engenharia da UFMG e Fundação Cristiano Otoni. 1994.

17. MINGOTI, S. A. *Análise de dados através de métodos de estatística multivariada – uma abordagem aplicada.* Belo Horizonte*:* Editora UFMG, 2005.

18. MIRANDA, M. B. D.*et al. Qualidade química de cachaças e de aguardente brasileiras*. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, n. 4, p. 897-901, out./dez. 2007.

19. NOVAES, F. V. *Produção de aguardente de cana de alambique.* Piracicaba: São Paulo, 2000.

20. PARAZZI, C. *et al. Avaliação e caracterização dos principais compostos químicos da aguardente de cana-de-açúcar envelhecida em tonéis de carvalho (Quercus sp.).* Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 28, n. 1, p. 193-199, jan./mar. 2008

21. RIBEIRO, M. L. D. *Qualidade da Cachaça em Função do Tratamento do Caldo e Tipo de Fermento.* 2016. 52 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Microbiologia Agropecuária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2016.

22. VILELA, F. J. et al. *Determinação das composições físico-químicas de cachaças do Sul de Minas Gerais e de suas misturas.* Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1089-1094, jul./ago. 2007.

23. Viana, E. J..*Diagnóstico da Cadeia Produtiva e Avaliação Físico-Química de Cachaças do Estado da Bahia***.** Dissertação. Itapetinga, Bahia – Brasil. 2016.

12

Discriminação entre méis de abelha (*Melipona* sp e *Apis Mellifera*) comercializados em Itaituba - PA

- Paulo Sérgio **Taube Júnior**
  Ufopa
- Victor Valentim **Gomes**
  UFSC
- Jéssica Thaís Lemos Batista de **Oliveira**
  UFOPA
- Kely Prissila Saraiva **Cordovil**
  UFOPA
- Marcia Mourão Ramos **Azevedo**
  UFOPA
- Yan Vitor Silva **Oliveira**
  IESPES
- Dairlane da Rosa **Taube**
  UNIUBE
- Sorrel Godinho Barbosa de **Souza**
  UFOPA
- Kárita Juliana Sousa **Silva**
  UFOPA
- Eduardo Renan de Souza **Miranda**
  UFOPA

10.37885/201102227

RESUMO

O mel de abelha é um alimento composto por açúcares e outros componentes que variam com a sua origem. Para assegurar a qualidade e autenticidade deste alimento, objetivou-se avaliar as propriedades físico-químicas, potencial antioxidante e aplicar a análise por componentes principais (PCA) para discriminar méis provenientes do município de Itaituba-PA. Amostras de *Apis melífera* (n=3) e *Melipona* sp. (n=2) foram coletas em mercados populares. Realizou-se análises de umidade, minerais totais, acidez livre, pH, 5-HMF, sólidos solúveis, açúcares (frutose, glicose e sacarose), fenólicos totais e capacidade antioxidante pela inibição do radical DPPH. Aplicou-se a análise multivariada por componentes principais (PCA) com o auxílio do software Minitab® 17.1.0, a partir da construção de uma matriz 5x11. Os teores de umidade, pH, minerais, acidez livre e sólidos solúveis variaram de 18,15±0,10-31,93±0,20%, 3,08±0,01-4,75±0,02, 0,01±0,01-0,36±0,14%, 15,88±1,14-38,84±2,81mEq/kg e 66,63±0,23-80,10±0,00ºBrix, respectivamente. Todas as amostras apresentaram teores de sacarose abaixo de limite de quantificação. A PCA conseguiu discriminar as amostras pelo tipo de abelha a partir variáveis estabelecidas, onde os dois primeiros PCs obtiveram 88,3% da variabilidade total. Apenas os parâmetros umidade e 5-HMF foram maiores em méis de *Melipona* sp., sendo estes os principais marcadores resultantes da PCA para estes méis. Assim, a análise multivariada aplicada (PCA) reafirma a necessidade de estabelecer parâmetros de qualidade e autenticidade específicos para méis de abelhas sem ferrão. O 5-HMF como marcador de distinção sugere que méis de *Melipona* sp. devam ser armazenados em baixas temperaturas, visto que este aldeído furânico é um composto que estima degradação do produto.

Palavras-chave: Análise de Componentes Principais, Caracterização Físico-Química, Qualidade e Autenticidade, Mel de Abelha.

INTRODUÇÃO

O mel de abelha é um líquido aromático e doce, originado a partir dos néctares das flores (mel floral) ou das secreções provenientes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que se encontram sobre elas (mel de metalo), no qual as abelhas coletam, transformam, combinam com substâncias próprias, acumulam e maturam em favos para alimentação em períodos de escassez (BRASIL, 2000). Em geral é um fluido viscoso, com grande concentração de açúcares (principalmente glicose e frutose) além de substâncias como ácidos orgânicos, minerais, aminoácidos, compostos fenólicos e voláteis (BALTRUŠAITYTE et al., 2007).

Os relatos sobre uso e prospecção do mel podem ser vistos desde a antiguidade em várias locais do mundo, tendo hoje alta importância medicinal e nutricional (VIEIRA, 2011), tornando-se uma atividade rentável em várias localidades (NOGUEIRA-NETO, 1997). Muitas bioatividades deste produto são comprovadas, tais como a atividade antioxidante (LACHMAN et al., 2010).

No Brasil, as principais linhas de produção deste fluido provêm da apicultura e da meliponicultura. As duas tratam, da criação racional, respectivamente, de abelhas *Apis mellifera* (VIEIRA, 2011) e da subfamília Meliponinae spp., também conhecidas também como abelhas indígenas, nativas ou sem ferrão (VILLAS-BÔAS, 2012). Na região oeste do estado do Pará, essas atividades possuem evidentes potenciais para a produção de mel e demais produtos apícolas/meliponícolas (RAYOL; MAIA, 2013).

A regulamentação brasileira pela Instrução Normativa 11, de 20 de outubro/2000, baseia-se em legislações europeias para méis de *Apis mellifera*, que apresenta os requisitos primordiais para a qualificação e autenticidade do mel ao consumo humano. Esta ação legislativa contrasta com os méis advindos de abelhas indígenas, pois não se enquadram com esses parâmetros requisitados (CARVALHO et al., 2005).

Estudos quanto às características físico-químicas do mel desfrutam relevância, visto que condições climáticas, espécie da abelha, tipologia do solo, estágio de maturação, processamento, armazenamento e tipo de florada influenciam na qualidade do fluido (GHELDOF; ENGESETH, 2002). Ações antrópicas também podem ser agravantes durante a comercializado por meio da adulteração, onde vários processos são realizados durante seu beneficiamento, visto que o produtor possui uma disponibilidade limitada do produto (BERA; ALMEIDA-MURADIAN, 2007). No município de Itaituba – PA, encontra-se na literatura apenas um estudo realizado por Gomes et al. (2017), no qual caracterizou méis comerciais da espécie *Apis mellifera*.

Além disso, a aplicação da análise multivariada a partir das propriedades físico-químicas e bioativas do mel são usadas para discriminar a origem geográfica e botânica (SILVA et al.,

2016). Entretanto, poucos estudos utilizaram esta ferramenta estatística para classificar o mel pela origem da abelha (DUARTE et al., 2012; KEK et al., 2017a,b).

OBJETIVO

Aplicar a técnica multivariada por componentes principais (PCA) em dados físico-químicos e antioxidantes de méis comercias de abelhas Melipona sp. e Apis mellifera oriundas do município de Itaituba – PA, como garantia de qualidade e autenticidade destes produtos.

MÉTODOS

Coleta das amostras

As amostras foram coletadas (n=5) em comércios populares localizados no município de Itaituba - Pará no mês de agosto de 2017, sendo duas da espécie *Melipona* sp. (IM1 e IM2) e três da espécie *Apis mellifera* (IA1, IA2 e IA3). Os méis permaneceram no frasco de origem e em temperatura ambiente para análises posteriores.

Análises físico-químicas

A umidade e os sólidos solúveis (ºBrix) foram determinados por refratometria com o refratômetro Abbe Tropenmodell I (Carl Zeiss Jena, Alemanha), de acordo com os protocolos 969,38 e 932,12 da AOAC (2005), respectivamente. O teor de minerais totais dos méis foi obtido por gravimetria, segundo o método da AOAC (2005).

Para a determinação do pH e da acidez livre, 10 g de cada amostra foram diluídas em 75 mL de água deionizada e, em seguida, o pH foi medido em pHmetro modelo mPA-210 (MS Tecnopon, Piracicaba, Brasil). Após a medição do pH inicial, a solução foi titulada com solução de NaOH 0,101 mol L^{-1} (padronizada com biftalato de potássio monobásico) até pH 8,5 (AOAC, 2005). O valor da acidez livre, expresso em mEq kg^{-1}, foi calculado de acordo com a equação:

$$Acidez\ livre = \frac{(v\ x\ f\ x\ 100)}{m}$$

Em que: v = volume (mL) de NaOH 0,1 mol L^{-1} gasto na titulação da amostra; f = correção da molalidade da solução de NaOH 0,1 mol L^{-1} e m = massa da amostra (g).

As concentrações de 5-Hidroximetilfurural (5-HMF) foram avaliadas segundo a metodologia de Rizélio et al. (2012b) utilizando a cromatografia eletrocinética micelar capilar (MECK) e os resultados expressos em mg kg^{-1}.

Os teores dos açúcares: frutose, glicose e sacarose foram quantificados pela técnica de eletroforese de zona capilar, via detecção indireta. Para isso, o eletrólito running (BGE) foi composto por 20 mmol L-1 de ácido sórbico, 0,2 mmol L-1 de CTAB e 40 mmol L-1 de NaOH, em pH = 12,2. Para a análise das amostras, foi utilizado capilar com 60 cm de comprimento total (8,5 cm de comprimento efetivo × 50 µm ID × 375 µm de DO), com injeção feita pelo modo hidrodinâmico com tensão aplicada de 25 kV e detecção indireta a 254 nm (inversão de pico a 360 nm) (RIZÉLIO et al., 2012a; BILUCA, 2014).

Para avaliação da cor, o mel foi diluído em água deionizada na concentração de 50% (m/v). A solução foi centrifugada a 300 rpm por 10 min em centrífuga modelo NT815 (Nova Técnica, Piracicaba, Brasil). Essas soluções foram lidas em um espectrofotômetro UV/Vis (Nova 3300, Nova Instruments, Piracicaba, Brasil) a 635 nm e as absorbâncias foram transformadas para a escala de Pfund que foi utilizada para a classificação da cor (GOMES et al., 2017).

Teor de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante

Para análise da composição fenólica total dos méis, aplicou-se o método espectrofotométrico UV/Vis de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). A capacidade antioxidante foi determinada através do método de sequestro do radical DPPH (2,2-difenilpicril-hidrazila) (GOMES et al., 2017).

Tratamento dos dados

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Aplicou-se a análise multivariada por componentes principais (PCA) com o auxílio do software Minitab® 17.1.0, a partir da construção de uma matriz 5x11.

RESULTADOS

Os resultados das análises físico-químicos, obtidos a partir das análises das amostras de méis adquiridas em Itaituba, foram expressos por média e desvio padrão e comparados aos valores preconizados pela Instrução Normativa nº 11 do Ministério da Agricultura e Abastecimento, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Características físico-químicas de amostras de méis de *Melipona* sp. *Apis mellifera* e parâmetros estabelecidos pela Legislação Brasileira

Parâmetros	IM1	IM2	IA1	IA2	IA3	Brasil (2000)
Umidade (%)	31,93±0,20	30,30±0,12	18,42±0,00	18,15±0,10	19,36±0,06	Máx. 20,0
Minerais totais (%)	0,01±0,01	0,02±0,00	0,36±0,14	0,12±0,03	0,13±0,01	Máx. 0,6

Parâmetros	IM1	IM2	IA1	IA2	IA3	Brasil (2000)
pH	3,25±0,01	3,08±0,01	4,75±0,02	4,52±0,02	4,55±0,07	-
AL[1] (mEq/Kg)	15,88±1,14	17,21±0,02	25,01±2,58	38,84±2,81	38,17±3,56	Máx. 50,0
5-HMF[2] (mg/Kg)	157,52±3,79	166,96±4,18	<LOQ	<LOQ	<LOQ	Máx. 60,0
ºBrix[3]	66,63±0,23	68,20±0,00	79,00±0,00	80,10±0,00	79,00±0,00	-
Frutose (%)	29,30±0,79	29,21±0,83	40,12±4,00	39,96±1,45	34,23±2,04	-
Glicose (%)	27,17±0,17	26,83±0,45	28,47±2,85	27,88±0,58	24,15±1,08	-
F+G[4] (%)	56,46±0,95	56,04±1,10	68,60±6,84	67,83±1,97	58,37±3,11	Mín. 65,0
Sacarose (%)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	Máx 6,0
Pfund (nm)	73,95±2,61	173,61±3,53	105,28±2,84	75,69±0,00	93,89±2,44	-
Cor	Âmbar claro	Âmbar escuro	Âmbar	Âmbar claro	Âmbar	Variável

[1]Acidez Livre; [2]5-Hidroximetilfurfural; [3]Sólidos solúveis; [4]Somatória dos conteúdos de Frutose e Glicose; LOQ – Limite de Quantificação. Valores expressos em média ± desvio padrão.

Os teores de umidade dos méis de abelhas *Melipona* sp. (30,30±0,12% e 31,93±0,20%) foram maiores que os de *A. mellifera* (18,15±0,00% à 19,36±0,06%). A legislação brasileira determina no máximo 20% de umidade neste tipo fluido (BRASIL, 2000), evidenciando que as amostras de méis de abelhas *Melipona* sp. não estão em concordância com a normativa.

Para o conteúdo de minerais totais, preconiza-se legalmente no máximo 0,6% (BRASIL, 2000), demonstrando que todas as amostras avaliadas neste estudo se encontravam dentro deste parâmetro (0,01±0,01% à 0,36±0,14%). Ressalta-se também que os méis de *A. mellifera* apresentaram maior teor mineral em relação aos méis de *Melipona* sp.

Os teores de acidez livre das amostras de méis variaram de 15,88±1,14 à 38,84±2,81 (mEq/Kg). Os maiores valores foram observados para os méis de *A. melífera*. No entanto, estes teores estão dentro dos níveis aceitáveis pela legislação, de no máximo 50 mEq/Kg (BRASIL, 2000).

O pH ácido é uma característica do mel e neste estudo os valores variaram entre 3,08±0,01 e 4,75±0,02, sendo que a legislação brasileira não apresenta valores de referência para esse parâmetro.

Foram detectados teores de 5-HMF apenas nos méis de *Melipona* sp., e em concentrações superiores (157,52±3,79 mg/Kg e 166,96±4,18 mg/Kg) ao preconizado pela normativa brasileira, de no máximo 60 mg/Kg (BRASIL, 2000).

Os teores de sólidos solúveis (ºBrix), frutose e glicose não apresentam valores de referência na legislação brasileira, na presente pesquisa, eles variaram de 66,63±0,23 à 80,10±0,00, 29,21±0,83% à 40,12±4,00% e 24,15±1,08% à 28,47±2,85%, respectivamente, sendo que os méis de *A. mellifera* apresentaram os maiores teores de ºBrix e frutose em relação aos méis de *Melipona* sp.

A somatória dos conteúdos de açúcares redutores frutose e glicose (F + G) dos méis estudados variou de 56,04±1,10 à 68,60±6,84 %, onde todos apresentaram concentrações de frutose maiores que os de glicose. A legislação brasileira preconiza um mínimo de 65% de açúcares redutores totais (BRASIL, 2000), revelando que os méis de *Melipona* sp. (IM1 e

IM2) e de *A. mellifera* (IA3) estão em desacordo com o padrão vigente. Para todos os méis avaliados, o conteúdo de sacarose ficou abaixo do limite de detecção.

Houve variedade de cores entre as amostras, os méis de *Melipona* sp apresentaram colorações âmbar claro (IM1) e âmbar escuro (IM2) e os méis de *A. melífera* com colorações âmbar (IA1 e IA3) e âmbar escuro (IA2). As cores observadas estão dentro da norma vigente que pode variar desde quase incolor a pardo-escura (BRASIL, 2000).

Os resultados obtidos para a concentração total de compostos fenólicos e atividade antioxidante podem ser observados na tabela 2.

Tabela 2. Teor de compostos fenólicos totais e capacidade de aprisionamento do radical DPPH de méis de *Melipona* sp. e *Apis mellifera* comercializados em Itaituba - PA.

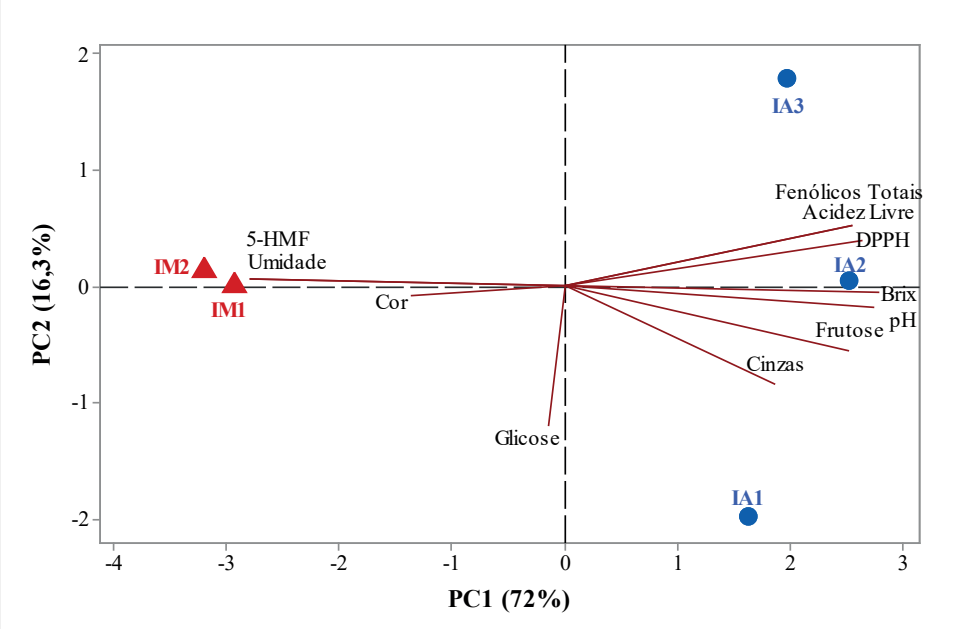
Parâmetros	IM1	IM2	IA1	IA2	IA3
Fenólicos totais (mg EAG/100g)	22,97±1,55	27,85±0,56	38,19±0,17	54,95±2,29	56,05±0,19
DPPH (%)	30,02±4,14	35,92±14,54	50,23±4,30	75,93±4,55	71,37±1,83

EAG – equivalentes a ácido gálico.

A variação do teor de compostos fenólicos totais entre as amostras foi de 22,97±1,55 à 56,05±0,19 mg EAG/100g, onde as amostras IA1, IA2 e IA3 (*A. mellifera*) apresentaram os maiores valores. Já a capacidade antioxidante determinada através do método de sequestro do radical DPPH variou de 30,02±4,14 à 75,93±4,55 % entre as amostras, onde os méis IM1 e IM2 obtiveram os menores percentuais de inibição, o que condiz com a quantidade de compostos fenólicos totais.

A distribuição espacial das amostras de méis e das variáveis analisadas para os dois PCs podem ser vistos na Figura 1.

Figura 1. Pesos e escores resultantes da PCA para os méis de *Melipona* sp. (IM) e *Apis mellifera* (IA) baseados nas características físico-químicas, fenólicos totais e antioxidante (PC1 versus PC2).



Ressalta-se que o parâmetro sacarose foi excluído da matriz, pois não foi detectado em nenhuma das amostras. Pode ser observado um distanciamento entre as amostras IA1, IA2 e IA3 visto a elevada quantidade de variáveis que marcaram estas amostras no gráfico (Figura 1). Entre as amostras IM1 e IM2, é observado um distanciamento ínfimo, tendo os teores de 5-HMF, umidade e cor como marcadores para estes méis. O resultado da PCA dos méis de *Melipona* sp. e de *Apis mellifera* estão apresentados na Figura 1.

DISCUSSÃO

Os percentuais de umidade obtidos para os méis de *A. mellifera* apresentaram-se dentro dos níveis aceitáveis pela norma nacional (BRASIL, 2000). No entanto, os valores obtidos para os méis de *Melipona* sp excederam o valor máximo (20%) permitido pela legislação brasileira. Estes resultados são similares aos obtidos por Lira et al. (2014), os quais observaram teores de umidade dos méis de *A. melífera*, em conformidade com as normas nacionais, variando de 15,2 a 20,0%, enquanto que os teores obtidos para os méis de meliponíneos foram superiores ao valor máximo (20%) permitido, variando de 23,4 a 29,4%. Segundo observação dos mesmos autores, a quantidade de água no mel de meliponíneos é considerada o grande diferencial deste produto em relação ao mel de *Apis melífera*. Esta elevada porcentagem pode ser decorrente do processo de operculação do mel, onde estas abelhas realizam à uma umidade acima do que as abelhas *Apis* (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2005).

Os valores percentuais de minerais totais encontrados nesse trabalho (Tabela 1) estão compatíveis aos encontrados por Abadio Finco; Moura e Silva (2010) para o mel de abelha *A. mellifera* produzido na região da região Sul do Estado do Tocantins com valores de 0,01 a 0,30%. Amostras de mel de *Melipona fulva* produzidas em Macapá - AP e analisadas por Chaves; Gomes e da Costa (2012) também apresentaram valores de cinza dentro do limite estabelecido pela legislação de no máximo 0,6%. Este parâmetro pode determinar a origem geográfica do mel, pois relaciona-se com o solo que a planta (fonte de néctar) está sustentada (GOMES et al., 2017). Abadio Finco; Moura e Silva (2010) relatam que produtos com quantidades de cinzas acima do permitido (0,6%) podem indicar também elevados índices de poluição.

Todas as amostras analisadas no presente trabalho estão em concordância com o parâmetro de acidez livre preconizado por Brasil (2000) de no máximo 50 mEq/Kg (Tabela 1). Lacerda et al. (2010) avaliando 24 amostras de méis de abelhas *Apis mellifera* verificaram valores de acidez que variaram de 15,65 a 61,00 meq kg^{-1}, sendo que a maioria das amostras (84%) apresentou acidez dentro do limite estabelecido pela legislação. Lira et al. (2014) encontraram resultados da acidez total para os méis de *A. mellifera* de 13,74 a 45,67

mEq Kg^{-1}. Já para os méis de meliponíneos apresentaram valores de acidez de 54,06 a 103,95 mEq Kg^{-1}, respectivamente, estando superior ao permitido pela legislação para méis de abelha africanizada (Brasil, 2000). Esta característica pode estimar as condições de armazenagem do produto, uma vez que elevados teores de acidez indicam a fermentação do mel (SILVA et al., 2004).

Os valores de pH dos méis avaliados (Tabela 1) situaram-se dentro da faixa ideal para a inibir o crescimento de microrganismos (GOMES et al., 2017), favorecendo e estabilidade e vida de prateleira do produto (BILUCA, 2014). Lira et al. (2014) avaliando 24 amostras de méis de abelhas, sendo dez de *A. mellifera* e dez de meliponíneos, verificaram que o valor de pH obtido para todas as amostras variou de 3,36 a 4,63, próximo ao encontrado neste trabalho.

Nesta pesquisa, os resultados da análise qualitativa para o 5-HMF demonstraram que amostras de méis de *Melipona* sp. apresentaram valores acima do permitido pela legislação vigente para este parâmetro (Tabela 1). Em trabalho realizado por Lira et al. (2014) os méis de *A. mellifera* variaram de 7,49 a 56,80 mg Kg^{-1} e os méis de abelhas nativas variaram de 0,46 a 7,49 mg Kg^{-1}. Segundo esses autores, méis muito aquecidos ou armazenados por tempo prolongado podem apresentar altos teores de HMF. O 5-HMF (5-Hidroximetilfufrfural) é uma substância formada pela reação de açúcares em meio ácido à elevadas temperaturas (BRAGHINI, 2016) e é um parâmetro que avalia a degradação do mel. Desta forma, o armazenamento em temperatura ambiente, especialmente em localidades quentes como a região amazônica, pode ser a causa da formação deste composto (AJLOUNI; SUJIRAPINYOKUL, 2009).

Os teores de ºBrix (sólidos solúveis) dos méis de *Melipona* sp (Tabela 1) estão de acordo com os encontrados por Chaves; Gomes e Costa (2012) trabalhando com amostras de mel de *Melipona fulva*, de 66,1% a 68,0%. Lacerda et al. (2010) analisando amostras de méis de *Apis mellifera* provenientes da região Sudoeste da Bahia verificaram valores de ºBrix que variaram de 77,00 a 81,30%, próximos aos obtidos no presente trabalho para méis de *Apis mellifera* (Tabela 1). Os méis de *Apis mellifera* sempre são descritos com maior ºBrix quando comparados com méis de abelhas sem ferrão. Além disso, o parâmetro de sólidos solúveis está relacionado com os minerais, ácidos e, especialmente, com os açúcares e água presentes nos méis (BILUCA et al., 2016).

Os açúcares frutose e glicose constituem a maior parte do açúcar no mel (DA SILVA et al., 2016). Os valores de frutose e de glicose (Tabela 1) foram semelhantes aos valores relatados na literatura (CHUTTONG et al., 2016; BILUCA et al., 2016).

Como a frutose e a glicose são os principais carboidratos do mel, o teor total de açúcares reduzidos (ou seja, frutose e glicose) nas amostras variou de 56,04±1,10% e

68,60±6,84, o valor mais baixo foi encontrado para *Melipona* sp e o maior foi encontrado na espécie *Apis mellifera.*

Observando a soma de frutose e glicose, é possível destacar que todos os demais estudados apresentam valores inferiores a estes componentes sendo esta uma característica do mel (NORDIN et al., 2018; ÁVILA et al., 2018). Além disso, a prevalência do teor de frutose intensifica o sabor doce, alta higroscopicidade e retarda o processo de cristalização (DE SOUSA et al., 2016; BILUCA et al., 2016).

Estudos como os de Biluca et al. (2016) observaram a ausência de sacarose em trinta e três amostras de mel, semelhante ao presente estudo. No entanto, Chuttong et al. (2016) relatam um teor médio de 19% de sacarose no mel de abelhas sem ferrão. Valores elevados desse açúcar geralmente indicam uma colheita precoce de mel, uma vez que a enzima invertase não dissociou completamente a sacarose em glicose e frutose (DA SILVA et al., 2016). Neste contexto, para todos os méis avaliados, o abaixo limite de detecção sacarose (Tabela 1), indica que os méis foram coletados com maturação adequada, isto é, que a sacarose foi totalmente transformada em glicose e frutose pela ação da invertase (BRAGHINI, 2016).

A coloração dos méis de *Melipona* sp. variou de âmbar claro a âmbar escuro, enquanto que os méis de *Apis mellifera* variou de âmbar a âmbar claro. De acordo com Gomes et al. (2017) ao verificarem que as amostra de méis de Jandaíra (*Melipona compressipes manaosensis* e *Melipona seminigra*) apresentaram colorações mais escuras que os méis de *Apis melífera*. Lira et al. (2014) observaram uma predominância de méis claros para *Apis melífera,* enquanto os méis de melíponíneos apresentaram uma coloração âmbar escuro. Esta variação na corolação de méis pode ser consequência dos teores de minerais, umidade, carotenoides, flavonoides, temperatura e tempo de armazenagem (GOMES et al., 2017).

Os méis de *Melipona* sp apresentaram menores conteúdos de compostos fenólicos totais em comparação aos méis de *A. mellifera* (Tabela 2). Esses resultados são diferentes aos obtidos por Lira et al. (2014) em que os méis de *A. mellifera* apresentaram menor teor de fenólicos totais (43,34 a 75,47 mgEAG 100 g^{-1}) em relação aos méis de meliponíneos (61,28 a 105,59 mgGAE 100 g^{-1}). O teor de compostos Segundo Lira et al. (2014) a presença de compostos fenólicos bioativos no mel de abelhas sem ferrão poderá servir como uma boa fonte de antioxidantes naturais eficaz na redução do risco para saúde. Estas classes de substâncias são consideradas como as principais contribuintes pelas atividades bioativas do mel e a quantidade destes são influenciados de forma majoritária pela origem floral do mel (BRAGHINI, 2016). As diferenças nos teores de compostos fenólicos de diferentes tipos de mel estão amplamente relacionadas à origem floral do mel. Além, dos constituintes da fonte floral, tipo de néctar e pólen usados pelas abelhas, as origens geográficas e as espécies de abelhas produtoras de mel (SHAMSUDIN et al., 2019).

Pelos resultados da análise da atividade sequestrante de radicais livres DPPH (%) observou-se diferença entre as amostras estudadas (Tabela 2), em que os méis de *Melipona* sp apresentaram menor teor de DPPH (%) em relação aos méis de *A. melífera*. Diferentemente, Oliveira et al. (2012) estudando a atividade antioxidante nos méis de três diferentes espécies de abelhas: *A. mellifera*, *Melipona flavolineata* e *M. fasciculata*, observaram que os méis da espécie *A. mellifera* mostraram melhor inibição do radical DPPH, tendo atividade antioxidante significativa em relação às demais espécies, exceto para méis de *M. flavolineata* da região de São João de Pirabas que obtiveram o melhor percentual de inibição, com média de 6,85%.

A PCA possibilitou a discriminação entre méis de *Melipona* sp. (com correlação positiva com a PC2) e *Apis mellifera* (com correlação positiva com a PC1) (Figura 1), com uma variabilidade total de 88,3% explicadas pelos dois primeiros componentes, analisado como uma variação de resultados satisfatória (CHUDZINSKA; BARALKIEWICZ, 2010). Estudos semelhantes obtiveram variabilidade total dos dados entre 72% e 78,55% (DUARTE et al., 2012; KEK et al., 2017a,b), entretanto, ainda não havia relatos do 5-HMF como marcador de qualidade e autenticidade.

CONCLUSÃO

As características físico-químicas, fenólicas e antioxidantes entre méis de abelhas nativas e *Apis mellifera* possuem discrepâncias, podendo ser discriminadas pela análise por componentes principais (PCA). Em relação aos parâmetros de qualidade e autenticidade, esta ferramenta estatística ratifica a necessidade de regulamento específico para méis de abelhas sem ferrão. Além disso, sugere-se um armazenamento diferenciado (em baixas temperaturas) para méis de *Melipona* sp., visto as elevadas concentrações do composto resultante de degradação, o 5-HMF.

REFERÊNCIAS

1. A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemist). In W. Horwitiz (Ed.), **Official methods of analysis of the AOAC**, 18th ed. Washington D.C., USA: Association of Official Analytical Chemists, 2005.

2. ABADIO FINCO, F. D. B.; MOURA, L. L.; SILVA, I. G. Propriedades físicas e químicas do mel de *Apis mellifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.3, p.706-712, 2010.

3. AJLOUNI, S.; SUJIRAPINYOKUL, P. Hydroxymehtylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. **Food Chemistry**, v.119, n.3, p.1000-1005, 2009.

4. ÁVILA, S. et al. Stingless bee honey: Quality parameters, bioactive compounds, health promotion properties and modification detection strategies. **Trends in Food Science & Technology**, v.81, p.37–50, 2018.

5. BALTRUŠAITYTE, V.; VENSKUTONIS, P. R.; ČEKSTERYTE, V. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. **Food Chemistry**, v.101, n.2, p.502-514, 2007.

6. BERA, A.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. D. Propriedades físico-químicas de amostras comerciais de mel com própolis do estado de São Paulo. **Revista Ciência e Tecnologia em Alimentos**, v.27, n.1, p.49-52, 2007.

7. BILUCA, F. C. (2014). **Caracterização química e influência do tratamento térmico em méis de abelha sem ferrão (Meliponinae spp.) produzidos no estado de Santa Catarina** (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

8. BILUCA, F. C. et al. Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae). **Journal of Food Composition and Analysis**, v.50, p.61-69, 2016.

9. BRAGHINI, F. (2016). **Estabilidade de méis de abelhas sem ferrão (Meliponinae spp.) submetidos a diferentes condições térmicas** (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

10. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2000). **Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. MAPA, Brasília.

11. CARVALHO, C. A. L. et al. **Mel de abelha sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química**. Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI-BA. 2005.

12. CHAVES, A. F. A.; GOMES, J. E. H.; da COSTA, A. J. S. Caracterização físico-química do mel de Melipona fulva Lepeletier, 1836 (Himenoptera: Apidae: Meliponinae) utilizada na meliponicultura por comunidades tradicionais do entorno da cidade de Macapá-AP. **Biota Amazonia**, v.2, n.1, p.1-9, 2012.

13. CHUDZINSKA, M.; BARALKIEWICZ, D. Estimation of honey authenticity by multielements characteristics using inductively coupled plama-mass spectrometry (ICP-MS) combined with chemometrics. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, p.284-290, 2010.

14. CHUTTONG, B. et al. Physicochemical profiles of stingless bee (Apidae: Meliponini) honey from South east Asia (Thailand). **Food chemistry**, n.192, p.149-155, 2016.

15. DA SILVA, P. M. et al. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v.196, p.309-323, 2016.

16. DE SOUSA, J. M. B. et al. Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. LWT-Food. **Science and Technology**, v.65, p.645-651, 2016.

17. DUARTE, A. W. F., VASCONCELOS, M. R. S., MENEZES, A. P. D., SILVA, S. C., ODA-SOUZA, M., LOPEZ, A. M. Q. Composition and antioxidant activity of honey from Africanized and stingless bees in Alagoas (Brazil): a multivariate analysis. **Journal of Apicultural Research**, v.51, n.1, p.23-25, 2012.

18. EVANGELISTA–RODRIGUES, A. et al. Análise físico-química de méis das abelhas Apis mellifera e Melípona Scutellaris produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p.1166- 1171, 2005.

19. GHELDOF, N.; ENGESETH, N. J. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum sample. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.10, p.3050-3055, 2002.

20. GOMES, V. V. et al. Evaluation of the Quality of Honey Commercialized in Western Pará, Brazil. **Revista Virtual de Química**, v.9, n.2, p.815-826, 2017.

21. KEK, P. S., CHIN, N. L, YUSOF, Y. A., TAN, S. W., CHUA, L. S. Classification of entomological origin of honey based on its physicochemical and antioxidant properties. **International Journal of Food Properties**, v.20, p.23-38, 2017a.

22. KEK, P. S., CHIN, N. L., TAN, S. W., YUSOF, Y. A., CHUA, L. S. Classification of Honey from Its Bee Origin via Chemical Profiles and Mineral Content. **Food Anal. Methods**, v.10, p.19-30, 2017b.

23. LACERDA, J. J. J. et al. Influência das características físico-químicas e composição elementar nas cores de méis produzidos por *Apis mellifera* no sudoeste da Bahia utilizando análise multivariada. **Quimíca Nova**, v.33, n.5, p.1022-1026, 2010.

24. LACHMAN, J. et al. Evaluatiom of antioxidant activity and total phenolic of selected czech honeys. LWT – **Food Science and Technology**. v.43, n.1, p.52-58, 2010.

25. LIRA, A. F. et al. Estudo comparativo do mel de *Apis mellifera* com méis de meliponíneos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.3, p.169-178, 2014.

26. NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas sem ferrão**. São Paulo: Nogueirapis. 1997. 446p.

27. NORDIN, A. et al. Physicochemical properties of stingless bee honey from around the globe: A comprehensive review, **Journal of Food Composition and Analysis**, v.73, p.91-102, 2018.

28. OLIVEIRA, P. S. et al. Ácidos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata, M. flavolineata* (*Apidae, Meliponini*) e *Apis mellifera* (*Apidae, Apini*) da Amazônia. **Quimica Nova**, v.35, n.9, p.1728-1732, 2012.

29. RAYOL, B. P.; MAIA, R. T. S. F. Potencial da inserção de abelhas em sistemas agroflorestais no oeste do estado do Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.8, n.3, p.101-108, 2013.

30. RIZELIO, V. M. et al. Development of a fast capillary electrophoresis method for determination of carbohydrates in honey samples. **Talanta**, v.93, p.62-66, 2012a.

31. RIZELIO, V. M. et al. Development of a fast MECK method for determination of 5-HMF in honey samples. **Food Chemistry**, v.133, p.1640-1645, 2012b.

32. SHAMSUDIN, S. et al. Influence of origins and bee species on physicochemical, antioxidant properties and botanical discrimination of stingless bee honey. **International Journal of Food Properties**, v.22, n.1, p.238-263, 2019.

33. SILVA, C L. D.; QUEIROZ, A. J. D. M.; FIGUEIREDO, R. M. F. D. Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado do Piauí para diferentes floradas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 8(2/3), 260-265, 2004.

34. SILVA, P. M., GAUCHE, C., GONZAGA, L. V., COSTA, A. C. O.; FETT, R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v.196, p.309-323, 2016.

35. SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.

36. VIEIRA, L. M. Mel. **Síntese anual da Agricultura de Santa Catarina 2009 – 2010**, parte I, 225-235, 2011. Disponível em: http://cepa.epagri.sc.gov.br/ 124Publicacoes/Sintese_2010/sintese%202010_inteira.pdf. Acesso em: 20 mai. 2017.

37. VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico: Mel de Abelhas sem Ferrão**. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza, 2012.

13

Efeitos hipolipidêmico e antioxidante em hamsters pela administração de subprodutos do processamento de uvas

- Emília **Ishimoto**
  USCS
- Silvio José Valadão **Vicente**
  UNISANTA

10.37885/201102217

RESUMO

Polifenóis e fibras alimentares têm apresentado efeitos benéficos na redução de riscos de diversas doenças crônicas. Uma ótima fonte destes compostos é o bagaço de uva, subproduto obtido na produção de vinhos e sucos. Objetivo: Avaliar o potencial hipolipidêmico e antioxidante em hamsters de subprodutos do processamento de uvas. Métodos: A capacidade antioxidante foi avaliada *in vitro* (método DPPH) e *in vivo* (ensaios biológicos), assim como o potencial hipolipidêmico. Os animais foram distribuídos em quatro grupos: C (controle), H (hiperlipidêmico), V (hiperlipidêmico suplementado com farinha de bagaço do vinho) e S (hiperlipidêmico suplementado com farinha de bagaço do suco). Após quatro semanas de avaliação, foram aferidos o perfil lipídico, a atividade de enzimas antioxidantes (SOD e Cat) e a concentração plasmática das enzimas AST e ALT. Resultados: As farinhas obtidas dos bagaços de uva (vinho e suco) apresentaram quantidades substanciais de fibras e compostos fenólicos, ambos já reconhecidos como substâncias hipolipidêmicas e antioxidantes. Compostos fenólicos foram quantificados individualmente com teores significativos nas duas farinhas. Hamsters do grupo hiprlipidêmico exibiram níveis plasmáticos aumentados de triglicerídeos e de frações do colesterol, reduzida atividade das enzimas antioxidantes e níveis elevados das transaminases, indicando possíveis danos hepáticos. Em contraste, os grupos que receberam dietas hiperlipidêmicas suplementadas com subprodutos da uva mostraram perfis lipídicos melhorados, aumento da atividade das enzimas antioxidantes e dos níveis de Nrf2 além de concentrações normais das transaminases. Conclusão: Os subprodutos das uvas avaliadas apresentaram potencial para utilização como suplementos funcionais, com baixo custo de obtenção.

Palavras-chave: Compostos Fenólicos, Fibras, Antioxidante, Hipolipidêmico, Subprodutos da uva.

INTRODUÇÃO

O processo de envelhecimento tem sido foco de interesse por parte de cientistas e filósofos há muito tempo. Entretanto, nas últimas décadas, esse interesse aumentou consideravelmente devido ao crescente aumento da proporção de idosos na população mundial. No aspecto científico, o envelhecimento é um processo complexo e com características multifatoriais. Para explicar este fenômeno, diversas teorias foram propostas, mas a genômica e a teoria dos radicais livres talvez sejam as mais importantes, parecendo estar intimamente relacionadas (COSTA et al., 2016). Há muitas evidências corroborando, direta ou indiretamente, a teoria dos radicais livres. Diversas doenças relacionadas ao envelhecimento como câncer e aterosclerose são visivelmente afetadas por processos oxidativos. Além disso, a existência de mecanismos naturais de prevenção contra danos celulares oxidativos, como as enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e catalase (Cat), dentre outras, é uma indicação de que os radicais livres possuem um papel chave no envelhecimento e nas doenças associadas (RAHMAN, 2007; SPITELLER, 2007). A aterogênese constitui um dos principais fatores de risco para doenças cardiovasculares (DCV) e parece estar fortemente associada à oxidação da lipoproteína de baixa densidade-colesterol (LDL-colesterol) (KATTOOR et al., 2017). Dislipidemias, como hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, também elevam o risco de DCV, principais causas de mortalidade no Brasil (BRASIL, 2018).

Na tentativa de mitigar o impacto dos processos oxidativos envolvendo radicais livres, diversas estratégias têm sido recomendadas. Dentre as mais importantes estão a atividade física e dieta à base de alimentos funcionais (ASGARY; RASTQAR; KESHVARI, 2018) que, atualmente, são reconhecidos como fatores essenciais na adoção de um estilo de vida saudável (KONSTANTINIDI; KOUTELIDAKIS, 2019).

Evidências epidemiológicas e clínicas indicam que dietas ricas em frutas, vegetais e alguns compostos biologicamente ativos podem reduzir os riscos associados a diversas doenças crônicas. Dentre outros, o uso benéfico destes compostos foi confirmado nos seguintes casos:

1. DCV – resultado da melhora do perfil lipídico sanguíneo (SCARBOROUGH et al., 2012; CHANG et al, 2013);
2. Diabetes – através da redução do nível de glicose no sangue (RASOULI et al, 2017; SHAFI et al., 2019);
3. Insuficiência renal – pela redução da creatinina e da ureia no sangue (SHAFI et al., 2019); e
4. Artrite reumatoide – melhorando a homeostase redox, aumentando a atividade de enzimas antioxidantes e a apoptose de células anormais (ZHANG et al., 2016).

Os compostos bioativos com propriedades antioxidantes têm sido amplamente recomendados por apresentar potenciais benefícios, em particular na redução do estresse oxidativo. Compostos fenólicos ou polifenólicos são os mais abundantes antioxidantes na dieta, presentes em frutas e hortaliças, aos quais são atribuídos mecanismos de prevenção das doenças crônicas mencionadas. No entanto, aspectos como biodisponibilidade dos polifenóis ainda não foram totalmente elucidados. Uma das tendências atuais é o estudo dos subprodutos do processamento de frutas e hortaliças como fontes potenciais de antioxidantes e de fatores que afetam a sua biodisponibilidade. Estes subprodutos contêm, além de antioxidantes, outros nutrientes com reconhecidos efeitos benéficos, como fibras alimentares (TEIXEIRA et al., 2014).

O consumo total de compostos fenólicos em uma dieta balanceada pode chegar a 1,0 grama por dia (RASINES-PEREA et al., 2018). As principais fontes dietéticas destes compostos são as frutas, hortaliças (CHANG et al., 2013) e bebidas de origem vegetal, como chás (ZHAO et al., 2019), sucos, vinhos (ISHIMOTO et al., 2006; PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2008) e café (VICENTE et al., 2014a).

O bagaço de uva, subproduto mais importante da vinificação e produção de sucos, constitui uma excelente fonte de antioxidantes e fibras. Este fato, aliado ao seu baixo custo, confere a este material ampla possibilidade de aplicação como ingrediente funcional. Um número crescente de pesquisas tem explorado os subprodutos da uva como um possível ingrediente alimentar, mas são escassos os relatos comparando os efeitos biológicos entre diferentes espécies de uvas e, principalmente, dos seus bagaços (SOUSA; UCHÔA-THOMAZ; CARIOCA, 2014). Além das aplicações para a saúde, o uso desses subprodutos pode evitar o descarte de grandes quantidades de resíduos dessas indústrias (produção global entre 5 e 9 milhões de toneladas métricas por ano), reduzindo assim os impactos ambientais (SCHIEBER; STINTZING; CARLE, 2001).

As evidências que se acumularam até o presente momento justificam o interesse no bagaço de uva como um produto de alto valor nutricional, com possibilidades de aplicação como ingrediente funcional para alimentos e/ou bebidas, suplemento nutracêutico ou mesmo aditivo antioxidante em substituição a produtos sintéticos. No entanto, há poucos estudos comparativos entre espécies diferentes de uvas. Além disso, não foram encontradas pesquisas brasileiras sobre o aproveitamento dos subprodutos da uva, suas propriedades antioxidantes e seus efeitos metabólicos em sistemas biológicos.

OBJETIVO

Caracterizar o bagaço (cascas e sementes) de duas variedades de uva (Cabernet Sauvignon - *Vitis vinifera* L. e Isabel - *Vitis labrusca* L.) quanto à composição química e avaliar os efeitos hipolipidêmicos e antioxidantes da administração desses bagaços em hamsters.

MÉTODOS

Preparação dos animais

Hamsters Golden Syrian (*Mesocricetus auratus*) machos com 80-90 g providos pelo biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FM-USP) foram mantidos em gaiolas individuais a 20-25 ºC, com ciclos de 12 h claro/escuro. Após cinco dias de adaptação recebendo dieta comercial para roedores e água *ad libitum*, os animais foram aleatoriamente divididos em quatro grupos: C (controle), H (hiperlipidêmico), V (hiperlipidêmico suplementado com farinha de bagaço do vinho) e S (hiprlipidêmico suplementado com farinha de bagaço do suco). Cada grupo recebeu uma dieta especifica e água *ad libitum* por 28 dias.

Os procedimentos com os animais (fornecimento de alimento e água, controle de temperatura e iluminação, troca de maravalha etc) foram realizados no Instituto de Medicina Tropical (IMT-USP), conforme as leis brasileiras. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa FM-USP sob o Protocolo CEP-IMT-04/17.

Preparação do plasma e homogenatos hepáticos

Após o período de 28 dias os animais foram privados de alimentos (15 h), anestesiados, o sangue foi coletado e o plasma separado por centrifugação (3.000 x g, 15 min a 4 ºC). O tecido hepático foi lavado com NaCl 0,9% estéril e congelado em nitrogênio líquido. Os homogenatos hepáticos foram preparados como a seguir (VICENTE et al., 2011): 1,0 g do tecido hepático foi homogeneizado com tampão fosfato (0,1 M, pH 7,0) e centrifugado a 1.000 x g (20 min a 4 °C). A seguir, foi novamente centrifugado a 11.200 x g (20 min a 4 °C), diluído com tampão fosfato e centrifugado à 77.000 x g (60 min a 4 °C). O sobrenadante final foi coletado e estocado à -80 °C.

Preparação das farinhas e extratos

O bagaço (cascas e sementes) de uvas da variedade Cabernet Sauvignon (espécie *Vitis vinifera* L., oriundo da produção de vinho) foi fornecido pela vinícola Miolo S/A (Bento Gonçalves/RS), e o bagaço da variedade Isabel (espécie *Vitis labrusca* L., oriundo da

produção de suco de uva) foi doado pela empresa Produtos Alimentícios Superbom Indústria e Comércio Ltda (Lebon Regis/SC).

Alguns talos da uva que se encontravam misturados ao bagaço foram descartados, de modo que somente as cascas e sementes fossem aproveitadas como matéria prima deste estudo. O bagaço de ambas as uvas foi desidratado por liofilização (-60 ºC) para evitar decomposição. As farinhas, já secas, foram moídas e peneiradas (peneira < 0,42 mm) resultando em dois produtos: FBV (farinha de bagaço da produção de vinho) e FBS (farinha de bagaço da produção de suco de uva). Para reduzir a oxidação lipídica, as farinhas foram desengorduradas utilizando hexano (JAYAPRAKASHA; SINGH; SAKARIAH, 2001) e armazenadas à -20 ºC.

Para as análises de CFT (compostos fenólicos totais), CFI (compostos fenólicos individuais), CTA (conteúdo total de antocianinas) e AA (atividade antioxidante), diferentes extratos foram preparados (KAMMERER et al., 2004). Cinco gramas de FBV ou FBS foram extraídos com metanol/0,1% HCl (2 h, sob N_2, no escuro). O extrato foi centrifugado (4.000 rpm, 10 min), o sobrenadante foi reservado e o resíduo foi reextraído com metanol/0,1% HCl (1 h, sob N_2, no escuro). Os sobrenadantes foram combinados, evaporados (30 ºC, sob vácuo) e os sólidos foram dissolvidos em solução de HCl (pH = 3,0) para produzir o Extrato 1 (determinação de CFT, CTA e AA). A seguir, o Extrato 1 foi tratado com acetato de etila (4 x 20 mL), os extratos foram combinados, evaporados, dissolvidos em água e 5 mL foram aplicados a um cartucho C18 (fase reversa) para extração em fase sólida (Merck-Millipore RP-18). Finalmente, o cartucho foi eluído com 0,01% HCl para produzir o Extrato 2 (determinação de ácidos fenólicos), seguido de acetato de etila para produzir o Extrato 3 (determinação de antoxantinas e trans-resveratrol). Os extratos foram armazenados em ausência de luz a 4 °C.

Conteúdo de fibras

Fibras foram determinadas usando o método enzimático-gravimetrico (PROSKY et al., 1998). Um grama de FBV ou FBS foi tratado com α-amilase termoestável (100 ºC, pH = 6,0 por 30 min), protease (60 ºC, pH = 7,5 por 60 min) e amiloglucosidase (60 ºC, pH = 4,5 por 30 min). Após o tratmento enzimático, a amostra foi filtrada e o resíduo sólido foi lavado com água destilada, etanol e acetona para separar as fibras insolúveis. A solução obtida na filtração foi precipitada com etanol, o precipitado foi filtrado e lavado com etanol e acetona para isolar as fibras solúveis. Os resultados são expressos como g/100g massa seca.

Compostos fenólicos, triglicerídeos e frações de colesterol

Os CFT foram determinados por espectroscopia visível (SINGLETON; ROSSI, 1965). O Extrato 1 foi misturado com 2 mL de água destilada, 0,25 mL do reagente de Folin-Ciocalteu diluído 1:10 (v/v) em água destilada e 0,25 mL de uma solução de Na_2CO_3 (75 g/L). Após 30 min, a absorção foi lida em 750 nm e os resultados expressos como mg ácido gálico equivalente/g (ou GAE/g) massa seca usando uma curva de calibração (0,01 a 0,05 g/L de ácido gálico).

O CTA foi determinado por espectroscopia visível usando o método pH-diferencial (GIUSTI; WROLSTAD, 2001). Duas amostras do Extrato 1 foram diluídas, tamponadas a pH 1,0 (tampão 0,025 M de KCl) e pH 4,5 (tampão 0,4 M de acetato de sódio), sendo suas absorções (A) lidas em 520 nm (λ_{max}) e 700 nm (correção de turbidez). O CTA foi calculado usando as seguntes equações:

$$A\ (AU) = (A_{520} - A_{700})_{pH\ 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{pH\ 4.5}$$

CTA (mg/g) = (A x MW x DF x 1000) / ε onde MW = 463,3 g/mol (peso molecular da malvidina-3-glucosídeo), DF = fator de diluição e ε = coeficiente de extinction molar da malvidina-3-glucosídeo (28.000 L/cm.mol). Os resultados são expressos em mg/g de malvidina-3-glucosídeo equivalente (mg/g MGE) massa seca.

Os ácidos gálico, caftárico, coutárico e ferúlico foram quantificados por DAD-HPLC (KAMMERER et al., 2004) usando um sistema de HPLC equipado com uma coluna C18 (fase móvel A = água/ácido acético 98:2, fase móvel B = água/acetonitrila/ácido acético 49:49:2). O fluxo foi 1,0 mL/min como a seguir: de 10 a 15% B (10 min), 15% B isocrático (3 min), de 15 a 25% B (7 min), de 25 a 55% B (30 min), de 55 a 100% B (1 min), 100% B isocrático (5 min). O volume de injeção foi 20 µL (Extrato 2). O ácido gálico foi detectado em 280 nm enquanto que os ácidos ferúlico, caftárico e coutárico foram detectados em 320 nm. Os ácidos gálico e ferúlico foram quantificados usando curvas de calibração específicas com os resultados expresos como mg/100g base seca. Os ácidos caftárico e coutárico foram quantificados usando a curva de calibração do ácido ferúlico e os resultados são expressos como mg/100g ácido ferúlico equivalente (g/100g FAE) massa seca. O método foi previamente padronizado (recuperação, limite de detecção e limite de quantificação).

Catequina, epicatequina, rutina, quercetina, quempferol e trans-resveratrol foram determinados por DAD-HPLC (ROCKENBACH et al., 2011) usando o mesmo equipamento e coluna analítica acima mencionados (fase móvel A = água/THF/ácido acético 97,8:2,0:0,2, fase móvel B = metanol/THF/ácido acético 97,8:2,0:0,2). O fluxo foi de 1,0 mL/min como a seguir: 17% B isocrático (2 min), de 17 a 25% B (5 min), de 25 a 35% B (8 min), de 35 a 50% B (5 min). O volume de injeção foi 20 µL (Extrato 3) sendo as substâncias medidas em 270 nm. Catequina, epicatequina, trans-resveratrol and quercetina foram quantificadas

usando curvas de calibração específicas e os resultados foram expressos como mg/100g massa seca. Rutina e quempferol foram quantificados usando a curva de calibração da quercetina e os resultados são expressos como mg/100g quercetina equivalente (g/100g QE) massa seca. O método foi previamente padronizado.

As concentrações de triglicerídeos (TG), colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade-colesterol (HDL-c) e não HDL-c foram enzimaticamente determinadas no plasma (ABEL et al, 1958) usando o kit Cobas-Cardio® para lipídios (Roche - USA). As análises foram realizadas usando um analisador bioquímico (Cobas MIRA, Roche Diagnostics, USA) e os resultados são relatados como mg/dL. Não HDL-c foi calculada como CT menos HDL-c.

Atividade antioxidante e biomarcadores hepáticos

O valor da AA das farinhas foi determinado pelo ensaio DPPH (YAMAGUCHI et al., 1998). O Extrato 1 foi diluído em metanol de modo a resultar uma solução com 1,0 g/L de massa seca. A seguir, 0,75 mL desta solução foi misturada com 1,5 mL de DPPH (20 mg/L em metanol) e a absorbância foi lida em 517 nm entre 0 e 20 min. Um branco foi preparado substituindo a solução de DPPH pelo mesmo volume de metanol e os resultados foram expressos como % AA.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi medida por espectroscopia visível (WOOLLIAMS et al, 1983), usando o kit Ransod® (Randox Laboratories Ltd., UK). A atividade da catalase (Cat) foi medida por espectroscopia ultravioleta (AEBI, 1984). Os homogenatos hepáticos foram diuídos com tampão fosfato (75 mM, pH 7,4). As atividades da SOD e Cat estão expressas como unidades por miligrama de proteina (U/mg proteina). O conteúdo de proteínas requerido para os cálculos foi determinado usando albumina de soro bovino (BSA) como padrão (BRADFORD, 1976).

As análises de Western Blotting foram feitas como previamente descrito (VICENTE; ISHIMOTO; TORRES, 2014b). Para estes testes, 10 µL da fração citosólica foi submetida à SDS em gel para eletroforese. As proteínas foram transferidas para uma membrana de PVDF com tampão Tris-HCl (com 20% de metanol) e a membrana foi lavada com tampão Tris-HCl (com 0,05% de Tween-20). Os sítios livres de ligações foram bloqueados com leite em pó desnatado, a membrana de PVDF foi incubada com agente policlonal para Nrf2, lavada com tampão Tris-HCl, incubada com anticorpo IgG conjugado com peroxidase de raiz-forte ("*horseradish peroxidase*") e lavada com tampão Tris-HCl. A quimioluminescência foi medida e os resultados foram ajustados ao nível correspondente do controle interno β-actina.

Aspartato transaminase (AST) e alanina transaminase (ALT) foram medidas no plasma por espectroscopia visível (REITMAN; FRANKEL, 1957) usando seus respectivos kits

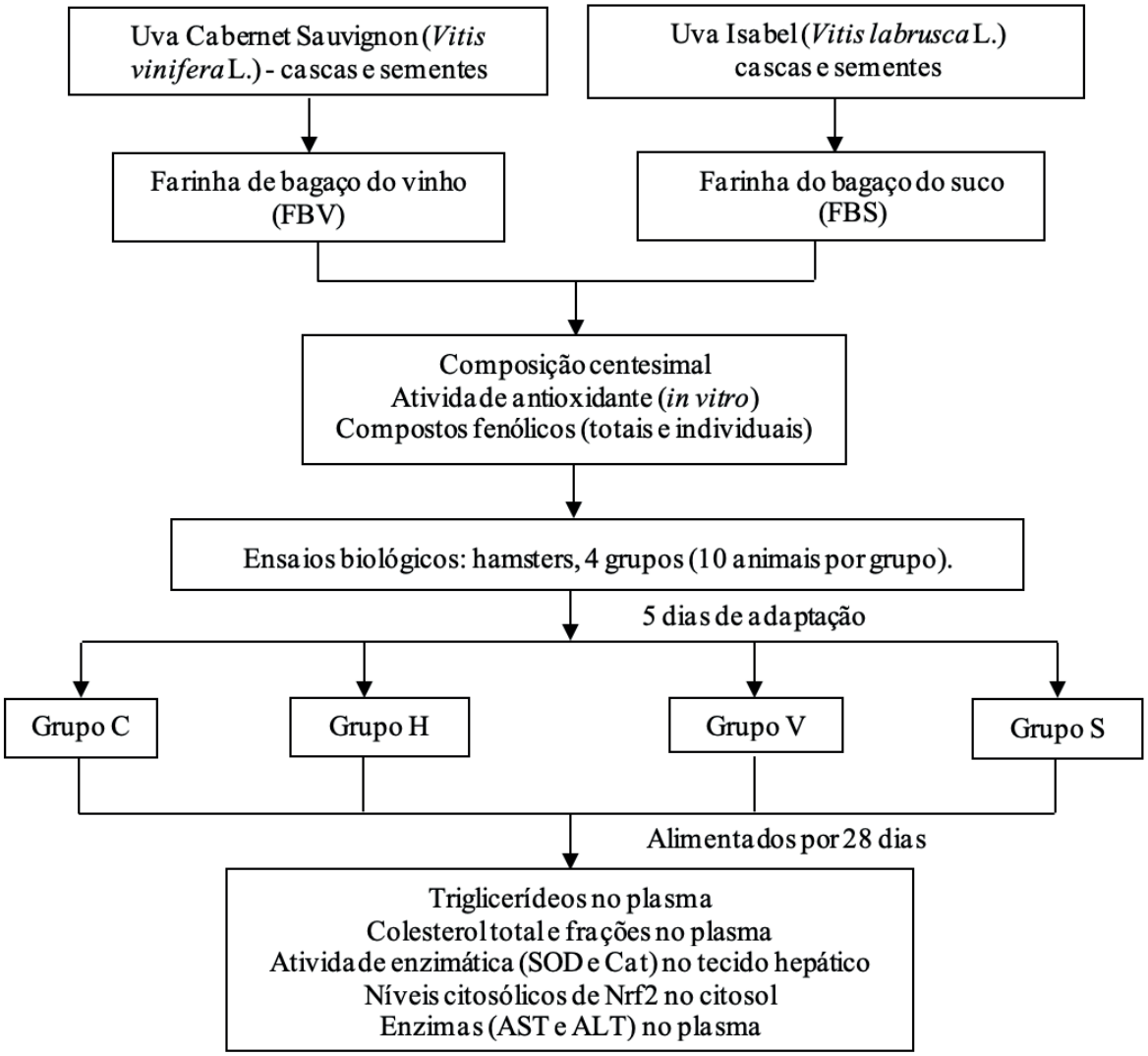
(LabTest, Brazil). Ambas as transaminases foram determinadas usando uma curva de calibração (0 a 200 IU/L) e os resultados são expressos em IU/L.

Análise estatística

Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos como média ± desvio padrão. One-way analysis of variance (ANOVA) com o teste de Duncan foram aplicados para estimar diferenças entre as médias ($P < 0,05$). Correlações foram feitas pelo teste de Pearson. O programa The Statistical Package for the Social Sciences 16.0 (SPSS) foi usado para estes cálculos.

O fluxograma geral demonstrando todas as etapas do protocolo experimental está apresentado na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma ilustrando a realiação do projeto. C = controle; H = hiperlipidêmico; V = hiperlipidêmico suplementado com 20% de farinha de bagaço de vinho; S = hiperlipidêmico suplementado com 20% de farinha de bagaço de suco de uva.



RESULTADOS

Ensaio biológico

Quatro grupos de hamsters foram alimentados por 28 dias com diferentes dietas: o grupo C recebeu dieta comercial para roedores, o grupo H recebeu dieta hiperlipidêmica rica em gordura saturada e colesterol, o grupo V recebeu a mesma dieta hiperlipidêmica suplementada com 20% de FBV e o grupo S recebeu a mesma dieta hiperlipidêmica suplementada com 20% de FBS. A composição de cada dieta pode ser vista na Tabela 1.

Tabela 1. Composição das dietas (g/100g massa seca) fornecidas aos animais.

Grupo	C	H	V	S
Caseína	20,00	20,00	16,00	16,00
Óleo de soja*	11,10	-	-	-
Gordura de coco**	-	11,00	11,00	11,00
Colesterol	-	0,10	0,10	0,10
Celulose	5,00	5,00	4,00	4,00
Amido de milho	48,35	48,35	36,46	36,46
Sacarose	10,00	10,00	8,00	8,00
Minerais (AIN-93)	4,00	4,00	3,20	3,20
Vitaminas (AIN-93)	1,00	1,00	0,80	0,80
L-Cistina	0,30	0,30	0,24	0,24
Bitartarato de colina	0,25	0,25	0,20	0,20
FBV	-	-	20,00	-
FBS	-	-	-	20,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

C = controle; H = hiperlipidêmico; V = hiperlipidêmico suplementado com 20% de farinha de bagaço do vinho; S = hiperlipidêmico suplementado com 20% de farinha de bagaço do suco. *Ácidos graxos do óleo de soja (g/100g ácidos graxos): $C_{14:0}$ = 0,19; $C_{16:0}$ = 10,26; $C_{18:0}$ = 4,84; $C_{20:0}$ = 0,38; $C_{16:1}$ = 0,18; $C_{18:1}$ = 26,01; $C_{18:2}$ = 49,87; $C_{18:3}$ = 7,74; outros = 0,53. **Ácidos graxos do óleo de coco (g/100g ácidos graxos): $C_{6:0}$ = 0,66; $C_{8:0}$ = 5,76; $C_{10:0}$ = 8,07; $C_{12:0}$ = 46,04; $C_{14:0}$ = 18,69; $C_{16:0}$ = 9,35; $C_{18:0}$ = 2,91; $C_{20:0}$ = 0,30; $C_{16:1}$ = 0,32; $C_{18:1}$ = 7,22; $C_{18:2}$ = 0,32; outros = 0,36.

Ao final dos 28 dias, os consumos médios dos grupos C e H foram de 9,82 ± 0,35 g / dia e 9,32 ± 0,50 g / dia de suas respectivas dietas. Após o mesmo período, os consumos médios dos grupos V e S foram de 10,50 ± 2,11 g / dia e 9,71 ± 1,70 g / dia, respectivamente.

Composição das farinhas

As farinhas FBV e FBS prontas para os ensaios apresentaram colorações diferenciadas em função do perfil dos compostos presentes nas respectivas uvas (Figura 2).

Figura 2. Farinhas de bagaço da produção de vinho (FBV à esquerda) e de suco (FBS à direita).

As fibras foram o principal componente (em massa) encontrado em ambas as farinhas. A comparação dos resultados médios (expressos como % p/p) mostrou diferenças significativas para proteínas, lipídios, fibras e carboidratos (calculados por diferença). Quanto ao teor de cinzas, foi verificada diferença não significativa (Tabela 2).

Tabela 2. Composição centesimal base seca das FBV e FBS.

Componente	FBV (% média ± DP)	FBS (% média ± DP)
Umidade	4,4 ± 0,50	9,8 ± 0,34
Cinzas	6,6 ± 1,30	5,3 ± 0,19
Proteínas	13,6 ± 0,17	9,4 ± 0,29
Lipídios	8,9 ± 0,24	10,0 ± 0,40
Fibras totais	64,1 ± 3,4	49,5 ± 7,2
Fibras solúveis	3,4 ± 0,5	7,8 ± 2,1
Fibras insolúveis	60,7 ± 2,2	41,7 ± 7,2
Carboidratos*	6,8	25,8

* Calculado por diferença. FBV= farinha de bagaço do vinho; FBS= farinha de bagaço do suco.

Compostos fenólicos nas farinhas

As médias dos CFT foram 61,58 ± 2,88 mg GAE/g na FBV e 105,20 ± 3,81 mg GAE/g na FBS, com diferenças estatisticamente significantes. Possíveis explicações para estas diferenças estão relacionadas à etapa de extração durante a produção industrial e à composição das uvas que depende do cultivar, estresses ambientais (radiação UV, patógenos, danos mecânicos etc.), safra, condição do solo e partes das uvas utilizadas nos testes (XU et al., 2016; RASINES-PEREA et al., 2018). A etapa de extração durante a produção de vinho leva vários dias enquanto que a mesma etapa dura aproximadamente 1 hora na produção de suco de uva. Considerando que a maioria dos compostos fenólicos é solúvel em água, quanto mais longo for o tempo de processamento, mais efetiva será a extração destas substâncias das farinhas. Como consequência, os CFT foram consideravelmente mais altos na FBS do que na FBV.

Importantes CFI foram identificados nas duas farinhas (Tabela 3). Em concordância com os resultados de CFT, as concentrações da maioria dos CFI mostraram resultados superiores na FBS do que na FBV e as possíveis razões já foram previamente mencionadas (etapa de extração e composição das uvas). Estudos têm demonstrado que os teores de compostos fenólicos em uvas variam de safra para safra. Apesar deste fato, os resultados obtidos no presente estudo foram comparáveis aos encontrados em outra publicação utilizando as mesmas uvas brasileiras das variedades Cabernet Sauvignon e Isabel (ROCKENBACH et al., 2011).

Tabela 3. Compostos fenólicos encontrados na FBV e FBS.

Componentes	FBV	FBS
Antocianinas totais[1]	9,34 ± 0,22[a]	3,87 ± 0,30[b]
Ácido gálico[2]	4,11 ± 0,37[a]	24,21 ± 0,55[b]
Ácido caftárico[3]	43,65 ± 2,09[a]	32,88 ± 2,12[b]
Ácido coutárico[3]	11,34 ± 1,20[a]	28,54 ± 2,67[b]
Ácido ferúlico[2]	1,04 ± 0,23[a]	5,31 ± 0,23[b]
Catequina[2]	86,16 ± 1,72[a]	62,39 ± 0,80[b]
Epicatequina[2]	22,44 ± 0,72[a]	53,18 ± 0,99[b]
Rutina[4]	15,00 ± 0,49[a]	29,93 ± 0,23[b]
Quercetina[2]	12,37 ± 1,06[a]	32,52 ± 1,51[b]
Quempferol[4]	3,67 ± 0,98[a]	9,04 ± 0,32[b]
trans-Resveratrol[2]	2,63 ± 0,33[a]	3,50 ± 0,41[b]

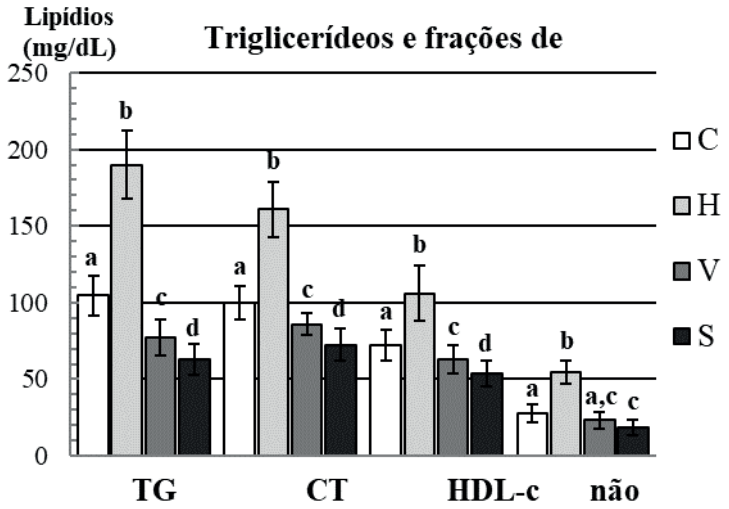
FBV= farinha de bagaço do vinho; FBS= farinha de bagaço do suco. 1 = mg/100g malvidina-3-glucosídeo equivalente; 2 = mg/100g; 3 = mg/100g ácido ferúlico equivalente; 4 = mg/100g quercetina equivalente. Letras superscritas diferentes na mesma linha indicam diferenças estatisticamente significantes (n = 5, P < 0,05).

Estes resutados revelaram que as farinhas contêm altos níveis de compostos fenólicos e de fibras alimentares, sugerindo que as mesmas possuem propriedades hipolipidêmicas e antioxidantes.

Triglicerídeos e colesterol

As análises das amostras de TG no plasma indicaram o valor médio de 104,5 mg/dL no grupo C e 189,9 mg/dL no grupo H, demonstrando que a dieta hiperlipidêmica provocou um aumento significativo de TG no plasma dos animais do grupo H. Já as médias obtidas nos grupos V e S (que receberam a mesma dieta hiperlipidêmica do grupo H suplementada com diferentes frações da uva) foram notáveis visto que houveram reduções significativas de TG em 26,1% no grupo V e 39,5% no grupo S em relação ao grupo controle, como pode ser visto na Figura 3.

Figura 3. Triglicerídeos (TG), colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade-colesterol (HDL-c), lipoproteína de não alta densidade-colesterol (não HDL-c) em hamsters após 28 dias de ensaio. C = controle; H = hiperlipidêmico; V = hiperlipidêmico suplementado com farinha de bagaço de vinho; S = hiperlipidêmico suplementado com farinha de bagaço de suco. Letras sobrescritas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (n = 10, P <0,05).



A redução do CT plasmático foi outro benefício evidente observado neste estudo. O CT médio foi de 99,7 ± 11,1 mg/dL no grupo C e 160,8 ± 18,3 mg/dL no grupo H, indicando que a dieta hiperlipidêmica também ocasionou aumento significativo do CT nos animais do grupo H. No entanto, os níveis de CT nos grupos V (redução de 13,7%) e S (redução de 27,5%) foram inferiores aos observados no grupo controle, sugerindo um decréscimo significativo do colesterol plasmático pela administração das farinhas de bagaço de uva (Figura 3).

Na sequência, observou-se que as médias da fração não HDL-c seguiram a mesma tendência observada para CT. Os níveis médios de não HDL-c foram 22,6 ± 6,0 mg/dL no grupo C e 54,7 ± 7,3 mg/dL no grupo H, aumento este coerente com a maior concentração plasmática de CT neste grupo. As médias dos grupos V e S suplementados com as farinhas de bagaço de uva apresentaram valores compatíveis com a redução de CT já exposta, observando-se no grupo V uma redução de 15,3% (estatisticamente diferente do grupo H) enquanto que a média do grupo S mostrou redução de 32,4% (estatisticamente diferente do grupo C) como visto na Figura 3. Deve-se ressaltar que estes dois grupos receberam a mesma dieta rica em lipídios/colesterol do grupo H.

Com relação ao HDL-c, os resultados devem ser interpretados por uma abordagem diferente, uma vez que essa lipoproteína é ativada como uma resposta defensiva ao excesso de colesterol no plasma. As médias de HDL-c foram 72,2 ± 10,1 mg/dL no grupo C e 106,1 ± 18,1 mg/dL no grupo H, indicando um aumento estatisticamente significativo do transporte reverso de colesterol em resposta a uma exposição excessiva a essa substância. Em conformidade com os resultados já apresentados para CT, níveis reduzidos de HDL-c foram observados nos grupos V (redução de 13,2%) e S (redução de 32,4%), a despeito dos animais terem sido alimentados com a mesma dieta rica em colesterol, porém suplementados com as farinhas de bagaço de uva (Figura 3).

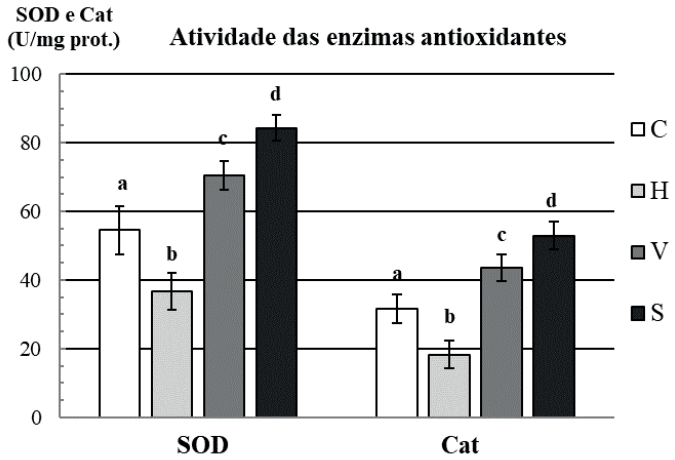
Condição antioxidante, nível citosólico de Nrf2 e biomarcadores hepáticos

O segundo objetivo do presente estudo foi avaliar as propriedades antioxidantes das farinhas. O Extrato 1 (ver Métodos) diluído em metanol foi analisado utilizando a técnica de DPPH e a atividade antioxidante média foi 90,8 ± 1,8% na FBS e 77,5 ± 1,3% na FBV, apresentando uma diferença estatisticamente significativa entre estas duas médias ($P < 0,05$). Estes valores obtidos são bastante elevados, indicando que ambas as farinhas possuem importante atividade antioxidante natural.

Na etapa subsequente, as atividades das enzimas SOD e Cat foram determinadas no tecido hepático. Após o período de 28 dias, a atividade média da SOD foi 54,5 ± 7,1 U/mg proteína e a atividade média da Cat foi 31,7 ± 4,2 U/mg proteína no groupo C, enquanto que o grupo H exibiu reduções de 33,6% para a SOD e 42,3% para a Cat (Figura 4).

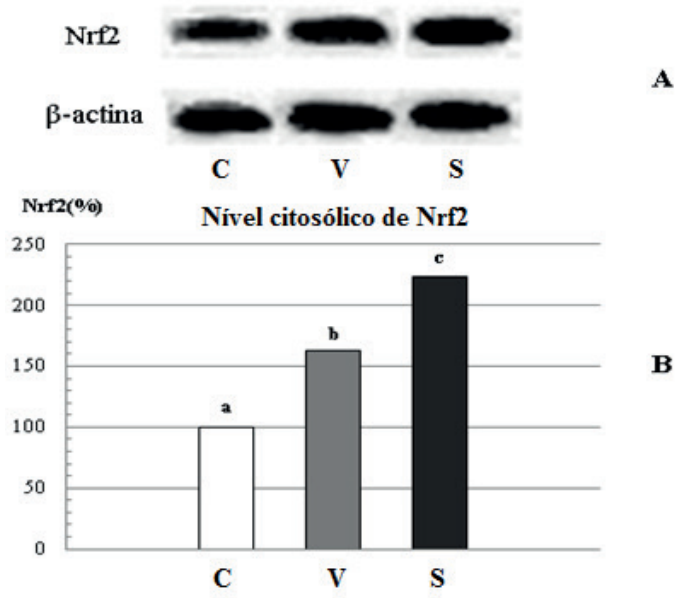
Em contraste, atividades elevadas para a SOD e Cat foram observadas nos grupos V (SOD +29,2%, Cat +37,2%) e S (SOD +54,7%, Cat +66,9%) como exibido na Figura 4, aumentando as defesas contra o estresse oxidativo nestes grupos. O teste de Pearson foi aplicado para avaliar possíveis correlações entre os CFT e as atividades da SOD ou Cat e correlações significantes, positivas e lineares foram observadas entre CFT e SOD ($r = 0,998$; $P = 0,038$) e entre CFT e Cat ($r = 0,999$; $P = 0,021$), indicando a relevância dos CFT na homeostase redox.

Figura 4. Atividade antioxidante enzimática (SOD = superoxide dismutase; Cat = catalase) após 28 dias de testes. C = controle; H = hiperlipidêmico; V = hiperlipidêmico suplementado com farinha de bagaço de vinho; S = hiperlipidêmico suplementado com farinha de bagaço de suco. Letras sobrescritas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (n = 10, P <0,05).



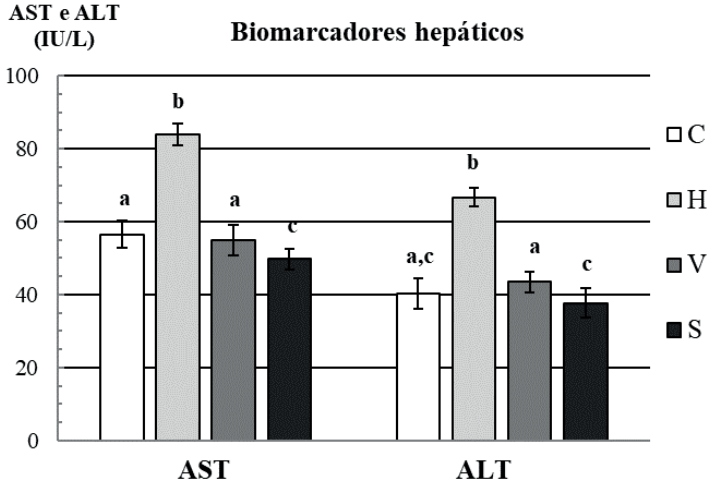
Como a importância da Nrf2 na transcrição da SOD e da Cat já foi estabelecida (GIUDICE; MONTELLA, 2006; VICENTE; ISHIMOTO; TORRES, 2014b; PALL; LEVINE, 2015), foi essencial verificar se as farinhas de bagaço de uva poderiam afetar a concentração citosólica desta proteína. As concentrações da Nrf2 nos grupos C, V e S foram determinadas usando a técnica Western Blotting, e os resultados demonstraram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos (Figura 5).

Figura 5. Concentração citosólica de Nrf2 após 28 dias de teste. A = "blot" típico; B = resultados da análise densitométrica. C = controle; H = hiperlipidêmico; V = hiperlipidêmico suplementado com farinha de bagaço de vinho; S = hiperlipidêmico suplementado com farinha de bagaço de suco. Letras sobrescritas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (n = 3, P <0,05).



Na última etapa, a hepatotoxicidade das farinhas foi investigada pela quantificação das proteínas AST e ALT no plasma. Após o período de 28 dias, as médias das AST e ALT foram 56,5 ± 3,7 e 40,3 ± 4,2 IU/L no grupo C enquanto o grupo H apresentou 83,9 ± 3,1 e 66,7 ± 2,6 IU/L, representando aumentos de 48,5% e 65,5% comparados ao grupo C (Figura 6), o que sugere a ocorrência de danos hepáticos. Em contraste, os resultados obtidos nos grupos V e S foram iguais ou inferiores aos resultados do grupo C, indicando que as farinhas não promoveram danos hepáticos mesmo após os animais serem expostos a uma dieta com alto conteúdo de lipídios/colesterol por 28 dias (Figura 6).

Figura 6. Níveis plasmáticos dos biomarcadores hepáticos (AST = aspartato transaminase; ALT = alanina transaminase) após 28 dias de teste. C = controle; H = hiperlipidêmico; V = hiperlipidêmico suplementado com farinha de bagaço de vinho; S = hiperlipidêmico suplementado com farinha de bagaço de suco. Letras sobrescritas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (n = 10, P <0,05).



DISCUSSÃO

Composição e compostos fenólicos nas farinhas

Como apresentado na Tabela 2, o alto teor de fibras sugere que ambas as farinhas (FBV e FBS) apresentam substâncias hipolipidêmicas e antioxidantes uma vez que as fibras da uva contêm quantidades consideráveis de procianidinas, ácidos fenólicos e taninos (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2008; BLADÉ et al., 2010).

Com relação aos altos conteúdos de compostos fenólicos em ambas as uvas, foram possíveis presumir os seguintes pontos:

1. Ambas as farinhas apresentaram elevadas quantidades de trans-resveratrol e, desta maneira, podem ser consideradas interessante alternativas para pessoas com riscos de DCV (hiperlipidêmicos, hipertensivos, diabéticos ou pessoas com histórico familiar). Como esta substância é capaz de reduzir as concentrações de LDL-c, LDL-ox e ApoB, ela pode ser usada como tratamento preventivo ou terapêutico contra as DCV (TOMÉ-CARNEIRO et al., 2012). Adicionalmente, o trans-resveratrol apresenta rápida absorção, boa biodisponibilidade e estabilidade biológica uma vez que é encontrado inalterado na corrente sanguínea e na urina após a ingestão de alimentos contendo esta substância (FORESTER; WATERHOUSE, 2009).
2. O conteúdo de ácidos fenólicos (soma dos ácidos gálico, caftárico, coutárico e ferúlico) foi 50% mais alto na FBS (90,94 mg/100g) do que na FBV (60,14 mg/100g). De acordo com a literatura, estes compostos auxiliam na melhora do status antioxidante agindo como fatores de transcrição indiretos, aumentando a transcrição de enzimas antioxidantes através da rota do Nrf2 (GIUDICE; MANTELLA, 2006; VICENTE; ISHIMOTO; TORRES, 2014b) e desta forma, aumentando as defesas antioxidantes.
3. Apesar da extração mais longa durante a produção de vinho, o CTA foi 2,4 vezes maior na FBV do que na FBS como visto na Tabela 2.
4. Os altos níveis de flavonoides (principalmente catequina e epicatequina) sugerem que ambas as farinhas podem auxiliar na melhora da homeostase lipídica afetando a absorção intestinal dos lipídios, a síntese dos quilomicrons, a produção de VLDL e a eliminação intestinal de colesterol (BLADÉ et al, 2010). Adicionalmente, flavonoides presentes nas sementes das uvas promovem a expressão hepática do SHP (small heterodimer partner) resultando nos seguintes efeitos hipolipidêmicos: 1) Redução dos ácidos graxos, TG e colesterol no plasma regulando para baixo genes como SREBP-1c (steroidal response element binding protein 1c), 3-HMG-CoA

sintetase (3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A synthetase), acyl-CoA sintetase, ácido phosphatase 2a fosfatídica e estearoil-coenzima A desnaturase; 2) Aumento do metabolismo de ácidos graxos através da β-oxidação regulando para cima a carnitine palmitoil-transferase-1A, a apolipoprotein-A5 enhancer binding protein b e a phospholipid transfer protein; 3) Redução da secreção hepática de ApoB através da inibição da rota de sinalização da PI3K (phosphatidyl inositol-3 kinase) e da MAPK (mitogen-activated protein kinase), dentre outros (DEL BAS et al., 2008).

Perfil lipídico

Os resultados obtidos quanto ao perfil lipídico são bastante evidentes e promissores, indicando que os animais dos grupos V e S foram protegidos contra os efeitos deletérios da administração de uma dieta rica em triglicerídeos saturados e colesterol. Este efeito protetor pode ser associado à alta concentração de compostos fenólicos e fibras alimentares nas farinhas.

Conforme teorias amplamente publicadas em trabalhos científicos, há evidências que esses resultados foram mediados por diversos mecanismos como: 1) Os compostos fenólicos reduzem a absorção de gordura da dieta no intestino por diminuir a concentração pós-prandial de quilomícrons (PÉREZ-GIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2008; BLADÉ et al., 2010); 2) As fibras alimentares reduzem a absorção intestinal de TG, aumentando sua excreção (LEE et al., 2003; BLADÉ et al., 2010); 3) As fibras alimentares interferem na atividade do LDL-c, aumentando os receptores hepáticos e reduzindo os TG plasmáticos (PÉREZ-GIMÉNEZ et al., 2008); 4) Os compostos fenólicos formam complexos com a bile, causando o rompimento de micelas (PÉREZ-GIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2008); 5) Compostos fenólicos, como as procianidinas, inibem a secreção hepática de VLDL-c, reduzindo os lipídios plasmáticos (BLADÉ; AROLA; SALVADÓ, 2010); 6) Certos compostos fenólicos presentes nos subprodutos da uva (principalmente nas sementes) aumentam a β-oxidação e reduzem a secreção de ApoB (DEL BAS et al., 2008).

Os mecanismos pelos quais os compostos fenólicos reduzem o colesterol plasmático já foram amplamente estudados. Diferentes fenólicos são capazes de inibir a síntese da 3-HMG-CoA redutase, enzima-chave na biossíntese endógena do colesterol. A baixa produção de colesterol aumenta a transcrição dos receptores de membrana responsáveis pela captação de lipoproteínas ricas em colesterol reduzindo as quantidades circulantes no plasma (PAL et al, 2003). Além disso, diferentes substâncias presentes nas uvas aumentam a oxidação e remoção hepática de colesterol, aumentando a excreção fecal de colesterol e ácidos biliares (PÉREZ-GIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2008; PÉREZ-GIMÉNEZ et al., 2008).

Verificou-se também de maneira incisiva que as frações da uva foram eficientes na redução do HDL-c e do não-HDL-c plasmático sendo que os mecanismos mencionados no parágrafo anterior corroboram essa conclusão, pois a redução do CT plasmático estimula

os receptores desta substância reduzindo a necessidade do transporte reverso do colesterol para o fígado a fim de promover sua metabolização e subsequente eliminação.

Os achados do presente estudo são compatíveis a outras publicações que demonstraram a efetividade de melhorar o perfil lipídico no sangue de roedores usando plantas, subprodutos agrícolas ou compostos fisiologicamente ativos (DAI et al., 2013; LIN et al., 2013; AL-MANSOUB; ASMAWI; MURUGAIYAH, 2014; SARFRAZ et al., 2019).

Assim, esses resultados indicam que as farinhas de bagaço de uva oferecem uma alternativa nutricional natural, adicional e valiosa a ser aplicada pelos profissionais de saúde.

Capacidade antioxidante, enzimas antioxidantes e marcadores hepáticos

Os resultados mostraram que ambas as farinhas apresentaram intensas características antioxidantes, provavelmente pelos seus altos teores de compostos fenólicos e fibras dietéticas antioxidantes (ricas em compostos fenólicos) que são capazes de doar radicais hidrogênio (LEE et al., 2003), reduzindo o DPPH* a DPPH-H. Este achado sugere o possível uso da FBV e FBS como um suplemento funcional para reduzir o estresse oxidativo, reduzindo ou evitando a oxidação da LDL a LDL-ox, que já é reconhecido como um potente agente aterogênico (HSU et al., 2008; AGBOR et al., 2012).

Muito importante também foi a verificação que o fornecimento de dieta hiperlipidêmica reduziu de forma aguda a atividade das enzimas antioxidantes SOD e Cat provavelmente pela ocorrência de severa oxidação lipídica, fato já mencionado na literatura após alimentar os animais com dietas ricas em lipídios e colesterol (CHANG et al., 2013; DAI et al., 2013; LIN et al., 2013). Estas dietas e suas alterações plasmáticas certamente criam um ambiente celular oxidativo devido à redução das defesas endógenas enzimáticas e consequente aumento de radicais livres (LEE et al., 2003; VICENTE et al., 2011), criando um risco severo para o organismo.

Uma explicação plausível para o aumento da atividade antioxidante enzimática após a administração das farinhas de uva é o fato de que alguns compostos fenólicos (como os ácidos cafêico, ferúlico e cumárico) atuam como fatores indiretos de transcrição gênica, ativando diferentes quinases que fosforilam o Nrf2, desta maneira liberando este composto de seu complexo inibidor citoplasmático Keap1-Nrf2. As mudanças químicas e estruturais resultantes desta fosforilação permite a translocação do Nrf2 para o núcleo das células onde ele se liga ao ARE/EpRE (elemento de resposta antioxidante/elemento eletrofílico de resposta) região promotora de gene, aumentando a transcrição das enzimas defensivas incluindo a SOD e a Cat (GIUDICE; MONTELLA, 2006; VICENTE; ISHIMOTO; TORRES, 2014b; PALL; LEVINE, 2015).

Outro resultado também aferido foi o aumento dos níveis de Nrf2, o que certamente aumentou sua translocação para o núcleo, ativando os genes ARE/EpRE, aumentando a expressão da SOD e da CAT, resultando em atividades aumentadas destas enzimas defensivas e melhorando o status antioxidante. É importante mencionar que atividades aumentadas da SOD e da Cat também proteje contra a formação de placas ateroscleróticas. Estas enzimas antioxidantes são efetivas eliminadoras de espécies reativa do oxigênio, protegendo a LDL de ser oxidada a LDL-ox (um potente agente aterogênico), inibindo a formação de células de espuma e o subsequente desenvolvimento da aterosclerose (HSU et al, 2008; AGBOR et al, 2012). Resultados similares foram obtidos em outros estudos envolvendo a relação entre compostos fenólicos, enzimas antioxidantes e Nrf2 (CHANG et al., 2011; VICENTE; ISHIMOTO; TORRES, 2014b; KRAJKA-KUZNIAK et al., 2015).

O presente estudo indicou também que dietas hiperlipidêmicas podem promover danos hepáticos caracterizados pelo vazamento das enzimas AST e ALT (presentes nos hepatócitos) para o plasma. Estudos utilizando dietas hiperlipidêmicas têm demonstrado altos níveis plasmáticos de AST e ALT e este fato pode ser associado à excessiva acumulação de lipídios no tecido hepático, o que causaria extensa peroxidação lipídica, deflagrando o estresse oxidativo e consequentemente inflamação e esteatose hepática (CHANG et al., 2011; CHANG et al., 2013; LIN et al., 2013).

Os excelentes resultados obtidos para TG e CT protegeram os hepatócitos contra o acúmulo de lipídios e subsequente peroxidação, enquanto que as atividades aumentadas da SOD e da Cat reduziram o estresse oxidativo, preservando a integridade das células hepáticas.

CONCLUSÃO

Este estudo mostrou que ambas as farinhas contêm significativas quantidades de fibras alimentares, CFT e CFI, o que só por si, fornece substâncias antioxidantes e antilipidêmicas. A ingestão destas farinhas melhorou o perfil lipídico reduzindo o TG e o CT plasmático. Adicionalmente, as farinhas não interferiram no transporte reverso do colesterol e significativamente melhoraram o status antioxidante, exibindo altas atividades das enzimas SOD e Cat mesmo após a administração de uma dieta hiperlipidêmica, evitando o estresse oxidativo e a consequente inflamação e esteatose do tecido hepático, o que foi verificado por níveis normais das proteínas AST e ALT nos grupos V e S. As farinhas aumentaram significativamente as concentrações citosólicas de Nrf2, justificando as altas atividades da SOD e da Cat nos grupos V e S. Finalmente, correlações lineares foram encontradas entre os CFT e a SOD e entre os CFT e a Cat, sugerindo que os compostos fenólicos são fundamentais para aumentar as concentrações e consequentes atividades destas enzimas

antioxidantes. Em conjunto, os resultados sugerem que estes subprodutos da uva podem ser interessantes alternativas em função dos efeitos benéficos à saúde e baixo custo.

REFERÊNCIAS

1. ABELL, L. L. et al. Cholesterol in serum. In D. Seligsom (Ed.), **Standard Methods of Clinical Chemistry** (pp. 26-33). Cambridge: Academic Press, 1958.

2. AEBI, H. Catalase *in vitro.* In L. PACKER (Ed.), **Methods in Enzymology** (pp. 121-126). Amsterdam: Academic Press, 1984.

3. AGBOR, G. A. et al. *Piper* species protect cardiac, hepatic and renal antioxidant status of atherogenic diet fed hamsters. **Food Chemistry***,* 134, 1354-1359, 2012.

4. AL-MANSOUB, M. A.; ASMAWI, M. Z.; MURUGAIYAH, V. Effect of extraction solvents and plant parts used on the antihyperlipidemic and antioxidant effects of *Garcinia atroviridis*: a comparative study. **Journal of the Science of Food and Agriculture,** 94(8), 1552-1558, 2014.

5. ASGARI, S.; RASTQAR, A.; KESHVARI, M. Functional Food and Cardiovascular Disease Prevention and Treatment: A Review. **Journal of the American College of Nutrition,** 37(5): 429-455, 2018.

6. BLADÉ, C.; AROLA, L.; SALVADÓ, M. J. Hypolipidemic effects of proanthocyanidins and their underlying biochemical and molecular mechanisms. **Molecular Nutrition and Food Research***,* 54, 37-59, 2010.

7. BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry,** 72, 248-254, 1976.

8. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. **Saúde Brasil 2018 uma análise de situação de saúde e das doenças e agravos crônicos: desafios e perspectivas** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos Não Transmissíveis e Promoção da Saúde – Brasília: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude_brasil_2018_analise_situacao_saude_doencas_agravos_cronicos_desafios_perspectivas.pdf Acesso em: nov/2020.

9. CHANG, Y. Y. et al. Preventive effects of taurine on development of hepatic steatosis induced by a high-fat/cholesterol dietary habit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry***,* 59, 450-457, 2011.

10. CHANG, Y. Y. et al. Antioxidative and anti-inflammatory effects of polyphenol-rich litchi (*Litchi chinensis* Sonn.)-flower-water-extract on livers of high-fat-diet fed hamsters. Journal of Functional Foods*,* 5, 44-52, 2013.

11. DA COSTA J.P. et al. A synopsis on aging-Theories, mechanisms and future prospects. **Ageing Research Reviews,** 29: 90-112, 2016.

12. DAI, F. et al. Effect of pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) on high-fat diet-induced hypercholesterolemia in hamsters. Food and Chemical Toxicology*,* 53, 384-391, 2013.

13. DEL BAS, J. M. et al. Dietary procyanidins lower triglyceride levels signaling through the nuclear receptor small heterodimer partner. **Molecular Nutrition and Food Research**, 52, 1172-1181, 2008.

14. FORESTER, S. C.; WATERHOUSE, A. L. Metabolites are the key to understanding health effects of wine polyphenolics. **Journal of Nutrition,** 139, 1824S-1831S, 2009.

15. GIUDICE, A.; MONTELLA, M. Activation of the Nrf2-ARE signaling pathway: a promising strategy in cancer prevention. **Bioessays,** 28(2)**,** 169-181, 2006.

16. GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In E. A. Wrolstad (Ed.), **Current Protocols in Food Analytical Chemistry** (pp. F1.2.1-F1.2.13). New Jersey: John Wiley and Sons, 2001.

17. HSU, C. L.; YEN, G. C. Phenolic compounds: evidences for inhibitory effects against obesity and their underlying molecular signaling mechanisms. **Molecular Nutrition and Food Research,** 52, 53-61, 2008.

18. HSU, Y. M. et al. Characterizing the lipid-lowering effects and antioxidant mechanisms of tomato paste. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, 72, 677-685, 2008.

19. ISHIMOTO, E.Y. et al. *In vitro* antioxidant activity of Brazilian wines ang grape juices. **Journal of Wine Research**, 17, 107-115, 2006.

20. JAYAPRAKASHA, G. K.; SINGH, R. P.; SAKARIAH, K. K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. **Food Chemistry**, 73, 285-290, 2001.

21. KAMMERER, D. et al. Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52**,** 4360-4367, 2004.

22. KATTOOR A.J. et al. Oxidative Stress in Atherosclerosis. **Current Atherosclerosis Reports,** 19(11):42, 2017.

23. KONSTANTINIDI, M.; KOUTELIDAKIS, A. E. "Functional Foods and Bioactive Compounds: A Review of Its Possible Role on Weight Management and Obesity's Metabolic Consequences." **Medicines (Basel, Switzerland),** vol. 6,3 94, 2019.

24. KRAJKA-KUZNIAK, V. et al. The activation of the Nrf2/ARE pathway in HepG2 hepatoma cells by phytochemicals and subsequent modulation of phase II and antioxidant enzyme expression. **Journal of Physiology and Biochemistry**, 71(2), 227-238, 2015.

25. LEE, J.; KOO, N.; MIN, D. Reactive oxygen species, aging and antioxidative nutraceuticals. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 3; 21-33, 2003.

26. LIN, Y. L. et al. Beneficial effects of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice on livers of high-fat dietary hamsters. **Food Chemistry**, 140, 31-38, 2013.

27. PAL, S. et al. Red wine polyphenolics increase LDL receptor expression and activity and suppress the secretion of ApoB100 from human HepG2 cells. **Journal of Nutrition**, 133, 700-706, 2003.

28. PALL, M. L.; LEVINE, S. Nrf2, a master regulator of detoxification and also antioxidant, anti-inflammatory and other cytoprotective mechanisms, is raised by health promoting factors. **Acta Physiologica Sinica**, 25, 1-18, 2015.

29. PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Grape products and cardiovascular disease risk factors. **Nutrition Research Reviews**, 21, 158-173, 2008.

30. PÉREZ-JIMÉNEZ, J. et al. Effects of grape antioxidant dietary fiber in cardiovascular disease risk factors. **Nutrition**, 24, 646-653, 2008.

31. PROSKY, L. et al. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. **Journal - Association of Official Analytical Chemistry**, 71, 1017-1023, 1998.

32. RAHMAN, K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. **Clinical Interventions in Aging,** 2(2):219-36, 2007.

33. RASINES-PEREA, Z. et al. Grape pomace: antioxidant activity, potential effect against hypertension and metabolites characterization after intake. **Diseases**, 6, 60-75, 2018.

34. RASOULI, H. et al. Differential α-amylase/α-glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic compounds: a virtual screening perspective for the treatment of obesity and diabetes. **Food & Function**, 8(5), 1942-1954, 2017.

35. REITMAN, S.; FRANKEL, S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. **American Journal of Clinical Pathology**, 28, 56-63, 1957.

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

37. SARFRAZ, F. et al. Hypolipidaemic effects of synbiotic yoghurt in rabbits**. International Journal of Dairy Technology**, 72(4), 545-550, 2019.

38. SCARBOROUGH, P. et al. Modeling the impact of a healthy diet on cardiovascular disease and ancer mortality. **Journal of Epidemiology and Community Health**, 66, 420-426, 2012.

39. SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds - recent developments. **Trends in Food Science and Technology**, 12, 401-413, 2001.

40. SHAFI, A. et al. Antimicrobial and antidiabetic potential of symbiotic fermented milk: A functional dairy product. **International Journal of Dairy Technology**, 72(1), 15-22, 2019.

41. SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 16, 144-158, 1965.

42. SOUSA, E. C.; UCHÔA-THOMAZ, A. M. A.; CARIOCA, J. O. B., et al. Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (Vitis vinifera L.), Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil. **Food Science and Technology,** 34: 135-142, 2014.

43. SPITELLER, G. The important role of lipid peroxidation processes in aging and age dependent diseases**. Molecular Biotechnology**, 37(1):5-12, 2007.

44. TEIXEIRA, A.; BAENAS, N.; DOMINGUEZ-PERLES, R. et al. Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: a review. **Internation Journal of Molecular Sciences,** 15(9): 15638-15678, 2014.

45. TOMÉ-CARNEIRO, J. et al. Consumption of a grape extract supplement containing resveratrol decreases oxidized LDL and ApoB in patients undergoing primary prevention of cardiovascular disease: A triple-blind, 6-month follow-up, placebo-controlled, randomized trial. **Molecular Nutrition & Food Research**, 56, 810-821, 2012.

46. VICENTE, S. J. V.; ISHIMOTO, E. Y., CRUZ, R. J., TORRES, E. A. F. S. Increase of the activity of phase II antioxidant enzymes in rats after a single dose of coffee**. Journal of Agricultural and Food Chemistry,** 59, 10887-10892, 2011.

47. VICENTE, S. J. V.; QUEIROZ, Y. S.; GOTLIEB, S. L. D., TORRES, E. A. F. S. Stability of phenolic compounds and antioxidant capacity of regular and decaffeinated coffees**. Brazilian Archives of Biology and Technology,** 57, 110-118, 2014a.

48. VICENTE, S. J. V.; ISHIMOTO, E.Y.; TORRES, E. A. F. S. Coffee modulates transcription factor Nrf2 and highly increases the activity of antioxidant enzymes in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** 62, 116-122, 2014b.

49. WOOLLIAMS, J. A. et al. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood of various breed crosses of sheep. **Research in Veterinary Science**, 34, 253-256, 1983.

50. XU, Y. et al. Phenolic compounds, antioxidant, and antibacterial properties of pomace extracts from four Virginia-grown grape varieties. **Food Science and Nutrition**, 4, 125-133, 2016.

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

52. ZHAO, C.N. et al. Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of 30 Tea Infusions from Green, Black, Oolong, White, Yellow and Dark Teas. **Antioxidants (Basel).** 8(7): 215, 2019.

53. ZHANG, J. et al. Autophagy and mitochondrial dysfunction in adjuvant-arthritis rats treatment with resveratrol. **Scientific Reports**, 6, 32928-32938, 2016.

14

Impact of water temperature of chimarrão on phenolic compounds extraction

- Tayse Ferreira Ferreira da **Silveira**
  UNICAMP
- Adriana Dillenburg **Meinhart**
  UNICAMP/UFPEL
- Thaís Cristina Lima de **Souza**
  UNICAMP
- Elenice Carla Emídio **Cunha**
  UNICAMP
- Maria Rosa de **Moraes**
  UNICAMP
- Alexandre **Lorini**
  UFPEL
- José **Teixeira Filho**
  UNICAMP
- Helena Teixeira **Godoy**
  UNICAMP

Artigo original publicado em: 2020
Revista Food Science and Technology - ISSN 1678-457X. DOI: https://doi.org/10.1590/fst.23720.

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

10.37885/201102237

ABSTRACT

This study evaluated the effect of water temperature (65 °C, 75 °C, 85 °C, 95 °C) on the concentration of caffeic acid, 5-caffeoylquinic acid, 3,4-dicaffeoylquinic acid, 3,5-di-caffeoylquinic acid, 4,5-dicaffeoylquinc acid and rutin in *chimarrão* aqueous extracts prepared from two commercial types of yerba mate: traditional and coarse ground. The *chimarrão* preparation simulated the homemade process. Regardless of the temperature, aqueous extracts from the coarse ground had 60% more phenolic compounds than the traditional ones. In the extracts of coarse ground yerba mate the temperature of 95 °C favored the extraction of the compounds in relation to the other temperatures. For the traditional yerba mate extracts there was no difference regarding the temperature. The chlorogenic acids content in the *chimarrão* extracts is significantly higher than in other foods and beverages and represent an excellent contribution for chlorogenic acids intake.

Keywords: *Ilex Paraguariensis,* Infusion, Yerba Mate, Chlorogenic Acids.

INTRODUCTION

Yerba mate (*Ilex paraguariensis*), originated from subtropical South America, is widely used in infusions preparation, such as *chimarrão*, *tererê* and mate tea, which are widely appreciated because of their sensorial and stimulant properties (Heck & De Mejia, 2007). Among them, *chimarrão* is a partial infusion prepared by vertically placing the yerba mate into a container called *cuia* and pouring hot water in the gap between the herb and the sidewall of the *cuia*. The beverage is ingested by suction through a metal artifact called *bomba* (Gebara et al., 2017). Successive additions of water are made to the *cuia* so that fresh infusions are prepared from the same herb until the loss of flavor is noticed by the consumer (Meinhart et al., 2010). The market provides yerba mate with different characteristics regarding the origin, composition of stems and leaves, particle size and the addition of other ingredients to the yerba mate. The traditional and coarse ground yerba are the most consumed types of yerba mate for *chimarrão* preparation. Both are made from mixing native and cultivated yerba mate, however, the coarse ground has a larger particle size (about 200 mesh) in comparison with the traditional one (about 500 mesh) (Bizzotto et al., 2012).

The plant has been pointed out as a source of phenolic compounds, particularly the derivative esters of caffeic acid and quinic acid and their mono and dicaffeoylquinicacid isomers, such as 5-caffeoylquinic acid, 3,4-dicaffeoylquinic acid, 3,5-dicaffeoylquinicacid, 4,5-dicaffeoylquinic acid. Also, yerba mate has a high content of flavonoids, being rutin the predominant flavonoid compound in the plant (Bizzotto et al., 2012).

The aqueous extracts of yerba mate showed high antioxidant capacity, anti-inflammatory, anti-mutagenic, anti-proliferative, cardioprotective and anti-obesity properties (Boaventura et al., 2015; Miranda et al., 2008; Pimentel et al., 2013; Wan et al., 2012). The chlorogenic acids present in high amount in the yerba mate have been associated, in *in vitro* and *in vivo* studies, to several beneficial effects on health, including the ability to modify the glucose metabolism, playing a role in its absorption, oxidative stress attenuation, protection against inflammation in diabetic nephropathy (Peng et al., 2015; Wang et al., 2008) and sensorineural hearing impairment caused by diabetes (Hong et al., 2017), liver protection against the formation of fibrosis induced by CCl_4 or caused by cholestasis (Shi et al., 2016; Wu et al., 2015), inhibition of the replication of the hepatitis B virus (Wang et al., 2009), reduction of total cholesterol and LDL (low density lipoprotein) and increase levels of HDL (high-density lipoprotein) (Wan et al., 2013), in addition to inhibiting the proliferation of tumor cells in the stomach, colon, (Matsunaga et al., 2002; Shao et al., 2015) and liver (Siswanto et al., 2017; Yan et al., 2017).

Given the importance of these compounds and the high amount present in yerba mate, it is extremely relevant to study the preparation conditions of the *chimarrão*, in order to

enable the maximum extraction of the bioactive compounds for the beverage ingested by consumers. It has been shown that compounds released from the plants may be affected by several parameters, being the temperature of the water used in the infusion preparation a critical parameter (Horžić et al., 2009; Kelebek, 2016). Thus, water temperature increase may favor the transference of the compounds by increasing their solubility, or may promote the degradation of the compounds and decrease their content in the aqueous extracts ingested by the consumer (Horžić et al., 2009; Jeon et al., 2017; Komes et al., 2010). Studies have already been reported evidencing the importance of temperature in the extraction of bioactive compounds during the preparation of infusions (Jeon et al., 2017; Pérez-Burillo et al., 2018), but no studies were found evaluating the effect of this parameter on the concentration of phenolic compounds in the infusions obtained during the consumption of *chimarrão*.

Therefore, this work aimed to study the effect of temperature of the water used for *chimarrão* preparation on the migration of caffeic acid, 5-caffeoylquinic acid (5-CQA), 3,4-di-caffeoylquinic acid (3,4-DQA), 3,5-dicaffeoylquinic acid (3,5-DQA), 4,5-dicaffeoylquinic acid (4,5-DQA) and rutin from the plant to the aqueous extracts ingested by the consumer. Two commercial yerba mate types were used in this study: traditional and coarse ground.

MATERIAL AND METHODS

Samples

Chromatography-grade methanol (Merck, Germany) and analytical-grade formic acid (Ecibra, Brazil) were used. Water was purified using a Milli-Q® (Millipore) system. The phenolic compound standards (caffeic acid, 5-CQA, 3,4-DQA, 3,5-DQA, 4,5-DQA, and rutin) were obtained from Biopurify Phytochemicals Ltd. (Chengdu, China). Standard stock solutions were prepared in methanol at a concentration of 1 mg mL^{-1} and kept at -18 °C for 1 month at most. Organic and aqueous solutions were filtered using polyvinylidene (PVDF) and cellulose membranes, respectively, both with a porosity of 0.22 µm (Millipore).

Yerba mate samples were courteously provided by the Ervateria Vier, located in Rio Grande do Sul, Brazil. The *chimarrão* samples were named as traditional and coarse ground. The herbs were produced with a mixture of leaves and stems (84:26, respectively) of native plants (70%) and cultivated plants (30%). The plants used in the production of the traditional and coarse ground herbs are originated from the same place. The only difference between them was the size of the mill, being 200 mesh for the coarse ground and 500 mesh for the traditional. Ten kilograms of each type of yerba mate were provided in the packages commonly used for commercialization (1000 g). The content of the respective yerba mate packs was mixed and homogenized before being used for the preparation of *chimarrão* infusions.

Aqueous extracts preparation

The aqueous extracts of yerba mate were obtained according to Da Silveira et al. (2017). Briefly, 85 g of yerba mate were vertically arranged in an average-sized cuia (with total volume of 350 ml of water or about 170 g of yerba mate). The “pump” was positioned and fixated in the remaining space of the cuia and coupled to a vacuum system. Next, the cuia was filled with hot water at 65 °C and kept in a partial infusion for 30 seconds, after which the resulting yerba mate aqueous extract was suctioned with the aid of the vacuum system. These steps were repeated 30 times, which represented the number of successive additions of water usually made by consumers (Meinhart et al., 2010). The extract was collected, the volume registered, filtered in common filter paper, diluted with water to fit the standard curve, filtered using polyvinylidene (PVDF) membranes with 0.22 µm (Millipore) porosity and injected into the HPLC. The same process was repeated using hot water at temperatures of 75 °C, 85 °C and 95 °C. The experiment was carried out in triplicate for each temperature.

Methanolic extraction of phenolic compounds from yerba mate

An exhaustive extraction of the phenolic compounds was performed using methanol, according Meinhart et al. (2010). Two grams of ground yerba mate were mixed with 10 mL of methanol for 3 hours, followed by centrifugation for 10 min at 3500 g. The upper phase was collected and the solid residue was subjected to a new extraction with 10 ml of methanol for 1 hour. The extracts were combined, transferred to a volumetric flask (25 mL), filtered and injected into the HPLC.

The content of phenolic compounds measured in the methanolic extracts (equivalent to 100%) was compared with the amount of these compounds in the aqueous extracts. Thus, it was possible to estimate the percentage of phenolic compounds migrating from the matrix to the aqueous extract during the infusion time (30 seconds) and along the successive extractions (30 times).

Chromatographic conditions

The chromatographic method optimized and validated, according to International Union of Pure and Applied Chemistry (Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report), 2002), by Da Silveira et al. (2016) was applied for the quantification of phenolic compounds in both aqueous and methanol extracts of yerba mate. The separation was performed using a HPLC system model 1100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), coupled with a diode array detector and reverse phase column C18 ACE (Switzerland) that was 100 mm in length and 4.6 mm in diameter with 3 µm particle size.

The mobile phase consisted of methanol and an aqueous solution of formic acid 0.1% (v/v). The linear gradient started with 13.6% of methanol and achieved 40% in 39.4 minutes. The detection was recorded at 325 nm. HP-Chemstation software was used for data analysis.

Statistical treatment

The results obtained were compared by analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test in Statistica 6.0 from StatSoft (Tulsa, USA). The samples were considered to be significantly different when $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Many factors can alter the amount of bioactive compounds in yerba mate aqueous extracts, such as geographical region, growing and processing conditions (Da Silveira et al., 2016; Isolabella et al., 2010; Thompson et al. 2002). Moreover, factors related to beverage preparation can also affect the concentration of substances in the extracts, including time, the temperature of infusion, the mass ratio of herbs/water volume and particle size (Gebara et al., 2017; Da Silveira et al., 2016). In a previous study (Da Silveira et al., 2017), we demonstrated that the type of yerba mate (different particle size and leaf and stem composition) used to prepare *chimarrão* affects the extraction of chlorogenic acids and rutin. The present approach provides complementary data by demonstrating that in addition to this factor, water temperature may play an important role in the amount of phenolic compounds in aqueous extracts of yerba mate.

Table 1 shows the content of rutin and chlorogenic acids in the methanolic extracts relative to 85 g of yerba mate (amount used in the experiments). The results indicated the predominance of 3,5-DQA (1750.2 mg for traditional and 1704.4 mg for coarse ground) and 5-CQA (1379.5 mg for traditional and 1360.8 mg for coarse ground), which is in agreement with the previously mentioned literature (Bizzotto et al., 2012; Marques & Farah, 2009). Table 1 also shows the percentage of the compounds that was transferred to the 30 aqueous extracts of *chimarrão*, in the different temperatures studied. It can be observed that the extraction rate varied between 4.0% (for rutin at 65 °C with traditional yerba mate) and 28.3% (for 3,4-DQA at 95 °C with coarse ground yerba mate).

With respect to the type of yerba mate, it can be observed that in all studied temperatures and for all the investigated compounds, the extraction was greater (2.4 times) when the *chimarrão* was prepared with coarse ground yerba mate. This can be observed in the sum of all extracted compounds, considering the average extracted in different temperatures, with the extracts prepared with coarse ground yerba mate giving 17.5% of the content present in

the plant, whereas in the extracts prepared with traditional yerba mate, transference of only 7.3% was observed.

The particle size has been reported as the factor with the greatest impact in the extraction of phenolic compounds from yerba mate (Gebara et al., 2017). Meinhart et al. (2010), studying aqueous extracts of coarse ground and traditional yerba mate, reported similar behavior for the extraction of methylxanthines and total phenolic compounds, and suggested that the higher content found in the coarse ground extracts may be linked to the higher penetration of water as a consequence of the superior particle size. Similar findings were also reported by Gebara et al. (2017) when comparing the extraction of chlorogenic acids from *chimarrão* (60 mesh) and tererê (30 mesh), with the higher extraction observed for larger particles. Small particles (traditional) form a barrier that hinders.

Table 1. Content of the compounds present in the yerba mate and percentage extracted for the beverages of *chimarrão* in different temperatures.

Coarse ground yerba mate						
Compound	Content in yerba mate (mg 85 g^{-1})	% Extracted with 30 extracts				
		65 ºC	75 ºC	85 ºC	95 ºC	*Average*
Caffeic acid	11.4 a	15.6 a	14.1 a	17.1 a	27.4 a	18.6 a
5-CQA	1360.8 a	20.0 a	14.8 a	18.0 a	28.1 a	20.2 a
3,4-DQA	251.6 a	18.2 a	14.9 a	19.1 a	28.3 a	20.1 a
3,5-DQA	1704.4 a	13.8 a	11.0 a	12.9 a	18.4 a	14.0 a
4,5-DQA	454.7 a	17.9 a	14.9 a	17.9 a	27.3 a	19.5 a
Rutin	397.8 a	11.8 a	9.6 a	11.9 a	17.6 a	12.8 a
Average % extracted		*16.2*	*13.2*	*16.2*	*24.5*	*17.5*
Traditional yerba mate						
Compound	Content in yerba mate (mg 85.g^{-1})	% Extracted with 30 extracts				
		65 ºC	75 ºC	85 ºC	95 ºC	*Average*
Caffeic acid	11.4 a	6.5 b	10.3 b	8.5 b	12.9 b	9.5 b
5-CQA	1379.5 a	6.8 b	9.8 b	7.2 b	8.0 b	7.9 b
3,4-DQA	256.7 a	6.4 b	9.1 b	7.6 b	10.6 b	8.4 b
3,5-DQA	1750.17 a	5.1 b	6.7 b	5.3 b	5.0 b	5.5 b
4,5-DQA	492.4 a	6.5 b	9.2 b	7.5 b	8.1 b	7.8 b
Rutin	382.9 a	4.0 b	6.0 b	4.3 b	3.9 b	4.5 b
Average % extracted		*5.9*	*8.5*	*6.7*	*8.1*	*7.3*

The passage of water and reduces the extraction capacity, while larger particles (coarse ground) provide greater contact and consequently greater extractive capacity. This hypothesis is supported by the average volumes of aqueous extracts collected in each of the 30 successive extractions, which were 25% higher in traditional (95.0 ± 6.7 mL) than in coarse ground (75.0 ± 5.7 mL), showing that larger amounts of water have permeated the coarse ground yerba mate type.

When investigating the effect caused by the temperature difference, in the coarse ground yerba mate the highest extraction percentage for all the compounds occurred with water at 95 °C, allowing the average extraction of 24.5% of the compounds. No significant difference was observed in the extraction between the temperatures of 65 °C, 75 °C, and 85 °C, which correspond to the average values of 16.2%, 13.2% and 16.2%, respectively. However, this extraction percentage is still higher than the extracts obtained from the traditional yerba mate, which had values oscillating between 5.9% and 8.1%. Regarding the traditional yerba mate, the results indicated that the increase in temperature did not affect significantly (p>0.05) the transfer of the phenolic compounds studied to the aqueous extracts of *chimarrão*. The different behavior between the different types of herbs on increasing the temperature may be related to the effect of the greater compaction of the traditional yerba mate because of its smaller particle size, as previously mentioned. It is possible that the greater compaction has hindered the contact of the leaves with the infusion water, reducing the extractability, and, in turn, the effect of the infusion temperature may have been suppressed.

Figure 1 shows the content of the compounds accumulated in the aqueous extracts throughout the extractions, simulating the concentration of the phenolic compounds ingested by consumers. Confirming the results observed, it is apparent that the extracts prepared with coarse ground yerba mate had a higher average amount of phenolic compounds than the ones obtained with traditional yerba mate. In addition, the extracts prepared with coarse ground and water at 95 ºC stood out from the others, showing higher amounts ($p<0.05$) of all phenolic compounds investigated, which could be attributed to the higher solubility of these in boiling or near boiling water temperature (De Maria et al., 1998). Therefore, our results suggest that the preparation of *chimarrão* with coarse-ground yerba mate and infusion at 95ºC is an alternative of a better contribution of phenolic compounds compared with the traditional one. However, in spite of this result, the other temperatures also provided high amounts of these compounds.

Gebara et al. (2017) estimated an average daily intake of 648-2160 mL/person of *chimarrão*, which could provide between 512.5-1708.0 mg of chlorogenic acids (mono and di-caffeoylquinic acids). Our results are in accordance with these ranges of volume (30 extracts) and phenolic compounds extraction. Yerba mate is a main source of chlorogenic acids for the diet, along with coffee. One coffee serving corresponding to 200 mL provides between 44 mg and 241 mg of 5-CQA, 0.84 and 13.67 mg of 3,4-DQA, 0.512 and 9.374 mg of 3,5-DQA, and 0.704 and 12.356 mg of 4.5-DQA (Jeon et al., 2017). According to Table 2, with the exception of 5-CQA, these amounts are obtained with the consumption of 10 extracts and are highly superior if one considers the consumption of 30 extracts (which comprises the average volume/person of *chimarrão*), regardless of the herb or the infusion temperature

chosen. In this regard, *chimarrão* extracts can be highlighted as a remarkable source of di-caffeoylquinic compounds. For example, Marques and Farah (2009) studied 14 medicinal plant infusions and found that even though 5-CQA was present in every species, dicaffeoylquinic acids were detectable only in *Baccharis genistelloides* ("carqueja"), seeds of *Pimpinella anisum* (anise), and flowers of *Achyrocline satureioides* ("macelle"), but in amounts still greatly lower than those in *chimarrão* extracts. In another study, Meinhart et al. (2018) investigated the content of chlorogenic acids in 89 plant infusions, and demonstrated that 5-CQA was the most commonly found compound from this family (72% of the samples) in ranges between 0.002 mg.100 mL^{-1} and 6.349 mg.100 mL^{-1}. The content of dicaffeoylquinic acids found was from traces of 4,5-DQA until 13.334 mg.100mL^{-1} (3,5-DQA), demonstrating that yerba mate infusions such as *chimarrão* could provide greatly higher amounts of these compounds.

Chimarrão extracts have also been pointed out as a good source of the flavonoid rutin and according to Bizzotto et al. (2012), yerba mate is one of the richest sources of this compound in nature. The levels of rutin in *chimarrão* extracts found in this study are in accordance with those from Colpo et al. (2016), who found 19 mg and 12.85 mg of rutin in 1000 mL of *chimarrão* extracts (approximately 10 extracts) from coarse ground and traditional yerba mate, respectively, prepared at 75 °C. Jeszka-Skowron et al. (2015) reported that 200 mL of white, black and green tea (*Camelia sinesis*), which are important sources of flavonoids in the diet, supplied on average 0.527 mg, 4.4 mg and 5 mg, respectively, of rutin. Therefore, the content found in 10 extracts of traditional or coarse ground yerba mate, at any studied temperature, provides between 10 and 20 times more rutin than tea.

The beneficial biological effects of the intake of CGAs have already been reported in several studies. For example, according to Wan et al. (2013), the intake of 1 to 10 mg of chlorogenic acids per gram of body weight per day has beneficial effects on lipid metabolism leading to a significant reduction of total cholesterol, LDL and HDL. Considering the data in Table 2, a consumer who ingests, per day, only the first 10 extracts of aqueous *chimarrão* extract, prepared with traditional yerba mate and water at 65 °C (condition with the lowest average content extracted), has the contribution of 159 mg daily (considering only chlorogenic acids) which corresponds to 2.27 mg per kg per day in a 70 kg individual. On the other hand, the consumer who ingests 30 extracts has the intake of 3.30 mg per kg per day. The consumer who ingests the first 10 extracts of *chimarrão*, with coarse-ground yerba mate and water at 95°C, has a daily intake of 6.74 mg per kg per day, or 12.7 mg per kg per day if the ingestion is of 30 extracts. As seen in Figure 1, the first extracts are the most relevant and represent a large part of the extraction. Consumers who ingest a lower amount of the beverage, such as the first 5 extracts, also have a satisfactory intake. If the first 5 extracts prepared with traditional yerba mate

and water at 65 °C are ingested, the intake is 1.76 mg per body weight per day. If the ingestion is of extracts from coarse.

Figure 1. Content of bioactive compounds extracted cumulatively during the extraction of the 30 extracts of *chimarrão*, using different temperatures, in course ground and traditional yerba mate

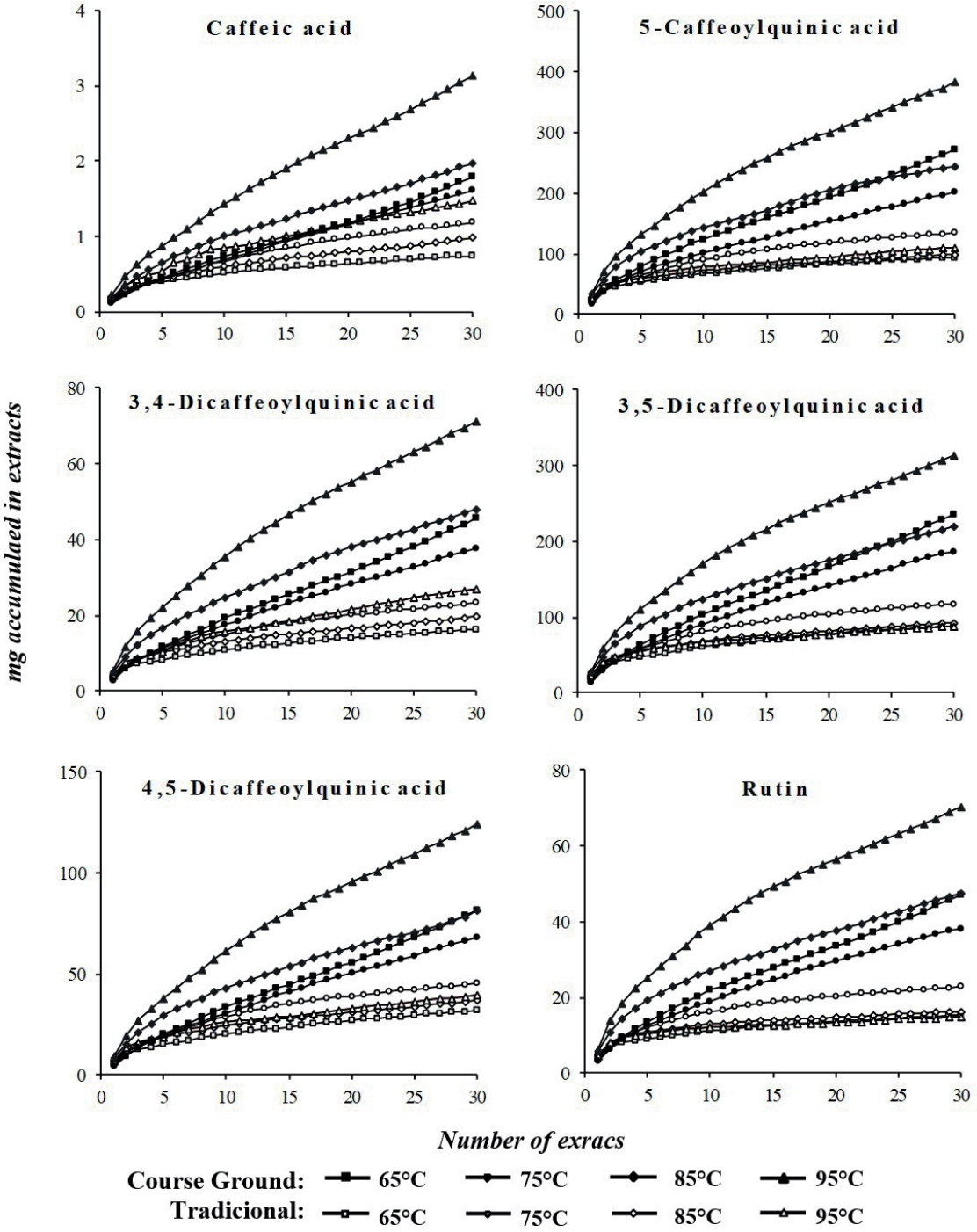


Table 2. Sum of the content of phenolic compounds in the first 10 *chimarão* extracts (mg) and in 30 *chimarrão* extracts (mg).

Coarse ground yerba mate										
Compound	mg in 10 *chimarrão* extracts					mg in 30 *chimarrão* extracts				
	65 ºC	75 ºC	85 ºC	95 ºC	*Average*	65 ºC	75 ºC	85 ºC	95 ºC	*Average*
Caffeic acid	0.7	0.7	1.0	1.4	1.0	1.8	1.6	2.0	3.1	1.8
5-CQA	124.7	101.2	142.6	203.4	143.0	271.6	202.0	244.5	382.4	271.6
3,4-DQA	19.2	17.5	24.6	35.6	24.2	45.7	37.5	48.0	71.3	45.7
3,5-DQA	103.0	90.4	124.6	171.2	122.3	236.0	187.0	220.4	313.2	236.0
4,5-DQA	33.6	30.8	43.1	61.9	42.3	81.4	67.9	81.3	124.1	81.4
Rutin	21.9	19.1	27.2	39.0	26.8	47.1	38.3	47.5	70.2	47.1
Total phenolics	*303.1*	*259.7*	*363.0*	*512.5*	359.6	*683.7*	*534.3*	*643.7*	*964.3*	*683.7*
Traditional yerba mate										
Compound	mg in 10 *chimarrão* extracts					mg in 30 *chimarrão* extracts				
	65 ºC	75 ºC	85 ºC	95 ºC	*Average*	65 ºC	75 ºC	85 ºC	95 ºC	*Average*
Caffeic acid	0.5	0.7	0.6	0.8	0.7	0.7	1.2	1.0	1.5	1.1
5-CQA	67.1	90.1	72.9	78.9	77.2	94.2	134.5	98.8	110.7	109.6
3.4-DQA	10.9	15.0	13.1	15.7	13.7	16.3	23.2	19.6	27.2	21.6
3.5-DQA	60.7	81.0	68.3	67.3	69.3	88.6	117.9	92.4	88.1	96.7
4.5-DQA	20.2	29.0	24.5	26.1	25.0	32.2	45.2	36.9	39.8	38.5
Rutin	11.2	16.2	13.0	12.1	13.1	15.4	22.8	16.4	15.0	17.4
Total phenolics	*170.7*	*232.1*	*192.4*	*200.9*	199.0	*247.4*	*344.9*	*265.1*	*282.2*	*284.9*

ground yerba mate with water at 95 °C, the average value is 4.3 mg per day per body weight.

Therefore, our results suggest that all beverages obtained from the two studied yerba mates at all evaluated temperatures may be considered excellent sources of chlorogenic acid intake at concentrations that may have a beneficial biological effect on lipid metabolism, according to the study by Wan and collaborators (2013). However, it is important to mention that the ingested amount of phenolic compounds does not represent the amount that is bioavailable and that will be biologically active in the body. In this regard, a recent study by Gómez-Juaristi et al. (2018) demonstrated that chlorogenic acids bioavailability (mono and dicaffeoylquinic acids) in humans is low. Thus, further studies are recommended in order to correlate the amounts of chlorogenic acids ingested through mate-based beverages and health-promoting effects.

CONCLUSIONS

The results showed that the increase in water temperature significantly affected the phenolic compounds content in the aqueous extracts prepared with coarse ground yerba mate, with the extracts prepared at 95 °C showing the highest concentration of all phenolic compounds studied. For the traditional extracts, the difference between temperatures was not

statistically significant. In general, irrespective of the water temperature used, the aqueous extracts of *chimarrão* produced from traditional yerba mate presented a lower content of all the phenolic compounds than the coarse ground (60% less on average). However, chlorogenic acids content present in traditional and coarse ground extracts of yerba mate, regardless of the temperature used, has significantly higher concentrations than other foods and beverages, evidencing *chimarrão* as an excellent alternative for the supply of chlorogenic acids.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was funded by FAPESP - Foundation for Research Support of the State of São Paulo (process n° 2012/12565).

REFERENCES

1. Bizzotto, C. S., Meinhart, A. D., Rybka, A. C. P., Sobrinho, M. R., Junior, S. B., Ballus, C. A., & Godoy, H. T. (2012). Quantification of phenolic compounds by capillary zone electrophoresis in extracts of four commercial types of mate herb before and after acid hydrolysis. *Food Research International*, 48(2), 763-768. http://dx.doi.org/10.1016/j. foodres.2012.06.020

2. Boaventura, B. C. B., de Mello Castanho Amboni, R. D., Silva, E. L., Prudencio, E. S., Di Pietro, P. F., Malta, L. G., Polinati, R. M., & Liu, R. H. (2015). Effect of in vitro digestion of yerba mate (Ilex paraguariensis A. St. Hil.) extract on the cellular antioxidant activity, antiproliferative activity and cytotoxicity toward HepG2 cells. *Food Research International*, 77, 257-263. http://dx.doi.org/10.1016/j. foodres.2015.05.004

3. Colpo, A. C., Rosa, H., Lima, M. E., Pazzini, C. E. F., de Camargo, V. B., Bassante, F. E. M., Puntel, R., Ávila, D. S., Mendez, A., & Folmer, V. (2016). Yerba mate (Ilex paraguariensis St. Hill.)-based beverages: How successive extraction influences the extract composition and its capacity to chelate iron and scavenge free radicals. *Food Chemistry*, 209, 185-195. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.059

4. PMid:27173551. da Silveira, T. F. F., Meinhart, A. D., de Souza, T. C. L., Teixeira Filho, J., & Godoy, H. T. (2016). Phenolic compounds from yerba mate based beverages - A multivariate optimisation. *Food Chemistry*, 190, 1159-1167. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.031. PMid:26213090. da Silveira, T. F. F., Meinhart, A. D., Souza, T. C. L., Cunha, E. C. E., Moraes, M. R., & Godoy, H. T. (2017). Chlorogenic acids and flavonoid extraction during the preparation of yerba mate based beverages. *Food Research International*, 102, 348-354. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.098. PMid:29195958.

5. De Maria, C. A. B., Trugo, L. C., Miranda, L. S. D. M., & Salvador, E. (1998). Stability of 5-caffeoylquinic acid under different conditions of heating. *Food Research International*, 31(6), 475-477. http://dx.doi. org/10.1016/S0963-9969(99)00015-0.

6. Gebara, K. S., Gasparotto-Junior, A., Santiago, P. G., Cardoso, C. A. L., de Souza, L. M., Morand, C., Costa, T. A., & Cardozo-Junior, E. L. (2017). Daily intake of chlorogenic acids from consumption of Maté (Ilex paraguariensis A.St.-Hil.) Traditional Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(46), 10093-10100. http:// dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04093. PMid:29056047.

7. Gómez-Juaristi, M., Martínez-López, S., Sarria, B., Bravo, L., & Mateos, R. (2018). Absorption and metabolism of yerba mate phenolic compounds in humans. *Food Chemistry*, 240, 1028-1038. http:// dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.003. PMid:28946219.

8. Heck, C. I., & De Mejia, E. G. (2007). Yerba mate tea (Ilex paraguariensis): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. *Journal of Food Science*, 72(9), R138-R151. http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00535.x. PMid:18034743.

9. Hong, B. N., Nam, Y. H., Woo, S. H., & Kang, T. H. (2017). Chlorogenic acid rescues sensorineural auditory function in a diabetic animal model. *Neuroscience Letters*, 640, 64-69. http:// dx.doi.org/10.1016/j. neulet.2017.01.030. PMid:28093303.

10. Horžić, D., Komes, D., Belščak, A., Ganić, K. K., Iveković, D., & Karlović, D. (2009). The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. *Food Chemistry*, 115(2), 441-448. http:// dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.022.

11. Isolabella, S., Cogoi, L., López, P., Anesini, C., Ferraro, G., & Filip, R. (2010). Study of the bioactive compounds variation during yerba mate (Ilex paraguariensis) processing. *Food Chemistry*, 122(3), 695- 699. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.039.

12. Jeon, J. S., Kim, H. T., Jeong, I. H., Hong, S. R., Oh, M. S., Park, K. H., Shim, J. H., & Abd El-Aty, A. M. (2017). Determination of chlorogenic acids and caffeine in homemade brewed coffee prepared under various conditions. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1064, 115-123. http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.08.041. PMid:28918319.

13. Jeszka-Skowron, M., Krawczyk, M., & Zgoła-Grześkowiak, A. (2015). Determination of antioxidant activity, rutin, quercetin, phenolic acids and trace elements in tea infusions: Influence of citric acid addition on extraction of metals. *Journal of Food Composition and Analysis*, 40, 70-77. http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2014.12.015.

14. Kelebek, H. (2016). LC-DAD–ESI-MS/MS characterization of phenolic constituents in Turkish black tea: Effect of infusion time and temperature. *Food Chemistry*, 204, 227-238. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.132. PMid:26988497.

15. Komes, D., Horžić, D., Belščak, A., Ganić, K. K., & Vulić, I. (2010). Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. *Food Research International*, 43(1), 167-176. http:// dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.022.

16. Marques, V., & Farah, A. (2009). Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. *Food Chemistry*, 113(4), 1370- 1376. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.086.

17. Matsunaga, K., Katayama, M., Sakata, K., Kuno, T., Yoshida, K., Yamada, Y., Hirose, Y., Yoshimi, N., & Mori, H. (2002). Inhibitory Effects of Chlorogenic Acid on Azoxymethane-induced Colon Carcinogenesis in Male F344 Rats. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2(2), 163-166. PMid:12718596.

18. Meinhart, A. D., Bizzotto, C. S., Ballus, C. A., Rybka, A. C. P., Sobrinho, M. R., Cerro-Quintana, R. S., Teixeira-Filho, J., & Godoy, H. T. (2010). Methylxanthines and phenolics content extracted during the consumption of mate (Ilex paraguariensis St. Hil) beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(4), 2188-2193. http:// dx.doi.org/10.1021/jf903781w. PMid:20058928.

19. Meinhart, A. D., Caldeirão, L., Damin, F. M., Filho, J. T., & Godoy, H. T. (2018). Analysis of chlorogenic acids isomers and caffeic acid in 89 herbal infusions (tea). *Journal of Food Composition and Analysis*, 73, 76-82. http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2018.08.001.

20. Miranda, D. D. C., Arçari, D. P., Pedrazzoli, J. Jr, Carvalho, P. D. O., Cerutti, S. M., Bastos, D. H. M., & Ribeiro, M. L. (2008). Protective effects of mate tea (Ilex paraguariensis) on H2O 2-induced DNA damage and DNA repair in mice. *Mutagenesis*, 23(4), 261-265. http://dx.doi.org/10.1093/mutage/gen011. PMid:18308716.

21. Peng, B. J., Zhu, Q., Zhong, Y. L., Xu, S. H., & Wang, Z. (2015). Chlorogenic Acid Maintains Glucose Homeostasis through Modulating the Expression of SGLT-1, GLUT-2, and PLG in Different Intestinal Segments of Sprague-Dawley Rats Fed a High-Fat Diet. *Biomedical and Environmental Sciences : BES*, 28(12), 894-903. http://dx.doi. org/10.3967/bes2015.123. PMid:26777909.

22. Pérez-Burillo, S., Giménez, R., Rufián-Henares, J. A., & Pastoriza, S. (2018). Effect of brewing time and temperature on antioxidant capacity and phenols of white tea: Relationship with sensory properties. *Food Chemistry*, 248, 111-118. http://dx.doi.org/10.1016/j. foodchem.2017.12.056. PMid:29329833.

23. Pimentel, G. D., Lira, F. S., Rosa, J. C., Caris, A. V., Pinheiro, F., Ribeiro, E. B., do Nascimento, C. M. O., & Oyama, L. M. (2013). Yerba mate extract (Ilex paraguariensis) attenuates both central and peripheral inflammatory effects of diet-induced obesity in rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(5), 809-818. http://dx.doi.org/10.1016/j. jnutbio.2012.04.016. PMid:22841395.

24. Shao, P., Zhang, J. F., Chen, X. X., & Sun, P. L. (2015). Microwave- assisted extraction and purification of chlorogenic acid from by-products of Eucommia Ulmoides Oliver and its potential anti-tumor activity. *Journal of Food Science and Technology*, 52(8), 4925-4934. http://dx.doi.org/10.1007/s13197-014-1571-8. PMid:26243912.

25. Shi, H., Shi, A., Dong, L., Lu, X., Wang, Y., Zhao, J., Dai, F., & Guo, X. (2016). Chlorogenic acid protects against liver fibrosis in vivo and in vitro through inhibition of oxidative stress. *Clinical Nutrition*, 35(6), 1-8. http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2016.03.002. PMid:27017478.

26. Siswanto, F. M., Oguro, A., & Imaoka, S. (2017). Chlorogenic acid modulates hypoxia response of Hep3B cells. *Personalized Medicine Universe*, 6, 12-16. http://dx.doi.org/10.1016/j.pmu.2017.03.001.

27. Thompson, M., Ellison, S. L. R. & Wood, R. (2002). Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 835-855. http://dx.doi.org/10.1351/ pac200274050835.

28. Wan, C. W., Wong, C. N. Y., Pin, W. K., Wong, M. H. Y., Kwok, C. Y., Chan, R. Y. K., Yu, P. H. F., & Chan, S. W. (2013). Chlorogenic acid exhibits cholesterol lowering and fatty liver attenuating properties by up-regulating the gene expression of PPAR-α in hypercholesterolemic rats induced with a high-cholesterol diet. *Phytotherapy Research*, 27(4), 545-551. http://dx.doi.org/10.1002/ ptr.4751. PMid:22674675.

29. Wan, W., Liu, Z., Qu, X., Chen, M., & Gao, H. (2012). Aqueous Extract of Yerba Mate Tea Lowers Atherosclerotic Risk Factors in a Rat Hyperlipidemia Model. *Phytotherapy Research*, 27(8), 1225-1231. http://dx.doi.org/10.1002/ptr.4856. PMid:23055269.

30. Wang, G. F., Shi, L. P., Ren, Y. D., Liu, Q. F., Liu, H. F., Zhang, R. J., Li, Z., Zhu, F. H., He, P. L., Tang, W., Tao, P. Z., Li, C., Zhao, W. M., & Zuo, J. P. (2009). Anti-hepatitis B virus activity of chlorogenic acid, quinic acid and caffeic acid in vivo and in vitro. *Antiviral Research*, 83(2), 186-190. http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2009.05.002. PMid:19463857.

31. Wang, Z., Clifford, M. N., & Sharp, P. (2008). Analysis of chlorogenic acids in beverages prepared from Chinese health foods and investigation, in vitro, of effects on glucose absorption in cultured Caco-2 cells. *Food Chemistry*, 108(1), 369-373. http://dx.doi.org/10.1016/j. foodchem.2007.10.083.

32. Wu, D., Bao, C., Li, L., Fu, M., Wang, D., Xie, J., & Gong, X. (2015). Chlorogenic acid protects against cholestatic liver injury in rats. *Journal of Pharmacological Sciences*, 129(3), 177-182. http://dx.doi. org/10.1016/j.jphs.2015.10.005. PMid:26598002.

33. Yan, Y., Liu, N., Hou, N., Dong, L., & Li, J. (2017). Chlorogenic acid inhibits hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 46, 68-73. http://dx.doi.org/10.1016/j. jnutbio.2017.04.007. PMid:28458139.

15

Embalagens ativas como novas abordagens sustentáveis e ambientalmente corretas: uma revisão da literatura

- Vitória Rodrigues **Bittencourt**
  UFSM
- Laura Inês **Grassi**
  UFSM
- Andressa Inês **Schú**
  UFSM
- Flávia Michelon **Dalla Nora**
  UFSM

10.37885/201102207

RESUMO

O momento atual e os acontecimentos e mudanças de hábitos que nos foram impostos faz com que as pessoas tornem-se progressivamente mais exigentes quanto à saúde e qualidade de vida. Este fato acarreta um impacto direto sobre a forma de consumo de alimentos industrializados e da sua qualidade. Sendo assim, a indústria alimentícia tem buscado maneiras de priorizar a segurança alimentar e fornecer alimentos mais saudáveis para a população. Uma das estratégias que vem sendo lançada é a utilização de embalagens ativas em substituição às tradicionais ou convencionais. Desta forma, o presente trabalho buscou fazer uma revisão da literatura de forma sistemática a fim de descrever as embalagens ativas que vem sendo desenvolvidas e suas aplicações. Com isso, foi possível observar que o uso dessas embalagens alternativas tem por objetivo preservar e estender o prazo de validade de diversos produtos, melhorar características sensoriais, e evitar deteriorações químicas e microbiológicas, refletindo na disponibilização de alimentos mais seguros e de melhor qualidade aos consumidores. Além disso, essas embalagens apresentam-se como uma alternativa sustentável, tendo em vista que possuem menor efeito agressivo ao meio ambiente por serem normalmente de fácil degradação, refletindo em menor poluição ambiental.

Palavras-chave: Qualidade, Sustentabilidade, Estratégia Inovadora, Indústria Alimentícia, Segurança de Alimentos.

INTRODUÇÃO

Tendo em vista a necessidade de mudança de hábitos imposta a população no momento atual em que vivemos, as pessoas estão progressivamente mais exigentes quanto a saúde e qualidade de vida. Nesse sentido, a escassez mundial, o aumento o custo dos alimentos, a segurança alimentar e a segurança dos alimentos são questões frequentemente discutidas. Consequentemente, políticas públicas visam garantir que os diferentes setores de abastecimento de alimentos ofereçam produtos inócuos e seguros para os consumidores (SONNEVELD, 1999).

Desta forma, o mercado atual requer o desenvolvimento de embalagens para assegurar uma vida de prateleira adequada ao produto, as quais além de servirem como meio de acondicionamento, possuam atividades adicionais benéficas ao produto e aos consumidores. Sendo assim, o sistema tradicional de embalagens tem como função principal atuar como uma barreira a impactos físicos e/ ou mecânicos, reações químicas e invasão por microrganismos além de prevenir a migração de seus próprios compostos para o alimento (JORGE, 2013).

Segundo a Associação Brasileira de Embalagens (ABRE), existem diversos tipos de embalagens que atendem a diversas funcionalidades, de acordo com o que se deseja para o produto final (ABRE, 2020). No entanto, novas alternativas sustentáveis vem sendo inseridas em substituição ao uso das embalagens tradicionais. Dentre estas, destaca-se o uso de embalagens ativas, as quais acumulam funções adicionais. Algumas embalagens possuem a capacidade de absorção de compostos que favorece a deterioração, outras agem liberando compostos que aumentam a vida de prateleira e podem ser usadas até mesmo para monitorar os alimentos durante o armazenamento (CUNHA, 2007). Várias embalagens ativas vêm sendo desenvolvidas em todo o mundo e, dentre os estudos relacionados a este tema, merecem destaque os filmes revestimentos e sachês antimicrobianos e antioxidantes, além dos filmes aromáticos.

As embalagens ativas além de apresentarem vários benefícios aos consumidores, são consideradas mais ambientalmente corretas em relação às tradicionalmente empregadas para acondicionamento de alimentos. Isso se deve ao fato de que os plásticos, vidros e embalagens metálicas permanecem por vários anos no ambiente até total degradação e as embalagens ativas são consideradas biodegradáveis, permanecendo por pouco tempo no ambiente (JORGE, 2013).

Vários estudos vêm sendo conduzidos, nos quais são desenvolvidas embalagens empregando resíduos agroindustriais, diminuindo assim o impacto negativo ao meio ambiente tanto referente ao descarte destes resíduos quanto das embalagens convencionais. Neste contexto, sabe-se que o montante de resíduos provenientes do setor agroindustrial no Brasil e no mundo todo é enorme e muitas vezes é relacionado com questões de saúde pública,

tendo em vista que a deposição inadequada destes resíduos contribuem para proliferação de diversos agentes patogênicos responsáveis por diversas doenças. Tendo isso em vista, o reaproveitamento destes resíduos como matéria prima para produção de embalagens de alimentos constitui uma alternativa inovadora e com alto caráter sustentável (SARMENTO, 2015). Estudos empregando resíduos provenientes do processamento de jabuticaba, manga, brócolis, milho, trigo, mandioca, cúrcuma, óleo de babaçu, amêndoa, frutas vermelhas, dentre outros, vem sendo conduzidos e apresentando resultados promissores para a área (MANIGLIA, 2017; LUCHESE, 2018).

Diante do exposto, o presente trabalho tem por objetivo trazer informações acerca de novas alternativas sustentáveis e inovadoras que vem sendo desenvolvidas no campo de embalagens para alimentos. Para tanto, uma revisão da literatura foi realizada de forma sistemática, buscando descrever os tipos de embalagens utilizadas bem como exemplos do uso destas tecnologias ativas para acondicionamento de alimentos no Brasil. Neste sentido, o presente trabalho caracteriza-se como uma revisão da literatura de caráter descritivo, no qual utilizou-se meios de pesquisa de artigos e trabalhos acadêmicos e livros didáticos.

REVISÃO DA LITERATURA

O desenvolvimento de embalagens ativas está cada vez mais presente em diversos países no mundo, inclusive no Brasil, mas o desenvolvimento e, principalmente a aplicação dessas embalagens ainda é limitado devido a restrições na legislação, resistência dos consumidores e a necessidade de um conhecimento sobre o impacto que essas embalagens terão tanto economicamente quanto ambientalmente (MANIGLIA, 2017).

No que tange ao uso de embalagens convencionais, essas tem por objetivo aumentar a segurança do alimento através de barreiras de contaminação, tanto de ordem microbiológica quanto química. Além disso, as embalagens previnem a migração de seus próprios componentes para o alimento. Em contrapartida, as embalagens ativas além de possuírem a característica de serem barreiras contra contaminações, possuem outras ações, aumentando a sua funcionalidade, tais como a capacidade de absorver compostos que favorecem a deterioração do alimento acondicionado, liberação de compostos que aumentam a vida de prateleira do produto e ainda podem permitir o monitoramento do alimento durante a estocagem e comercialização.

Vários estudos vêm sendo conduzidos para o desenvolvimento de embalagens ativas, sendo as principais aplicações são os filmes antimicrobianos, absorvedores de oxigênio, absorvedores de etileno, reguladores de umidade, liberadores e/ou absorvedores de sabores e odores, dentre outras, conforme é possível visualizar na Figura 1.

Figura 1. Principais embalagens ativas.

Como é possível observar na Figura 1, as principais embalagens ativas desenvolvidas apresentam objetivos sempre relacionados a melhoria das condições dos alimentos, buscando trazer benefícios tanto aos consumidores quanto ao alimento nela acondicionada.

FILMES ANTIMICROBIANOS

Os filmes antimicrobianos são uma inovação dentro do conceito de embalagem ativa, os quais quando em contato com produtos acondicionados tem por objetivo reduzir, inibir ou retardar o crescimento de microrganismos na superfície destes alimentos (APPENDINI & HOTCHKISS, 1997). Estudos vêm sendo conduzidos avaliando a adição de ácido sórbico e seus respectivos sais à matrizes de filmes comestíveis demonstrando alta efetividade contra o crescimento microbiano em comparação à adição dos antimicrobianos diretamente sobre o alimento (GUILBERT; CUQ; GONTARD, 2009). Desta forma, observa-se que o uso de embalagens ativas com ação antimicrobiana tem alta eficiência, pois apresentam migração lenta do agente antimicrobiano para o alimento, mantendo a concentração adequada de ácido sórbico no local de ação, estendendo, assim, sua vida de prateleira.

O uso de antimicrobianos naturais tem ganho grande proeminência nos últimos anos, devido apresentarem alta efetividade, o que permite a substituição de antimicrobianos sintéticos (DEVLIEGHERE; VERMEIREN; DEBEVERE, 2004). Os extratos obtidos de fontes naturais e de resíduos agroindustriais vêm sendo estudados para posterior aplicação em embalagens ativas em alimentos. Isso se deve ao fato de que estes produtos de origem vegetal possuem altos níveis de compostos biologicamente ativos e nutricionais que são benéficos a saúde humana. Dentre estes compostos destacam-se os compostos fenólicos e flavonoides, que possuem elevada eficácia contra a proliferação de microorganismos.

Além disso, estes compostos apresentam elevada atividade biológica aos consumidores, prevenindo doenças cardíacas, cânceres e processos oxidativos (ARBOS et al, 2013).

Outra fonte de antimicrobianos naturais que podem ser aplicados a filmes antimicrobianos de embalagens ativas estão os óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas. Estes compostos apresentam substâncias químicas como por exemplo os terpenos que conferem a eles propriedade antimicrobianas, sendo empregados em diversos produtos para controle microbiológico, como em queijos, carnes, peixes, dentre outros produtos (BAJPAI; BAEK; KANG, 2008; OLMEDO; NEPOTE; GROSSOA, 2013; JAYASENA, 2013).

ABSORVEDORES DE OXIGÊNIO

A redução da pressão parcial de oxigênio em um sistema de embalagem resulta na redução das taxas de metabolismo (no caso de frutas e hortaliças *in natura*), redução do crescimento de microrganismos aeróbios e de reações de oxidação, e, em consequência, promove um aumento na vida de prateleira dos alimentos (TEUMAC, 1995). Dentre os absorvedores de oxigênio, destacam-se o ácido ascórbico, polímeros fotossensível dentro outros.

Pode-se destacar como vantagens dos absorvedores de oxigênio a fácil utilização, capacidade de prevenirem o crescimento de microrganismos aeróbios e de retardarem oxidação de lipídios e de compostos de sabor. O uso de absorvedores de oxigênio são aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA), no entanto, estas substâncias apresentam o inconveniente de serem capazes de romper a embalagem e por terem a ação de favorecer o crescimento de microrganismos anaeróbios (AZEREDO, 2012). Atualmente os absorvedores de oxigênio vem sendo usados em embalagens de carne bovina refrigerada, frutos e hortaliças (ALIZADEH-SANI et al, 2020; CHOULITOUDI et al, 2020).

ABSORVEDORES DE ETILENO

O mercado brasileiro de frutas e hortaliças apresenta grande perda dos produtos durante o transporte e condicionamento. As frutas e hortaliças climatéricas, como por exemplo, a banana, manga e abacate diferentemente das não climatéricas, como por exemplo, uva, limão, laranja e figo continuam respirando após a sua colheita, sendo este o principal fator que auxilia na perda de uma grande quantidade desta classe de produto. Dentre as várias práticas de manejo empregadas para controle do amadurecimento e também com o objetivo de prolongar a vida pós-colheita destes frutos, destacam-se as estratégias para manipulação da síntese e ação do etileno, o qual é o hormônio natural do amadurecimento que marca a transição entre as fases de crescimento e senescência do fruto (CHITARRA & CHITARRA, 1990).

Neste sentido, alguns estudos vêm sendo conduzidos com o objetivo de prolongar a vida de prateleira desta classe de frutas e hortaliças, nos quais empregam os chamados absorvedores de etileno. Alguns compostos são empregados em embalagens com este objetivo, como por exemplo, o permanganato de potássio e a sílica gel, os quais absorvem o etileno liberado por frutos ao longo da maturação formando através de uma reação de oxidação ácido acético como produto final. Com isso, o processo de amadurecimento é freado, fazendo com que os produtos tenham um prolongamento da vida de prateleira. Os absorvedores de etileno estão sendo usados na pós-colheita de frutas, quando o objetivo é reduzir a concentração de etileno para que se tenha uma maior retenção da cor verde na casca e uma maior firmeza no fruto (AZEREDO, 2012).

ABSORVEDORES DE UMIDADE

Com o objetivo de prevenir o transporte de umidade e estabelecer a umidade relativa do ar desejada no espaço livre da embalagem, novas tecnologias têm sido desenvolvidas. Uma das formas de se reduzir os níveis de umidade de um sistema é através da incorporação de substâncias com ação umectante entre duas camadas de um filme plástico, sendo o externo de baixa permeabilidade e o interno de alta permeabilidade à umidade. Outra alternativa para controlar a umidade no interior das embalagens é através do uso de sachês contendo compostos dessecantes como álcool, propilenoglicol e carboidratos (AZEREDO, 2012).

Neste sentido, atualmente no mercado de embalagens de carnes e de peixes, os absorvedores de umidade representam um nicho estratégico, tendo em vista que permitem um maior controle da estabilidade e vida de prateleira destes produtos de fácil deterioração. São utilizados sachês compostos de polpa de celulose, amido, dentre outros carboidratos, os quais atuam na retenção do exsudado liberado, mantendo a bandeja limpa e seca. Estes compostos ainda podem ter sua atividade potencializada quando se combina seu poder de absorção de umidade com um agente antimicrobiano, diminuindo assim as perdas por deterioração microbiana (AZEREDO, 2012).

LIBERADORES OU ABSORVEDORES DE SABORES E ODORES

Alguns sabores indesejáveis podem se desenvolver nos alimentos durante o período de estocagem, fazendo com que o consumidor venha a rejeitar o produto. Pensando nisso, uma companhia japonesa, criou um filme para remoção de odores de aminas. Esta abordagem foi desenvolvida pela criação de uma embalagem que contém sais de ferro e ácidos orgânicos, os quais possuem ação oxidante frente a aminas (AZEREDO, 2012).

Uma aplicação bastante promissora foi a embalagem ativa desenvolvida para reduzir o gosto amargo em suco de toranja ou *grapefruit (Citrus paradisi)*, o qual é oriundo da presença

de altos níveis de limonina e naringina. Neste estudo, foi desenvolvida uma embalagem ativa na forma de filme de acetato de celulose à qual foi adicionada a enzima naringinase, que ao entrar em contato com a naringina faz a degradação deste composto diminuindo o sabor amargo apresentado por ela (SOARES & HOTCHKISS, 2008).

Além dessas embalagens descritas anteriormente, algumas outras inovações vem sendo feitas na área de acondicionamento de alimentos, as quais são exemplificadas no próximo item.

APLICAÇÕES DE EMBALAGENS ATIVAS

O uso de embalagens ativas para acondicionamento de alimentos tem sido uma tendência na área de alimentos, tendo em vista possuem diversas vantagens quando comparado ao uso de embalagens tradicionais. Neste sentido, estudos vem sendo conduzidos no mundo todo empregando essas embalagens para conferir aos alimentos ali acondicionados características benéficas tanto para o consumidor quanto para o produto.

Neste contexto, as abordagens que permitem a liberação de gases do interior de embalagens é uma forma bastante eficaz de garantir maior vida de prateleira dos alimentos. Normalmente as embalagens com o objetivo de eliminar gases, como é o caso do dióxido de carbono (CO_2), são construídas com a inserção de uma válvula de alívio, que ao liberar o CO_2 do interior da embalagem previne reações de oxidação e rancificação, permitindo assim a manutenção do aroma e cor dos alimentos. Conforme César, De Mori & Batalha (2009), que investigou 2 empresas que empregam este tipo de embalagem para acondicionamento de cafés, foi verificado que o uso das mesmas possibilita a diversificação da linha de produtos disponibilizados ao mercado consumidor.

De acordo com César, De Mori & Batalha (2009), o uso dessas embalagens permite que o café que chega até o consumidor apresente uma qualidade superior e diferenciada, fazendo com que não somente a apresentação do produto seja satisfatória, mas também que a qualidade sensorial dele fosse superior aos produtos comumente presentes no mercado. Assim, percebe-se que o uso deste tipo de embalagem ao café agrega valor ao produto, haja vista que o mercado alvo é bastante exigente, não se preocupando em despender maiores valores na aquisição do produto.

Como é possível observar, as embalagens convencionais estão começando a dar espaço para as embalagens ativas, que além de interagirem com o consumidor, prolongam a vida útil do alimento, usando compostos sustentáveis. Neste sentido, no trabalho desenvolvido por Schimitz *et al.* (2016), foi avaliado o efeito de 2 sachês elaborados com filmes a base de amido de milho nativo, compostos de gelatina e polpa de guabiroba, a qual possui ação antioxidante, beneficiando a indústria de alimentos, afim de evitar a oxidação de lipídios.

Neste trabalho, foram avaliados o índice de acidez (IA) e o índice de peróxido (IP), nos dias 0, 7, 15, 22, 29, com o objetivo de verificar a estabilidade do azeite de oliva acondicionado nos sachês. O IA obtido no sachê com polpa de guabiroba no dia 29 foi de 0,32% de ácido oleico, mas não apresentou resultados significativamente diferente em relação ao IA do sachê sem polpa de guabiroba ao vigésimo nono dia que foi de 0,31% de ácido oleico (SCHMITZ *et al.,* 2016). Em relação aos índices de peróxido, o sachê com o filme sem adição de polpa de guabiroba apresentou no dia 0, o valor de 2,28 meq kg^{-1}, passando para 7,50 meq kg_{-1} no dia 29. Enquanto isso, foi encontrado o valor de 7,40 meq kg^{-1} no dia 29 quando o sachê elaborado com o filme com adição de polpa de guabiroba foi utilizado, apresentando diferença significativa entre os dois filmes durante a vida de prateleira. Isso se deve ao fato de possuir oxigênio dentro da embalagem o que favorece a oxidação lipídica. Desta forma, tanto os índices de acidez como de peróxido, estão dentro dos níveis permitidos pela legislação vigente, mostrando que o uso dessas embalagens é adequado e promissor como embalagem alternativa com ação antioxidante aos alimentos (SCHMITZ *et al.,* 2016).

O desenvolvimento de embalagens ativas que possuam capacidade antioxidante é um fator que melhora a qualidade do alimento, uma vez que, a oxidação lipídica não é desejada pela indústria de alimentos, devido ao sabor e odor rançoso produzido no alimento. Além disso, as embalagens ativas são benéficas ao meio ambiente, devido a sua composição ser biodegradável e poder substituir de forma satisfatória as embalagens plásticas e reduzir a quantidade de lixo produzido (VENZEL & SCAPIM, 2015). Sendo assim, Venzel & Scapim (2015) desenvolveram um protótipo de embalagem biodegradável constituída de amido de mandioca e polímeros sintéticos biodegradáveis, com capacidade antioxidante devido a adição de extrato de abacate, e testada em biscoitos de polvilho. O presente trabalho não observou uma ação antioxidante expressiva sobre os biscoitos mas, se mostrou eficaz no que se refere a sustentabilidade e com algumas melhorias teria uma boa aplicabilidade à indústria de alimentos, além de ser de baixo custo (VENZEL & SCAPIM, 2015).

O uso de embalagem ativa para o controle da ação da enzima polifenoloxidase (PPO) sobre batatas fatiadas, foi a proposta de estudo de Junqueira *et al.* (2009). Esta enzima é responsável pelo escurecimento enzimático em alimentos que sofreram alguma injúria ou corte, facilitando a exposição da superfície com o oxigênio, fato este que é indesejável na indústria de alimentos e na comercialização dos alimentos (JUNQUEIRA *et al.*, 2009).

Em seu estudo, Junqueira *et al.* (2009) avaliaram a efetividade de um filme desenvolvido com base celulósica, incorporados com a mistura ácido ascórbico, ácido cítrico e com o antioxidante metabissulfito de sódio. De acordo com os autores, foi possível observar que as batatas em contato com o filme composto por antioxidantes naturais (ácido cítrico e ácido ascórbico), mantiveram a cor inicial da batata durante o período de armazenamento. Isso

se deve em razão da diminuição do pH a valores abaixo de 6, que refletem diretamente na redução da atividade da enzima PPO em 50%. Em contrapartida, os tratamentos com metabissulfito de sódio não obtiveram ação positiva (JUNQUEIRA *et al.*, 2009).

Muitos alimentos estão propícios a ação de enzimas e microrganismos, principalmente no que diz respeito aos produtos hortícolas, causando alterações indesejáveis. Nesse sentido, o trabalho desenvolvido por Rauschkolb, Foralosso e Fronza (2017), teve por objetivo o desenvolvimento de um filme ativo de policloreto de vinila (PVC) com metabissulfito de potássio misto e posterior aplicação em maçãs do tipo gala, descascadas, cortadas em cubos e envolvidas nos diferentes filmes ativos. O uso do metabissulfito de potássio é feito em razão deste composto possuir características antimicrobianas e antiescurecimento ao liberar o dióxido de enxofre. Neste estudo, o uso deste composto químico foi avaliado realizando 4 tratamentos: sendo um o controle (FC) e três tratamentos avaliando a concentração deste ativo nas concentrações de 0,1; 1,0 e 2,0% (p/p) do aditivo misto em relação a massa de PVC, que corresponderam aos tratamentos F01; F1 e F2, respectivamente. Foi feita a avaliação das amostras em temperaturas diferentes de refrigeração e ambiente, e em diferentes tempos de estocagem (RAUSCHKOLB, FORALOSSO, e FRONZA, 2017).

De acordo com os dados obtidos, o índice de antiescurecimento (IE) foi maior para maçãs dos tratamento FC e F1, isso se deve ao fato das concentrações de aditivos nesses filmes serem menores em comparação aos outros tratamentos. Porém, o IE foi maior em todos os tratamentos ao longo dos dias de estudo, evidenciando que independente da concentração de aditivos utilizadas, não é possível impedir totalmente o escurecimento dos frutos. Em relação ao efeito antimicrobiano, este foi melhor no tratamento F2 com maior concentração de aditivo. Mas em relação aos parâmetros tempo/temperatura, foi observado um crescimento microbiano maior com o passar dos dias, e com o aumento da temperatura principalmente o crescimento dos psicrotróficos, que foram maiores nas amostras FC e F01 (RAUSCHKOLB, FORALOSSO, e FRONZA, 2017).

No estudo também foi avaliado a perda de massa das maçãs, e essa foi mais significativa nos tratamentos F1 e F2, os quais usaram uma concentração maior de aditivos nos filmes. Já o estudo da migração de SO_2 foi satisfatório para os tratamentos F01 e F1, apenas o tratamento F2 apresentou valores maiores, mas ao final do décimo sexto dia, o que ainda sim é benéfico pois além de estar dentro dos limites impostos pela legislação, aumentou a vida útil das maçãs em 8 dias. Nesse sentido, o estudo apresentou uma boa opção de filme para hortícolas minimamente processada pois conseguiu aumentar a vida útil das maçãs, o que é muito vantajoso (RAUSCHKOLB, FORALOSSO, e FRONZA, 2017).

Em um estudo similar, Marin *et al.* (2010) avaliou o uso de antimicrobianos em vegetais minimamente processados com o objetivo de manter a qualidade e os nutrientes. Neste

trabalho foi feito o desenvolvimento de embalagens ativas para alface americana minimamente processada com o intuito de aumentar a vida útil do vegetal. Neste estudo, foram usadas embalagem de polipropileno contendo sachês com 1-metilciclopropeno (1-MCP) selados com filme biodegradável de amido, e armazenados a 4 ºC por 12 dias. Para avaliar a ação deste composto, os alimentos foram avaliados através de testes sensoriais, físico-químicos e microbiológicos (MARIN *et al.,* 2010).

De acordo com o autor, o uso da embalagem com filme de amido biodegradável juntamente com o 1-MCP mostrou-se eficiente para o controle microbiano, garantindo uma vida útil do vegetal de 5 dias quando armazenado a temperatura de 4 ºC. Além disso, de acordo com o autor, o produto apresentou uma boa aceitação sensorial pelos julgadores. Nesse sentido, o uso deste tipo de embalagem pode ser considerado uma opção viável para atender as demandas dos consumidores cada vez mais exigentes em termos de qualidade e que presam muito pela aparência, além de ser uma opção sustentável (MARIN *et al.,* 2010).

O uso de extratos naturais para a conservação de alimentos é uma opção muito promissora, pois, por serem antimicrobianos e antioxidantes naturais, podem substituir os conservantes sintéticos. Nesse sentido, Araujo *et al*. (2013) buscaram avaliar a atividade antifúngica a partir de extratos alcoólicos de condimentos como cravo, canela, orégano, tomilho, gengibre e alho pulverizados dentro das embalagens de pães artesanais salgados e doces. Os resultados obtidos foram satisfatórios, uma vez que, ofereceram conservação microbiológica do pão doce por 10 dias e do pão salgado por 9 dias quando armazenados à temperatura ambiente.

A produção do etileno nas frutas confere o crescimento e amadurecimento das frutas, nesse sentido, quanto mais a fruta respira mais rápido estará amadurecendo e se aproximando da fase de senescência. Buscando retardar esse amadurecimento, Silva *et al*. (2010), avaliaram a eficiência do uso de sachês de permanganato de potássio ($KMnO_4$) associado a embalagem plástica, em mamão tipo Golden. De acordo com este trabalho, quando foram utilizados os sachês de $KMnO_4$, ocorreu uma maior estabilidade entre o 6° e o 15° dia de armazenamento, com concentração entre 8 e 10% de CO_2, abaixo das concentrações dos frutos armazenados sem tratamento. Após 15 dias armazenados nas embalagens, os frutos foram expostos a temperatura ambiente, e observou-se que os frutos tratados com $KMnO_4$ só entraram no pico da fase climatérica após 3 dias, e a taxa respiratória variou de 130 a 150 mg $CO_2.kg^{-1}.h^{-1}$, enquanto os frutos sem tratamento alcançaram o pico entre o 1° e 2° dia e com taxa respiratória de 170 mg $CO_2.kg^{-1}.h^{-1}$ (SILVA *et al*., 2010). Além disso, aspectos como a cor da casca após 15 dias, perda de massa (3,7% de matéria fresca), firmeza, permeabilidade seletiva e aspecto visual foram satisfatórios para os frutos tratados com $KMnO_4$. Com isso, o uso do sachê de permanganato de potássio mostrou-se viável para manter os frutos verdes durante 15 dias de armazenamento a 20 °C (SILVA *et al*., 2010).

Além das embalagens ativas mencionadas anteriormente, uma outra abordagem bastante promissora são as embalagens inteligentes, as quais permitem um maior controle da qualidade dos alimentos quando expostos aos consumidores. O uso de embalagens inteligentes é um grande avanço no que se refere a segurança alimentar, uma vez que foram desenvolvidas embalagens incorporadas com dispositivos que interagem com o consumidor, garantindo assim qualidade e segurança ao alimento. Neste sentido, vários avanços nesta área têm sido feitos, utilizando extratos naturais e filmes biodegradáveis com o objetivo de monitorar algumas condições dos alimentos nelas acondicionados.

Nesse contexto, Hoffmann *et al*. (2019) buscaram desenvolver uma embalagem inteligente composta por extrato de antocianinas da casca de jabuticaba, amido e glicerol, para acondicionamento de leite integral. Neste trabalho, os filmes biodegradáveis foram submetidos a variações de pH, e se mostraram eficientes para uso em embalagens indicadoras de pH. Em relação a aplicabilidade dos filmes para leite integral, o mesmo se mostrou eficiente, tendo em vista que no primeiro dia de armazenamento o pH do leite era 6,52 e o filme submerso no leite apresentava uma coloração mais escura. Já no oitavo dia de armazenamento do leite sob 25 °C, o pH foi de 2,38, e o filme apresentou uma coloração mais rosada. Com isso, a variabilidade da coloração e consequentemente do pH são achados importantes para o consumidor identificar a qualidade do leite (HOFFMANN *et al*., 2019).

Ainda relacionado ao uso de embalagens inteligentes, Maciel *et al*. (2012) propuseram um sistema biodegradável com indicador colorimétrico de temperatura, composto de filmes de quitosana contendo clorofila, os quais foram usados como revestimento de papel cartão. Esta abordagem mostrou-se eficiente em uma faixa de temperatura de 50°C a 75°C, mudando a cor, irreversivelmente, de verde para amarelo quando exposto nesta faixa de temperatura. Com isso é possível dimensionar as condições que um alimento ou produto foram expostos durante transporte e armazenamento, além de ser obtido de fontes naturais não causando riscos ao alimento e consequentemente à saúde do consumidor.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente as embalagens tradicionais não são mais suficientes para atender as novas exigências dos consumidores, que querem investir na sua saúde e segurança de alimentos. Sendo assim diversas tecnologias vêm sendo desenvolvidas. No Brasil o desenvolvimento é limitado, em decorrência das restrições de legislação, receio ou resistência do consumidor, necessitando ainda de pesquisas sobre sua efetividade e impacto econômico ambiental.

É possível observar que as embalagens ativas são uma ótima alternativa para alimentos perecíveis, tendo em vista que, além de aumentarem a vida de prateleira, por vezes pode tornar o alimento mais nutricional e com características benéficas ao consumidor. Além

disso, pode reduzir os custos com desperdícios de alimentos, oferecendo assim ao cliente, um alimento mais fresco e com menor concentração de aditivos químicos sintéticos.

Desta forma, é possível afirmar que as embalagens ativas apresentam um grande potencial de aplicação no mercado de alimentos, visando garantir e, ou monitorar a qualidade e a segurança desses produtos. Outro fator de elevada importância é o fato de que muitas alternativas discutidas no decorrer do texto empregam para sua produção resíduos agroindustriais até então com pouca aplicabilidade, reduzindo assim o impacto ambiental negativo que estes resíduos causam quando depositados no meio ambiente. Além disso, essas embalagens são caracterizadas em sua maioria como biodegradáveis, sendo mais ambientalmente corretas quando comparadas às embalagens comumente utilizadas, sendo uma ótima alternativa sustentável e inovadora para aplicação de rotina em indústrias de alimentos.

REFERÊNCIAS

1. ABRE – Associação Brasileira de Embalagem. **Embalagens ativas.** São Paulo. 2020. Disponível em: <https://www.abre.org.br/>. Acesso em: 19 ago. 2020.

2. ALIZADEH-SANI, M.; MOHAMMADIAN, E.; MCCLEMENTS, D. J. Eco-friendly active packaging consisting of nanostructured biopolymer matrix reinforced with TiO2 and essential oil: Application for preservation of refrigerated meat. **Food Chem.**, Amsterdã, v. 322, n. 1, p. 126-137, ago. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814620306440>. Acesso em: 10 nov. 2020.

3. APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. **Packaging Technology and Science**: Immobilisation of lysozyme on food contact polymers as potential antimicrobial films. 10. ed. 1997. p. 271-279.

4. ARAUJO, R. C.; CHALFOUN, S. M.; ANGÉLICO, C. L.; BATISTA, L. R.;. **Embalagem ativa com extrato alcoólico de condimentos para conservação de pães artesanais**. In: Congresso Brasileiro de Agroecologia, Guarapari: Dez. 2013. Disponível em: <http://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/handle/item/87>. Acesso em: 10 nov. 2020.

5. ARBOS, K. A.; STEVANNI, P. C.; CASTANHA, R. F. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos em casca e amêndoa de frutos de manga. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 2, p. 161-165, abr. 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-737X2013000200003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 17 nov. 2020.

6. AZEREDO, H. M. C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2012. p. 1-287.

7. BAJPAI, V. K.; BAEK, K.; KANG, S. C. Control of Salmonella in foods by using essential oils: a review. **Food Reseach. Int.** Amsterdã, v. 45, n. 2, p. 722-734, mar. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996911002912>. Acesso em: 17 nov. 2020.

8. CÉSAR, A. D. S; DE MORI, C.; BATALHA, M. O. Inovações tecnológicas de embalagens nas indústrias de alimentos: estudo de caso da adoção de embalagem ativa em empresas de torrefação de café. **Revista Bras. Inov.**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 2, p. 355-378, jul. 2009. Disponível em: <https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/rbi/article/view/8649005>. Acesso em: 17 nov. 2020.

9. CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças**: **fisiologia e manuseio.** 2. ed. Lavras: EsalFaepe, 1990. 320 p.

10. CHOULITOUDI, E.; VELLIPOULOU, A.; TSIMOGIANNIS, V.; OREOPOUPOU, V. Effect of active packaging with *Satureja thymbra* extracts on the oxidative stability of fried potato chips. Food Packag Shelf Life. Amterdã, v. 23, n. 1, mar. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289419301887>. Acesso em: 17 nov. 2020.

11. CUNHA, L. R. D.; SOARES, N. F. F.; ASSIS, F. C. C.; MELO, N. R.; PEREIRA, A. F.; SILVA, C. B. Desenvolvimento e avaliação de embalagem ativa com incorporação de lactase. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 1, n. 1, p. 23-26, ago. 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cta/v27s1/a04v27s1.pdf>. Acesso em: 17 nov. 2020.

12. DEVLIEGHERE, F.; VERMEIREN, L.; DEBEVERE, J. New preservation technologies: possibilities and limitations. **Int Dairy Journal**, Amsterdã, v. 14, n. 4, p. 273-285, abr. 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694603001754>. Acesso em: 27 nov. 2020.

13. HOFFMANN, T. G.; AMARAL, D. P.; BARBIERI, M.; OLIVEIRA, J. T.; ANGIOLETTI, B. L.; CARVALHO, L.; BERTOLI, S. L.; SOUZA, C. K. Embalagem inteligente à base de jabuticaba com potencial aplicação em alimentos lácteos. In: Congresso Brasileiro de Polímeros. Bento Gonçalves. 2019. **Anais do 15 Congresso Brasileiro de Polímeros.** . Disponível e: <https://www.researchgate.net/publication/337720984_EMBALAGEM_INTELIGENTE_A_BASE_DE_JABUTICABA_COM_POTENCIAL_APLICACAO_EM_ALIMENTOS_LACTEOS > Acesso em: 20 nov. 2020.

14. GUILBERT, S.; CUQ, B.; GONTARD, N. Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. **Food Addit Contam.** Hants, v. 14, n. 6-7, p. 741-751, jan. 2009. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9373537/ >. Acesso em: 14 nov. 2020.

15. JAYASENA, D. D.; JO, C. Essential oils as potential antimicrobial agentes in meat and meat products: A review. **Trends Food Sci Tech** , Amsterdã, v. 34, n. 2, p. 96-108, dez. 2013. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224413002033#:~:text=Production%20of%20safe%20and%20high,for%20consumer%20demands%20is%20challenging.&text=Plant%20essential%20oils%20(EOs)%20are%20effective%20natural%20antimicrobial%20agents.&text=Plant%2Dderived%20essential%20oils%20(EOs,in%20meat%20and%20meat%20products.>. Acesso em: 18 nov. 2020.

16. JORGE, N. **Embalagens para Alimentos**. 1. ed. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2013. 198p.

17. JUNQUEIRA, M. D. S. SOARES, N. F. F.; REIS, R. C.; CARNEIRO, J. D. S.; BENICIO, R. T.; YOKOTA, S. R. C. Efeito de embalagens ativas no escurecimento enzimático de batatas (solanum tuberosum) fatiadas e minimamente processadas. **Semina Ciênc Agrar** , Brasil, v. 30, n. 3, p. 613-618, jun. 2009. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/viewFile/3569/2882#:~:text=No%20caso%20da%20batata%20fatiada,o%20tratamento%20com%20compostos%20qu%C3%ADmicos.>. Acesso em: 10 nov. 2020.

18. SONNEVELD, K. What drives (food) packaging innovation. **Packag Technol Sci**. New Deli, v. 13, n. 1, p. 29-35, out. 1999. Disponível em: < https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/%28SICI%291099-1522%28200001/02%2913%3A1%3C29%3A%3AAID-PTS489%3E3.0.CO%3B2-R>. Acesso em: 12 nov. 2020.

19. LUCHESE, C. L. **Desenvolvimento de embalagens biodegradáveis a partir de amido contendo subprodutos provenientes do processamento de alimentos**. 2018. 226 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

20. MACIEL, V. B. V; FRANCO, T. T.; YOSHIDA, C. M. P. Sistemas Inteligentes de Embalagens Utilizando Filmes de Quitosana como Indicador Colorimétrico de Temperatura. **Polímeros**, São Paulo, v. 22, n. 4, p. 318-324, ago. 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104142820120050000054&script=sci_abstract&tlng=pt#:~:text=YOSHIDA%2C%20Cristiana%20M.%20P..,Sistemas%20inteligentes%20de%20embalagens%20utilizando%20filmes,-como%20indicador%20colorim%C3%A9trico%20de%20temperatura.&text=Clorofila%2C%20um%20pigmento%20natural%20termossens%C3%ADvel,indica%C3%A7%C3%A3o%20de%20varia%C3%A7%C3%A3o%20de%20temperatura.>. Acesso em: 09 nov. 2020.

21. MANIGLIA, B. C. **Aproveitamento de resíduos agroindustriais para preparação de filmes biodegradáveis.** 2017. 323 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

22. MARIN, T. MONTANUCCI, J. R.; BENASSI, M. Y.; YAMASHITA, F.. Embalagem ativa para alface americana (Lactuca sativa L.) minimamente processada. **Semina Ciên Agrár.** Londrina, v. 31, n. 3, p. 653-660, set. 2010. Disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/279664839_Embalagem_ativa_para_alface_americana_Lactuca_sativa_L_minimamente_processada>. Acesso em: 01 out. 2020.

23. OLMEDO, R. H.; NEPOTE, V.; GROSSOA, N. R.; Preservation of sensory and chemical properties in flavoured cheese prepared with cream cheese base using oregano and rosemary essential oils. **Food Sci Technol**, v. 53, n.2 p. 409-417, out. 2013. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643813001333>. Acesso em: 01 out. 2020.

24. RAUSCHKOLB, J. C. FORALOSSO, F. B.; FRONZA, N. Embalagem ativa multifuncional para a conservação de produtos hortícolas minimamente processados. **CSBEA**, Santa Catarina, v. 3, n. 1, p. 1-1, dez. 2017. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/6455/e4dad89396df4f0b569fe98c73270386b6ec.pdf>. Acesso em: 25 out. 2020.

25. SARMENTO, D. S. **Influência dos Resíduos Agroindustriais na Saúde Pública: estudo de caso em Sousa – PB.** 2015. 42 p. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Programa de Pós Graduação em Sistemas Agroindustriais, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2015.

26. SCHMITZ , A. C.; MALHERBI, N. M.; MORAES, A. F. C.; TORMEN, L.; BERTAN, L. C. Efeito do uso de embalagem ativa no acondicionamento de azeite-de-oliva extra-virgem. Chapecó/SC. **Anais VI JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA.** Chapecó/SC: Universidade Federal da Fronteira Sul, 2016.

27. SILVA, D. F. P. D.; SALOMÃO, L. C. C.; CECON, P. R.; SIQUEIRA, D. L.. Efeito de absorvedor de etileno na conservação de mamão “Golden”, armazenado à temperatura ambiente. **Rev Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 6, p. 706-715, nov. 2010. Disponível em: < https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034-737X2010000600002&script=sci_abstract&tlng=pt#:~:text=Dalmo%20Lopes%20de.-,Efeito%20de%20absorvedor%20de%20etileno%20na%20conserva%C3%A7%C3%A3o%20de%20mam%C3%A3o,%22%2C%20armazenado%20%C3%A0%20temperatura%20ambiente.&text=O%20objetivo%20foi%20determinar%20a,'%2C%20armazenado%20sob%20temperatura%20ambiente.>. Acesso em: 05 nov. 2020.

28. SOARES, N. F. F; HOTCHKISS, J. H.. Naringinase immobilization in packing films for reducing naringin concentration in grapefruit juice. **J Food Sci** , Chicago, v. 63, n. 1, p. 61-65, jun. 2008. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.1998.tb15676.x >. Acesso em: 18 nov. 2020.

29. TEUMAC, F.N. The history of oxygen scavenger bottle closures. In: ROONEY, M.L. **Active food packaging.** Glasgow: Chapman & Hall, 1995. cap. 2. p. 193-202.

30. VENZEL, A. H. S.; SCAPIM, M. R. S. **Desenvolvimento e avaliação de embalagem biodegradavel e ativa no controle da oxidação lipídica em alimentos**. Maringá. Disponível em: < https://certificados.uenp.edu.br/propg/2015/Anais%20EAITI%202015/Agrarias/ana%20heloisa_agrarias.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2020.

16

Emulsões água em água: potencial aplicação alimentícia

- Bianca **Hazt**
  UFPR
- Bernardo Mauad **Régnier**
  UFPR
- Pedro Henrique **Guedes**
  UFPR
- Rilton Alves de **Freitas**
  UFPR

10.37885/201102233

RESUMO

As chamadas emulsões água em água não contam com uma fase oleosa tal como as emulsões tradicionais, tratando-se de sistemas onde há uma incompatibilidade termodinâmica entre dois polímeros distintos quando em dispersão aquosa. Tais emulsões tendem a se desestabilizar com o tempo devido a mecanismos já conhecidos de desestabilização de emulsões. Como a adição de moléculas anfifílicas não é uma alternativa para a estabilização desses sistemas aquosos, como ocorre para sistemas óleo/água, a adição de partículas de Pickering, que se adsorvem na interface e previnem a coalescência, é uma alternativa para a estabilização desses sistemas e posteriores aplicações na indústria alimentícia. A caracterização das emulsões água em água é importante para relacionar propriedades morfológicas e características da interface com aspectos macroscópicos. A aplicação desses sistemas em produtos alimentícios é uma possibilidade para a produção de alimentos dietéticos, com baixo teor de calorias ou com a ausência de fases oleosas.

Palavras-chave: Emulsões, Emulsões Água em Água, Emulsões de Pickering, Caracterização de Emulsões, Emulsões Alimentícias.

INTRODUÇÃO

As emulsões são definidas pela IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) como sistemas coloidais fluidos nos quais gotas ou cristais líquidos estão dispersos em um líquido. A definição ainda estabelece que as gotículas da fase dispersa podem exceder os limites usuais das dimensões coloidais, de 1 a 1000 nm (McNaught e Wilkinson, 1997). Assim, as emulsões são sistemas coloidais nos quais a fase dispersa pode ser oleosa ou aquosa, e existem emulsões formadas por fases oleosas e aquosas misturadas, somente oleosas ou somente aquosas (emulsões água em água – a/a).

As emulsões são aplicadas nos mais variados setores, estando presentes diariamente em diversos produtos utilizados pela população. Como exemplo, no setor de alimentos é possível citar o leite e produtos lácteos, temperos, molhos e demais produtos prontos para o consumo (Heertje, 1993; Adheeb Usaid, Premkumar e Ranganathan, 2014). No entanto, a formação espontânea de uma emulsão constituída por fases oleosas e/ou aquosas dificilmente acontece, já que termodinamicamente a separação em duas fases é favorecida (Schramm, 2014). A separação entre as fases ocorre quando a variação da energia livre de Gibbs da emulsão é positiva ($\Delta G>0$). Na equação (1), ΔH representa a variação da entalpia, T a temperatura absoluta e ΔS a variação da entropia.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (1)$$

A formação de uma emulsão está relacionada com o aumento do termo entálpico (ΔH), que é diretamente proporcional ao produto da diferença de área interfacial e da tensão interfacial ($y\Delta A$). Este termo da equação é maior do que a entropia de dispersão do sistema, fazendo com que a variação de energia livre (ΔG) seja positiva. Assim, as emulsões podem ser mantidas cineticamente em um estado metaestável, através da adição de emulsificantes ou partículas que geram impedimento estéreo ou repulsivo na interface. Tais emulsificantes modificam as propriedades mecânicas dos filmes interfaciais formados na superfície das gotículas – gerando uma redução na tensão interfacial, já que um menor valor de energia livre de interface faz com que áreas interfaciais maiores, menores tamanhos de fase dispersa, sejam mantidas, contribuindo para a metaestabilidade, e reduzindo, em conjunto com os parâmetros cinéticos, os fenômenos de separação de fases que incluem a sedimentação, cremeação, floculação, coalescência, envelhecimento de Ostwald ou inversão de fases. Normalmente, são empregados tensoativos ou partículas (partículas de Pickering) que se adsorvem na interface entre as duas fases, além de agentes que modifiquem as propriedades reológicas da fase contínua a fim de promover estabilidade e garantir a característica de micro heterogeneidade das emulsões por um maior período de tempo (Schramm, 2014; Goodarzi e Zendehboudi, 2019).

As emulsões água em água (a/a) são um tipo de dispersão coloidal não tão usual. Elas são formadas a partir de soluções de polímeros hidrofílicos, mas apresentam incompatibilidade termodinâmica entre si (Wilkinson, 2014). Como se tratam de duas fases aquosas incompatíveis termodinamicamente, a interface das emulsões a/a é caracterizada por tensões interfaciais (γ) menores do que 10^{-2} mN m^{-1}. Enquanto isso, as emulsões formadas por óleo e água possuem valores de γ na ordem de 30 mN m^{-1} (Esquena, 2016). Isso faz com que esse tipo particular de emulsões não possa ser estabilizado através do uso de moléculas anfifílicas, já que a interface entre as duas fases aquosas é expressa, unicamente, em escalas de comprimento maiores do que o comprimento de correlação das soluções de macromoléculas (Nicolai e Murray, 2017).

Assim como as emulsões óleo em água, as emulsões a/a não se formam espontaneamente, e a adição de partículas de Pickering, ou seja que se acumulam na interface de maneira espontânea, é uma alternativa para a estabilização das emulsões através da redução da energia livre (ΔG) de interface, e mantê-las no estado metaestável. A equação (2) descreve a adsorção de partículas esféricas em uma interface formada por líquidos imiscíveis (Faraudo e Bresme, 2003; Binks e Horozov, 2006). Nela, o valor de ΔG depende do quadrado do raio das gotículas R, da tensão interfacial entre as fases γ bem como do valor de θ, que é o ângulo que a partícula faz com a interface aquosa.

$$\Delta G = \pi R^2 \gamma (1 - |\cos\theta|)^2 \quad (2)$$

Para partículas no formato aproximado de bastão, ou seja, que possuam uma maior razão de aspecto em relação às esferas, deve-se considerar a equação (3) para ângulos de contato da partícula com a interface $0° \leq \theta \leq 90°$, e a equação (4) para ângulos que fiquem entre $90° \leq \theta \leq 180°$, na interface de uma emulsão (Binks e Horozov, 2006; Faraudo e Bresme, 2003; Elias-Machado, Freitas e Wypych, 2019). Nessas duas equações, os parâmetros *a* e *b* são constantes positivas que estão relacionadas com a geometria da partícula e representam uma correção da equação anterior (2), sendo que *a* é o valor do maior e *b* valor menor comprimento de semieixo.

$$\Delta G_{d1} = \gamma \pi b^2 (1 - \cos\theta)^2 \left[1 + \frac{4(a/b - 1)(\text{sen}\theta - \cos\theta)}{\pi (1 - \cos\theta)^2} \right] \quad (3)$$

$$\Delta G_{d2} = \Delta G_{d1} + 4\gamma \pi b^2 \cos\theta \left(\frac{a}{b} \right) \quad (4)$$

Embora a incompatibilidade entre os sistemas aquosos bifásicos tenha sido reportada há tempos - em 1896 (Beijerinck, 1896) - e o fenômeno de separação das fases tenha sido estudado naquela época (Grinberg e Tolstoguzov, 1997; Doublier *et al.*, 2000; Hatti-Kaul, 2001; Frith, 2010), o interesse em aplicar tais emulsões nas indústria alimentícia é recente.

Para tal, o uso de biopolímeros e partículas como agentes estabilizantes das emulsões e que possuam grau alimentício, deve ser considerado (Nicolai e Murray, 2017).

Desta maneira, o presente artigo tem como objetivo revisar e descrever esses sistemas aquosos bifásicos mais conhecidos como emulsões água em água que possuem potencial aplicação na indústria alimentícia.

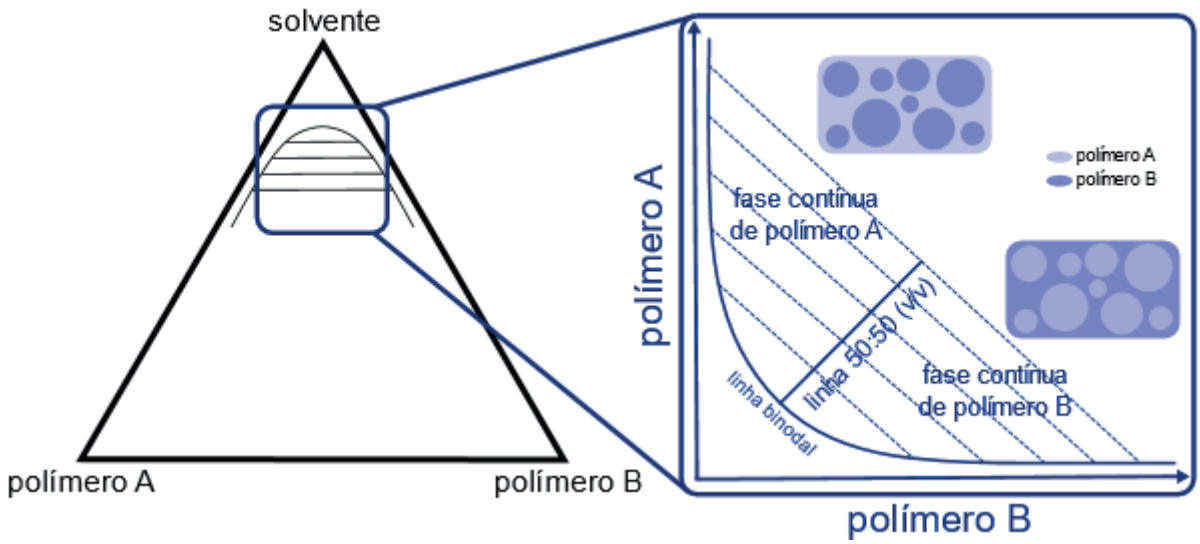
TERMODINÂMICA DE SEPARAÇÃO DE FASES PARA SISTEMAS BIFÁSICOS AQUOSOS

Ao misturar dois ou mais polímeros hidrofílicos em água, é esperado que exista uma separação de fases da mistura, acima de algumas concentrações mínimas. É comum que isso se deva à entropia negativa de mistura, quando as duas moléculas não são carregadas (Esquena, 2016). O processo de separação de fases pode ser associativo ou segregativo. A separação de fases associativa é mais comum quando há a presença de cargas opostas nos polímeros, enquanto a última é comum para misturas de componentes hidrofílicos que não apresentem elevada carga líquida em sua estrutura. A separação de fases segregativa pode ocorrer tanto por um processo de decomposição, na forma de uma nucleação (quando núcleos são formados e crescem com o passar do tempo), ou através da decomposição espinodal (quando todo o sistema passa por uma separação simultânea). Tais processos são governados pela energia de separação de fases, sendo que processos de separação de fases através da nucleação estão associados à maiores energias de separação de fases. A incompatibilidade termodinâmica entre os polímeros normalmente é observada quando macroscopicamente há a separação de fases, podendo-se também analisar diferenças de turbidez, bem como utilizar da centrifugação para acelerar a separação entre as fases (Chun *et al.*, 2014).

A **Figura 1** mostra a forma geral de um diagrama de fases ternário para uma solução de dois polímeros A e B que sofrem separação de fases segregativa devido à sua incompatibilidade termodinâmica. Como ambas as fases poliméricas se encontram dispersas em um solvente comum (normalmente água), costuma-se representar o diagrama somente com dois eixos para as concentrações poliméricas (Balakrishnan *et al.*, 2012; Buzza *et al.*, 2013; Freitas *et al.*, 2016; Hazt *et al.*, 2020). A linha binodal separa a região macroscopicamente monofásica (na qual somente uma fase pode ser visualizada) da região bifásica (na qual se observa uma interface que separa as duas fases) e representa a coexistência das fases em equilíbrio. As retas que ligam uma composição à outra, passando pela linha 50:50 (v/v) são chamadas de linhas de amarração. Espera-se que acima da linha 50:50 (v/v) a composição da fase contínua seja a inversa da encontrada abaixo desta linha, como representado na **Figura 1**. Nos diagramas, ao percorrer as concentrações das linhas de amarração algumas

propriedades são constantes, tal como a tensão interfacial entre as fases poliméricas (Ding *et al.*, 2002). Há ainda a linha espinodal, que cruza a linha binodal no ponto crítico, representando a fronteira entre a metaestabiildade e a instabilidade e não pode ser determinada experimentalmente.

Figura 1. Diagrama de fases ternário e binário para dois polímeros a e b termodinamicamente incompatíveis que passam por separação de fases segregativa.



Fonte: Os autores (2020) – adaptado de Piculell e Lindman (1992) e Norton e Frith (2001).

Edelman *et al.* (2001) observaram que as concentrações em que ocorre a separação das fases em emulsões formadas pelos polissacarídeos gelatina e dextrana são praticamente independentes da temperatura, com experimentos feitos acima da temperatura de geleificação da gelatina. Tais observações sugerem uma separação de fases conduzida pela entropia e concordam com o modelo de separação de fases proposto por Wang *et al.* (2001), baseado no fato de interações por depleção dominarem a estabilidade das fases. Tais medidas composicionais podem ainda ser associadas à estimativa da curva limite da região monofásica calculada a partir de um modelo termodinâmico que envolva algumas técnicas experimentais como osmometria ou espalhamento estático de luz laser (Semenova, 2007). Para tal, assume-se que o comportamento do sistema composto pelo solvente (componente 1) e pelos polímeros A, B (componentes 2 e 3) é determinado pelo equilíbrio das interações individuais a nível molecular (Dickinson, 2019).

Para soluções monodispersas de polímeros a uma temperatura constante (T), pode-se utilizar três equações independentes que relacionam os potenciais químicos (μ) de cada um dos componentes com uma expansão virial onde o termo de segunda ordem é truncado, já que se negligenciam interações de três ou mais corpos (Edmond e Ogston, 1968). Nas equações, m_2 e m_3 representam as concentrações em escala molal dos polímeros no sistema, μ_i° e m^0 são o potencial químico padrão e a concentração de cada componente i

(sendo que o solvente é o componente 1, e os polímeros os componentes 2 e 3). Há ainda a inclusão de três segundos coeficientes viriais que descrevem as interações que ocorrem entre polímeros e solvente ou somente entre os polímeros (Dickinson, 2019). A equação (5) é obtida a partir das equações (6) e (7).

$$\mu_1 = \mu_1^{\circ} - (RT/m_1)\left\{m_2 + m_3 + \tfrac{1}{2}\left(A_{22}m_2^2 + A_{33}m_3^2\right) + A_{23}m_2m_3\right\} \quad (5)$$

$$\mu_2 = \mu_2^{\circ} + RT\left\{\ln\left(m_2/m^{\circ}\right) + A_{22}m_2 + A_{23}m_3\right\} \quad (6)$$

$$\mu_3 = \mu_3^{\circ} + RT\left\{\ln\left(m_3/m^{\circ}\right) + A_{33}m_3 + A_{23}m_2\right\} \quad (7)$$

O termo A_{23} é o segundo coeficiente virial para as interações entre os dois polímeros e é um termo positivo, que também expressa o efeito termodinâmico das interações moleculares no seio da solução. Isso significa que ocorre uma interação majoritariamente repulsiva entre diferentes polímeros, portanto há um aumento nos potenciais químicos ou atividades termodinâmicas (Dickinson, 2019), comportamento esperado para a separação de fases segregativa. Ainda, tem-se A_{22} e A_{33} que representam as interações entre os polímeros 2 e 3 (ou A e B) individualmente, além da constante dos gases ideais R.

Para componentes do sistema emulsionado, descrito pelas equações de potencial químico (5)-(7), espera-se que a curva espinodal seja definida pela equação (8) ou (9) (Prigogine e Defay, 1954) - equações equivalentes que descrevem a separação de regiões com instabilidade das metaestáveis. Assim, utilizam-se valores de segundo coeficientes viriais e massas molares dos polímeros a fim de determinar a forma da curva espinodal, o que é válido para soluções compostas por polímeros que sofram separação segregativa de fases.

$$(m_2^{-1} + A_{22})\left(m_3^{-1} + A_{33}\right) - A_{23}^2 = 0 \quad (8)$$

$$\mu_{22}\mu_{33} - \mu_{23}^2 = 0 \quad (9)$$

A linha experimental de coexistência ou linha binodal pode ser descrita por equações que também envolvem parâmetros de interação e massas molares a partir de equações para a pressão osmótica no sistema (Edmond e Ogston, 1968). Tal linha binodal é definida pelos potenciais químicos de cada um dos componentes nas fases em equilíbrio, em pares, indicados por ´ e ´´ nas equações (10). Basicamente, o modelo é baseado em uma expansão virial da pressão osmótica de soluções ternárias, sendo que a incompatibilidade termodinâmica pode ser observada macroscopicamente quando a condição $\mu_{22}\mu_{33} - \mu_{23}^2 < 0$ entre os coeficientes do virial molais é obedecida (Capron, Costeux e Djabourov, 2001).

$$\mu_1' = \mu_1'', \ \mu_2' = \mu_2'', \ \mu_3' = \mu_3'' \quad (10)$$

Utilizando o modelo de rede de Flory-Huggins para soluções semidiluídas e polímeros flexíveis, tem-se a expressão para o potencial químico do polímero A (componente 2) que assume a forma apresentada na equação (11) (Scott, 1949), na qual ϕ_i representa a fração

volumétrica de cada componente i, x_2 e x_3 são os raios entre os volumes molares dos polímeros A e B e o volume molar do solvente. O parâmetro de interação de Flory-Huggins entre as espécies i e j é representado por x_{ij}. A extrapolação para um regime diluído leva a uma relação direta entre os parâmetros de interação descritos por x_{ij} e os segundos coeficientes viriais, conforme mostram as equações (12)-(14), onde M_1 expressa a massa molar do solvente, v_i o volume parcial específico do componente i. A expressão (11) leva em consideração os efeitos das energias de interações moleculares dos segmentos dos polímeros a um nível de aproximação média (Dickinson, 2019).

$$\mu_2 = \mu_2^{\circ} + RT\left\{\ln\phi_2 + (1-x_2)\phi_1 + (1-x_2/x_3)\phi_3 + x_2\left[x_{12}\phi_1^2 + x_{23}\phi_3^2 + \phi_1\phi_3(x_{12}+x_{23}-x_{13})\right]\right\} \quad (11)$$

$$x_{12} = \frac{1}{2} - (v_1 M_1 A_{22}/v_2^2) \quad (12)$$

$$x_{13} = \frac{1}{2} - (v_1 M_1 A_{33}/v_3^2) \quad (13)$$

$$x_{23} = (2v_1 M_1 A_{23}/v_2 v_3) + x_{12} + x_{13} - 1 \quad (14)$$

Tanto as aproximações termodinâmicas da equação (6) quanto da equação (11) sugerem resultados parecidos para o diagrama de fases desses sistemas ternários compostos por polímeros, mesmo considerando que o polímero se encontra monodisperso, o que não é o caso de grande parte dos biopolímeros (Dickinson, 2019). Outro fator a ser considerado é o fracionamento dos polímeros entre as fases que coexistem (Edelman, Tromp e van der Linden, 2003), já que nem sempre a condição de equilíbrio de separação de fases total é atingida.

Para que interações monômero-monômero possam ser consideradas ausentes do sistema se deve assumir que as macromoléculas estão na presença de um bom solvente (no qual as interações majoritárias são entre o polímero e o solvente). Assim, pode-se fazer uso do modelo rede descrito anteriormente, que considera que as configurações dos polímeros são representadas como sequências de esferas, cada monômero representando uma esfera, e que a expressão para a energia livre da mistura (ΔG_{mis}) tem a forma de Flory-Huggins, considerando-se o tamanho e o número de esferas por cadeia (ao invés do tamanho do monômero e do grau de polimerização) (Dickinson, 2019). Na teoria de Flory-Huggins a separação de fases em sistemas ternários é induzida por uma assimetria na interação do polímero com o solvente, e devido às diferenças nas afinidades termodinâmicas, o diagrama de fases resultante não é simétrico em relação às concentrações de polímero, sendo que o resultado esperado é que a maior distribuição de solvente seja para o polímero mais hidrofílico (Capron, Costeux e Djabourov, 2001). Para que se possa determinar o perfil de densidade da interface, devem ser considerados dois termos de densidades de energia, que levam em consideração o gradiente de composição e de concentração (Vis, Erné e Tromp,

2016). Tromp *et al.* (2014) realizaram uma abordagem teórica e experimental, constatando que a região da interface tem menor concentração de polímeros quando comparada ao seio da dispersão, havendo uma espécie de monocamada extra de água como solvente na interface (Tolstoguzov, 2003). O estudo foi realizado em sistemas com biopolímeros onde ocorre separação de fases segregativa, sendo que foram observadas depleções de até 30% (quando no maior grau de incompatibilidade termodinâmica) (Tromp *et al.*, 2014).

Além de fatores estruturais, a carga elétrica presente nas dispersões (poliméricas ou de proteínas, por exemplo) também afeta a estabilidade termodinâmica das fases. Após a separação das fases se tem uma das fases com um material carregado e confinado, resultando em uma diferença de potencial elétrico interfacial chamado de potencial de Donnan (Vis *et al.*, 2014). Tal potencial implica diretamente em fenômenos interfaciais como na adsorção de partículas ou na tensão interfacial, sendo que o conhecimento de tais fatores pode auxiliar na prevenção da coalescência de gotículas.

Assim, ao caracterizar uma interface a/a, espera-se que além da composição sejam estudados fatores como a concentração, curvatura da interface frente a diferentes graus de polimerização e potencial elétrico na interface (Tromp *et al.*, 2014). A contribuição de uma monocamada de água pode contribuir negativamente nos valores de tensão interfacial, que são baixos nos sistemas aquosos em questão e indicariam baixa tendência termodinâmica a coalescer, no entanto a coalescência acaba ocorrendo devido à fenômenos como distúrbios hidrodinâmicos induzidos pela força gravitacional, por exemplo. Tais informações devem ser conhecidas a fim de compreender como se dá a separação de fases ou a deformação das gotículas emulsionadas ao aplicar uma taxa de cisalhamento.

Uma das aplicações que surgem a partir da baixa tensão interfacial nesses sistemas bifásicos aquosos, é a possibilidade de se controlar o tamanho e a morfologia da gotícula da emulsão utilizando dispositivos capilares (microfluídicos), permitindo a fabricação de emulsões duplas monodispersas de água em água em água (emulsões a/a/a) que são biocompatíveis e apresentam um caráter "*eco-friendly*" quando comparadas às emulsões que utilizam solventes orgânicos em suas formulações (Song e Shum, 2012).

SISTEMAS ÁGUA EM ÁGUA

Uma das formas de estabilização das emulsões – formadas por duas fases aquosas imiscíveis - é através da adição de partículas coloidais, partículas de Pickering, que são adsorvidas na interface a/a e previnem a coalescência ou sedimentação das gotículas, estabilizando as emulsões aquosas (Esquena, 2016). A estabilização de emulsões através da adição de partículas possui aplicação tanto para emulsões tradicionais de óleo em água, quanto para emulsões. Alguns sistemas possuem características interessantes, como as

proteínas de origem animal ou vegetal que estabilizam as emulsões e acabam contribuindo na biocompatibilidade das emulsões, sem contar os valores nutricionais que estão associados a elas (Shi *et al.*, 2020).

A **Tabela 1** mostra uma lista em ordem cronológica de publicações que envolvam partículas coloidais adsorvidas na interface de emulsões água/água e levam à uma estabilização através de mecanismos que reduzem a coalescência, sedimentação ou cremeação das fases devido à redução da tensão interfacial ou aumento da viscosidade da fase contínua até a formação de redes geleificadas.

Tabela 1. Lista de publicações de emulsões água em água compostas por diferentes polímeros e partículas utilizadas na estabilização desses sistemas.

Polímeros utilizados	Tipo de partícula	Referência
metilcelulose e dextrana	gordura, quartzo, proteína do soro do leite	Poortinga (2008)
gelatina e amido oxidado	poliestireno (látex), gotículas de emulsão	Firoozmand, Murray e Dickinson (2009)
poli(oxietileno) e dextrana	látex, partículas de β-lactoglobulina, lipossomas de fosfolipídeos, microgéis poliméricos, nanocristais de celulose	Balakrishnan *et al.* (2012); Nguyen, Nicolai e Benyahia (2013); Dewey *et al.* (2014); Nguyen *et al.* (2015); Peddireddy *et al.* (2016)
caseinato de sódio e goma xantana	gotículas de emulsões	Hanazawa e Murray, (2013, 2014)
goma de alfarroba e amido	nanopartículas de sílica	Murray e Phisarnchananan (2014)
gelatina e maltodextrina	microorganismos unicelulares	Firoozmand e Rousseau (2014)
gelatina e dextrana	partículas de gibbsita, proteína do milho	Vis *et al.* (2015; Chatsisvili *et al.* (2017)
caseína e goma xantana	bactérias	Hann *et al.* (2015);
amilopectina e xiloglucana	partículas de β-lactoglobulina	Freitas *et al.* (2016); Hazt *et al.* (2020)
amido e goma de alfarroba	microgéis de proteína do soro do leite	Murray e Phisarnchananan (2016)
poli(etilenoglicol) e dextrana	partículas conjugadas de proteína e polissacarídeo	Xue *et al.* (2017)
poli(oxietileno) e pululana	partículas de montmorillonita	Ganley, Ryan e van Duijneveldt (2017)
poli(oxietileno) e dextrana	placas de poli-láctido, partículas carboxiladas, nanocristais de celulose, microgéis proteicos complexados com polissacaídeos	Abbasi, Navi e Tsai (2018); Ben Ayed *et al.* (2018); Inam *et al.* (2018); Khemissi *et al.* (2018)

FONTE: Adaptado de Dickinson (2019).

Percebe-se que grande parte dos componentes das emulsões a/a são polissacarídeos, como a amilopectina, dextrana e maltodextrina que possuem grande importância nutricional e industrial, por serem acessíveis, de baixo custo e fornecerem energia (Bashir e Aggarwal, 2019). Outro componente que pode ser citado é a xiloglucana, utilizada na indústria alimentícia como espessante, já que forma soluções aquosas viscosas e atua como um prébiotico, sendo parcialmente degradada pela microflora intestinal, aumentando a taxa e extensão de absorção de nutrientes, além de proporcionar um aumento na retenção de água nas fezes, fazendo com que se torne mais macio e fácil de mover, evitando assim constipações

e melhorando a saúde intestinal e pode também ser utilizada para substituir o açúcar em produtos alimentícios de baixa caloria (Mishra e Malhotra, 2009; X. Yang *et al.*, 2020).

Michaux *et al.* (2020) estudou a formação de emulsões de albumina em alginato, contendo encapsulados Ca^{2+}, Fe^{3+} e quitosana, mostrando assim um grande potencial para a encapsulação de emulsões de água em água. No trabalho de Ben Ayed *et al.* (2018) foi estudada a possibilidade de se conseguir um gel da emulsão de poli(etilenoglicol) e dextrana, através da adição de sal e nanocristais de celulose como partículas estabilizadoras em excesso. Os autores apresentam um gel dessa emulsão que tem algumas características definidas pela concentração dos nanocristais adicionados tais como a força desse gel, já que em baixas concentrações de partículas era formado um gel fraco e para maiores concentrações era formado um gel forte que sustentava o seu próprio peso quando o tubo era invertido.

Firoozmand e Rousseau (2014) estudaram a estabilização de uma emulsão de gelatina e maltodextrina, estabilizada com bactérias unicelulares, apontando indícios da formação de uma classe de géis conhecida como bigéis, na qual a estabilização da emulsão não é com gotículas de forma esférica revestidas por partículas mas sim as partículas se agregam formando uma interface plana entre as duas soluções, gerando assim um sistema bicontínuo. Esse estudo mostra que há a possibilidade de se procurar organismos que possam estabilizar emulsões, com foco no desenvolvimento de novas tecnologias para a área alimentícia, já que as bactérias apresentam uma maior resistências à variações de temperatura do que as proteínas e polissacarídeos comumente utilizados, o que tem sido um empecilho para a produção de emulsões água em água na escala industrial e também de conservação, fazendo com que essas emulsões fiquem limitadas à produção de laboratório (Clegg e Thijssen, 2020).

No sistema composto por amido de milho rico em amilopectina e goma de alfarroba, foi demostrado por Murray e Phisarnchananan (2016) que a estabilização das emulsões é possível através da adição de microgéis de proteína do soro do leite e também que é possível retardar a separação de fase pela adição de nanopartículas de sílica (Murray e Phisarnchananan, 2014). Desta maneira, coloca-se que há uma grande variedade de agentes estabilizantes para as emulsões a/a, e que as partículas estabilizadoras, ou a forma como essa emulsão vai ser estabilizada, depende muito da aplicação futura dessa essa emulsão.

CARACTERIZAÇÃO DE EMULSÕES ÁGUA EM ÁGUA

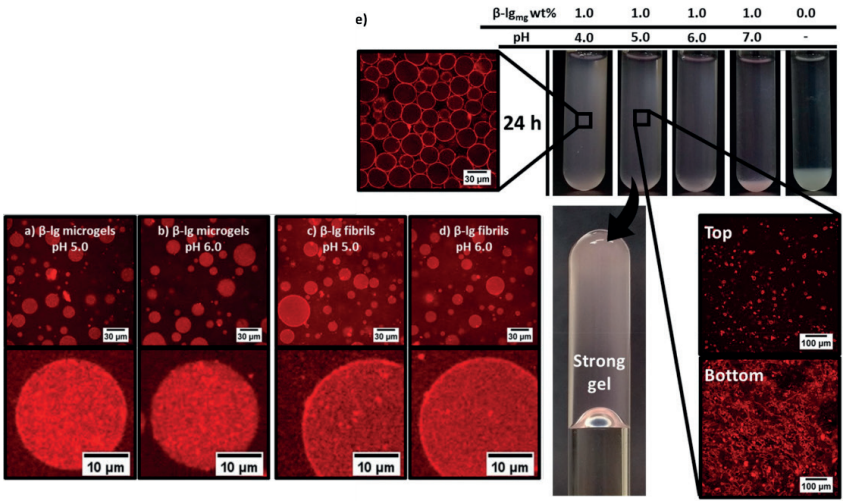
Como as características das emulsões podem ser associadas com outras propriedades, a caracterização das emulsões assume um papel significativo no entendimento desses sistemas. Por exemplo, é possível associar a morfologia de uma emulsão com propriedades sensoriais em alimentos que tenham em sua composição sistemas emulsionados. Os métodos empregados para a caracterização desses sistemas emulsionados a/a são diversos,

sendo possível citar técnicas mais consolidadas como a microscopia confocal de florescência por varredura a laser ou as reo-ópticas.

A microscopia de fluorescência por varredura a laser se trata de uma técnica de caracterização bastante utilizada para as emulsões a/a, já que imagens de alta qualidade de seções ópticas ou modelos 3D da emulsão podem ser gerados. Boostani *et al.* (2020) utilizaram técnica tanto bi quanto tridimensionalmente em emulsões formadas por óleo em água. A técnica foi usada para comprovar resultados de propriedades reológicas, associando o empacotamento das gotículas próximas e as interações entre gotículas que levaram à formação de uma rede próxima à de um gel. A técnica também foi utilizada para observar a camada proteica, definir a sua espessura e a possibilidade das nanopartículas estarem adsorvidas na interface óleo-água.

Embora na literatura ainda não tenham sido publicadas imagens com caracterização por microscopia confocal mostrando emulsões a/a tridimensionalmente, esta técnica também pode ser aplicada em sistemas bifásicos aquosos, já que a partir das imagens ou de seções é possível determinar o tamanho das gotículas, a composição da interface além de qual é a fase dispersa e qual é a contínua. Hazt *et al.* (2020) utilizaram da técnica de microscopia confocal para caracterizar emulsões água em água formadas por amilopectina e xiloglucana que foram estabilizadas por partículas proteicas de β-lactoglobulina. Tais partículas se adsorvem na interface das emulsões e as estabilizam através do mecanismo de adsorção interfacial de partículas ou através da formação de uma rede geleificada, dependendo do pH do meio, como pode ser observado na **Figura 2**.

Figura 2. (a) - (d) Micrografias de microscopia confocal de emulsões de amilopectina em xiloglucana estabilizadas por partículas proteicas em diferentes valores de pH. (e) Avaliação da formação de gel ou adsorção interfacial de partículas proteicas em emulsões de amilopectina e xiloglucana após 24 h de repouso em diferentes valores de pH.



FONTE: Adaptada e reproduzida de Hazt *et al.* (2020) com autorização.

Caso as amostras não sejam naturalmente fluorescentes os seus componentes devem ser marcados com corantes fluorescentes, já que a emissão de luz ocorrerá em outro comprimento de onda, será detectada e usada para a construção e análise das imagens. É necessário ressaltar a importância do "*pinhole*" para o funcionamento do equipamento, principalmente se tratando das emulsões a/a. Qualquer fonte de luz fora do plano focal não passa pelo "*pinhole*", assim ele seleciona apenas os feixes fluorescentes (ou reflexões) da amostra naquele plano no eixo Z (Murphy e Davidson, 2013). Logo, ao invés de ver apenas as partículas na interface das emulsões, que estariam sobre o plano desejado, é obtida a sessão óptica permitindo a visualização das partículas na interface e as duas fases aquosas termodinamicamente incompatíveis, a da fase difusa e a da fase continua, separadamente.

Além das imagens das seções ópticas e das imagens em 3D, é possível também gerar imagens na modalidade 4D (ou time-lapses), na qual várias fotografias 3D são geradas com um intervalo de tempo entre elas, colocadas em sequência, permitindo a análise da mudança na imagem com o decorrer do tempo.

As emulsões a/a, apesar das tensões interfaciais reduzidas, podem ainda ser caracterizadas pela formação de uma interface entre as fases líquido – líquido aquosas. Ela é causada por forças de coesão entre as moléculas, que por estarem em uma extremidade não sofrem atração vinda da outra fase, havendo uma resultante vetorial não nula já que a força de atração vinda de uma molécula no seio da fase não é compensada. A tensão interfacial (γ) é um fenômeno próximo à tensão superficial, se tratando da atração entre as moléculas na interface de dois líquidos. Diferente de medidas de tensão superficial, pode-se obter resultados positivos e negativos, que determinam como uma das fases se comportará na presença de outra - por exemplo, se um líquido sofrerá espalhamento sobre outro ou se formará gotículas de uma fase sobre a outra. A tensão interfacial é de grande importância para a compreensão do comportamento das emulsões a/a, já que através dela é possível entender o comportamento das partículas na interface, se elas estão lá devido a depleção ou se as partículas vão a interface pela tensão interfacial existente (Balakrishnan *et al.*, 2012; Esquena, 2016).

No caso da determinação da tensão interfacial em emulsões a/a existe uma limitação em relação às alternativas experimentais existentes, devido ao fato das densidades de ambas as fases serem muito próximas, já que as duas fases são compostas majoritariamente por água. Isso pode gerar erros ou até tornar o cálculo impossível, pois os valores de tensão interfacial para interfaces a/a ficam ordens de magnitude abaixo dos encontrados em sistemas onde há a presença de uma fase oleosa (Scholten *et al.*, 2002) e a determinação da tensão interfacial é relativamente simples.

Os métodos aplicáveis para a determinação da tensão interfacial em sistemas completamente aquosos são os que consistem em observações e análises diretas da interface entre as fases. Alguns dos métodos incluem a deformação e quebra de uma pequena parte de uma das fases; o formato das gotas ao serem submetidas a um campo de fluxo ou uma taxa de cisalhamento; e a retração delas ao cessar esse campo, com os três métodos tendo resultados similares de tensão interfacial (Ding *et al.*, 2002). Dentre os três métodos citados o mais simples e econômico é o da retração da gota - nesse modo a tensão interfacial é calculada a partir da mudança de forma da gota com o tempo, a partir do momento que é cessado o cisalhamento ou o campo.

Para fazer o cálculo da tensão interfacial é necessário saber o valor de outras variáveis que incluem a viscosidade de ambas as fases, o raio da gota e o tempo de relaxação. Para deformações muito pequenas ($D << 1$), o parâmetro de deformação muda exponencialmente com o tempo, podendo ser descrita em termos de exponenciais ou logarítmicos, como foi descrito por Ding *et al.* (2002) para essa metodologia, conforme equações (15) e (16). Nela, D é a deformação em função do tempo [o quanto a gotícula se alterou no processo em relação ao estado inicial (t=0)]; λ é a razão entre a viscosidade da fase dispersa pela viscosidade da fase contínua; τ é o tempo caracteristco, uma estimativa da magnitude que um processo escala; a tensão interfacial (γ) é a tensão das moléculas na interface das duas fases aquosas, a viscosidade da fase contínua (η_c) é a resistência que um fluído apresenta ao escoamento; e R_0 é o raio da gota no momento t=0.

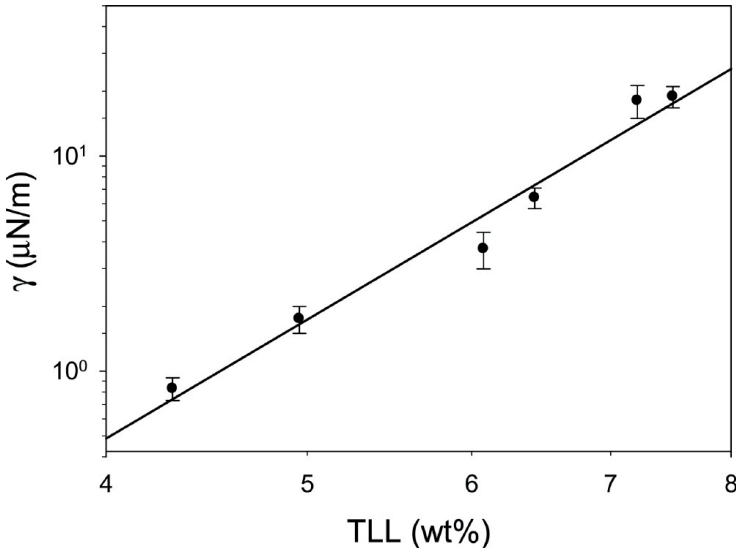
$$\ln D(t) = \frac{\ln D_0 - t}{\tau} \tag{15}$$

$$\tau = \frac{\eta_c R_0 (19\lambda + 16)(2\lambda + 3)}{\ddagger 40(\lambda + 1)} \tag{16}$$

Para a obtenção da deformação da gota (D) e o tempo da retração dela, a amostra é filmada durante o período de relaxamento. Para isso o aparato experimental usado é composto de um microscópio conectado a uma câmera, um dispositivo para gerar uma deformação e um computador para a gravação e tratamento de dados.

Freitas *et al.* (2016) usou desse método para definir a tensão interfacial entre uma fase de rica em xiloglucana (XG) e outra fase rica em amilopectina (AMP). A **Figura 3** mostra o aumento da tensão interfacial com o aumento do comprimento das linhas de amarração (TLL). A relação da tensão interfacial (γ) com o comprimento das linhas de amarração foi determinado como $\gamma \alpha TLL^{5,7\pm0,8}$, mostrando que a tensão interfacial entre a fase rica em XG e a fase rica em AMP é maior que a tensão entre dextrana e PEO, nas mesmas concentrações, pois para esse sistema $\gamma \alpha TLL^{3,7}$.

Figura 3. Tensão interfacial (γ) de misturas XG/AMP em função do comprimento da linha de ligação (TLL) média e desvio padrão com base de três medições independentes. A linha continua representa um ajuste de mínimos quadrados.



FONTE: Reproduzida de Freitas et al. (2016) com autorização.

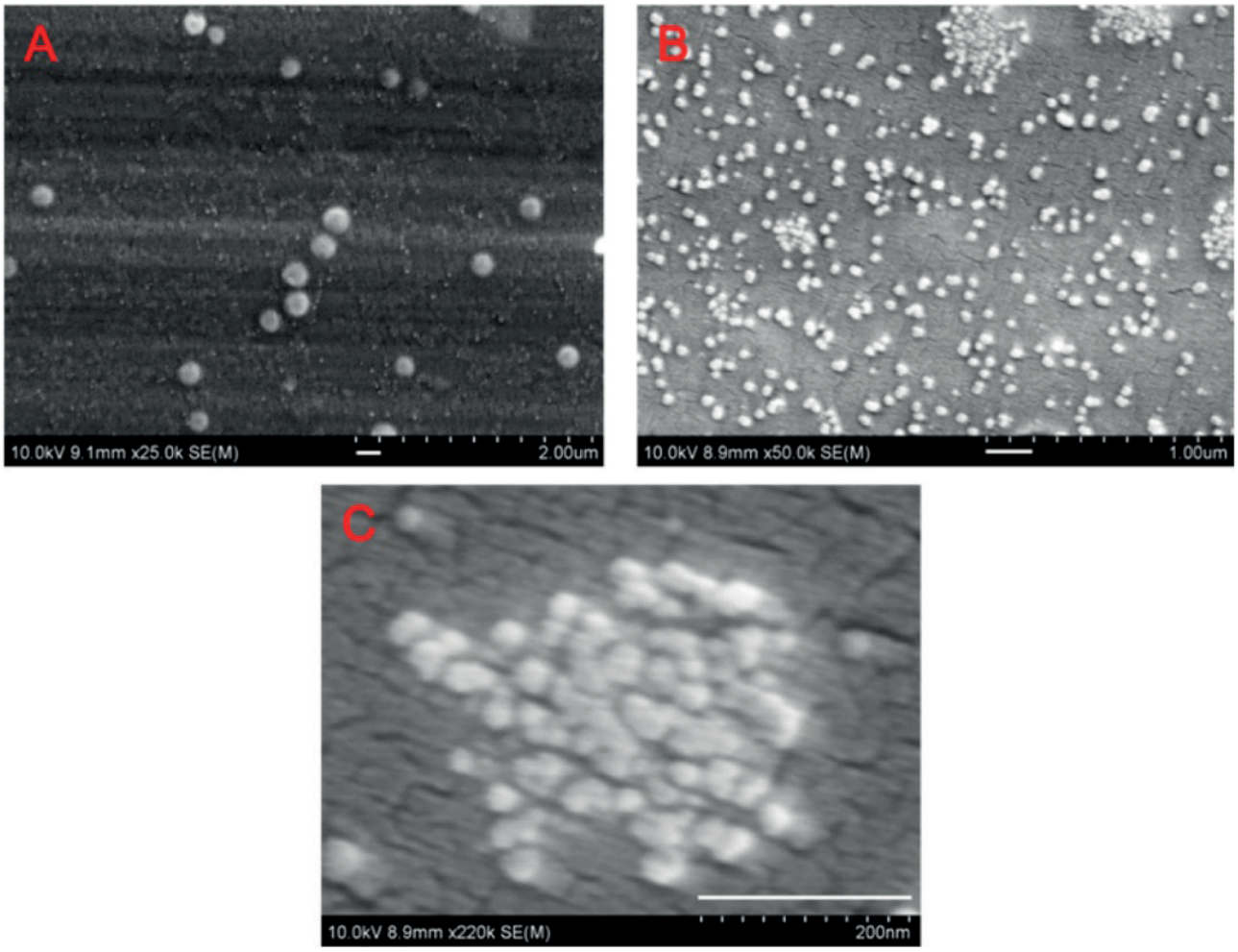
A caracterização das partículas de Pickering também é um aspecto importante em emulsões a/a. Entre as técnicas de caracterização tem-se a microscopia de força atômica (AFM), que é empregada na caracterização da morfologia de nanopartículas como nanocristais de celulose, nanofibrilas, microgéis ou glóbulos. Trata-se de uma técnica de caracterização por imagem, na qual elas são obtidas pelo monitoramento de torções sofridas por uma agulha com nanômetros de diâmetro (cantilever), que varre a amostra e sofre interações atrativas e repulsivas com o decorrer da varredura. O monitoramento é feito por um feixe de laser incidido e refletido no cantilever, a partir do qual uma imagem topológica é gerada. Uma aplicação comum consiste na caracterização de nanopartículas em valores de pH distintos, como feito por Chavoshpour-Natanzi e Sahihi (2019). Enquanto os autores estudavam o efeito de concentração na formação de nanopartículas de β-lactoglobulina, também analisaram por AFM a variação da morfologia em decorrência da variação do pH.

As partículas também podem ser caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (SEM), como uma técnica de caracterização por imagem, podendo ser usada para fazer caracterização da superfície e morfologia das partículas. É necessário que a amostra a ser analisada seja condutora, caso o contrário ela deve passar por um processo de metalização antes da análise. Nessa técnica microscópica um feixe fino de elétrons é incidido sobre a amostra, a qual emite elétrons secundários que são detectados. A amostra é "iluminada" por esse feixe, assim na detecção é possível obter as imagens tridimensionais em alta resolução. Também é possível detectar os raios X que possibilitam uma caracterização composicional.

Através da microscopia eletrônica de varredura, partículas de β-lactoglobulina carregadas com curcumina foram caracterizadas por Teng, Li e Wang (2014). Na **Figura 4** é possível ver partículas esféricas com superfície lisa, onde os autores identificaram dois

grupos de partículas, um composto de partículas com diâmetro de aproximadamente 200 nm (**Figura 4A**) e as com diâmetro de 40-50 nm (**Figura 4B**). Na **Figura 4C** foi demonstrado por Teng, Li e Wang (2014) que as partículas do primeiro grupo são compostas das partículas menores do segundo grupo, pois esses agregados existiam na dispersão de nanopartículas caracterizadas por espalhamento de luz dinâmico.

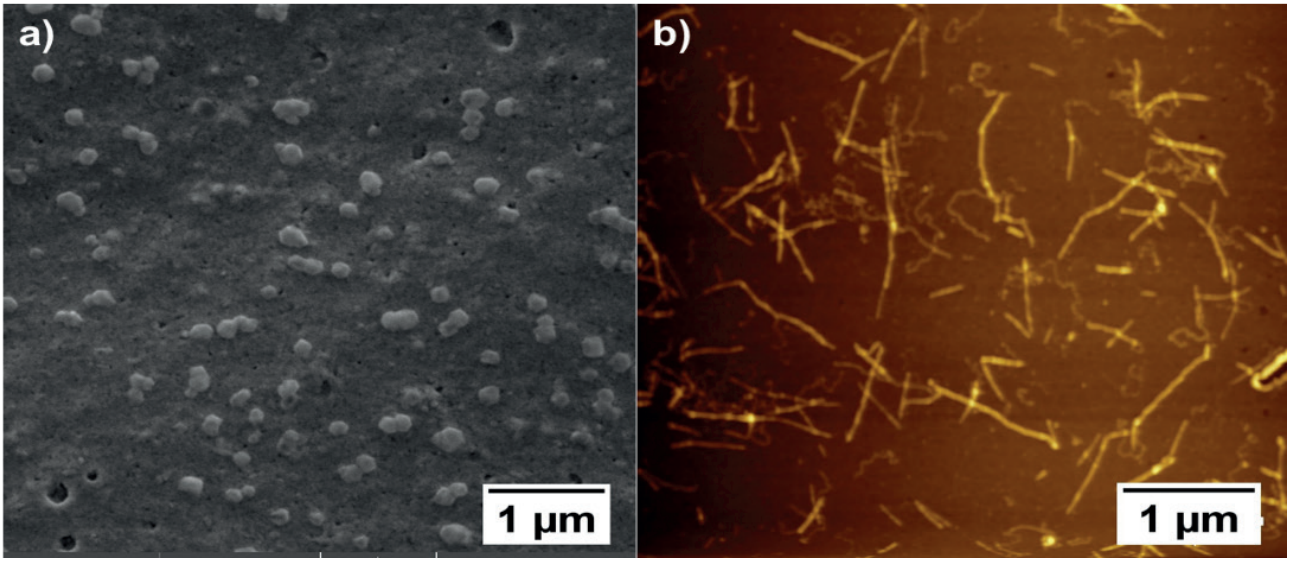
Figura 4. Imagens de MEV de nanopartículas de β-lactoglobulina carregadas com curcumina: (A) coexistência de partículas maiores e menores; (B, C) partículas maiores que podem ser constituídas de partículas menores. Todas as imagens foram adquiridas da mesma amostra. As barras brancas representam 200 nm.



FONTE: Reproduzida de Teng, Li e Wang (2014) et al com autorização.

As nanofibrilas e os microgéis de β-lactoglobulina utilizados para estabilizar as emulsões de amilopectina e xiloglucana mostradas na **Figura 2** foram caracterizadas pelas microscopias de força atômica e eletrônica de varredura (Hazt *et al.*, 2020). A **Figura 5** mostra a caracterização dos microgéis por SEM e das nanofibrilas por AFM. Os tamanhos encontrados pelos autores foram de 91 ± 7 nm de raio para os microgéis, altura de 50 nm e comprimentos médios de 870 ± 280 nm para as nanofibrilas proteicas.

Figura 5. (a) Imagem de microscopia eletrônica de varredura mostrando microgéis após metalização e (b) Imagem de microscopia de força atômica mostrando nanofibrilas.



Fonte: Reproduzido de Hazt *et al.* (2020) com autorização.

Uma outra técnica comumente utilizada para caracterização de partículas é o espalhamento de luz dinâmico, usada para caracterizar polímeros, colóides, nanopartículas e micelas que estejam dispersos em um dado solvente. As informações obtidas incluem a massa molar, morfologia, raio hidrodinâmico além das estruturas internas e externas. Dentre os experimentos que podem ser realizados está a cinética de agregação ou floculação de uma solução.

Basicamente, a técnica consiste em um feixe de laser emitido sobre uma amostra que esteja em solução. Ao receber o feixe de luz a amostra espalha de maneira quase-elástica a luz, ocorrendo flutuações de intensidade, que dependem do tamanho, formato, propriedades ópticas e ângulo no qual foi realizada a observação. Pode-se analisar a intensidade de luz em função do tempo, o que torna possível determinar o coeficiente de difusão médio das partículas na solução, e usando a relação de Stokes-Einstein é possível determinar o raio hidrodinâmico aparente.

Maity e Chakraborti (2020) utilizaram a técnica de espalhamento de luz dinâmico aliada à microscopia de força atômica, do espectro de absorção e microscopia eletrônica de transmissão para quantificar o tamanho e morfologia de nanopartículas. O espalhamento de luz dinâmico foi utilizado a fim de se obter a distribuição de tamanho da morfologia encontrada.

As partículas podem também apresentar potencial repulsivo na interface, a através de medidas de potencial Zeta podem ser utilizadas para se obter informações sobre a estabilidade coloidal de amostras, determinar o ponto isoelétrico ou avaliar a carga superficial de nanopartículas. É possível fazer a determinação indireta do potencial Zeta através de medidas de mobilidade eletroforética ou a partir de medidas de potencial de fluxo.

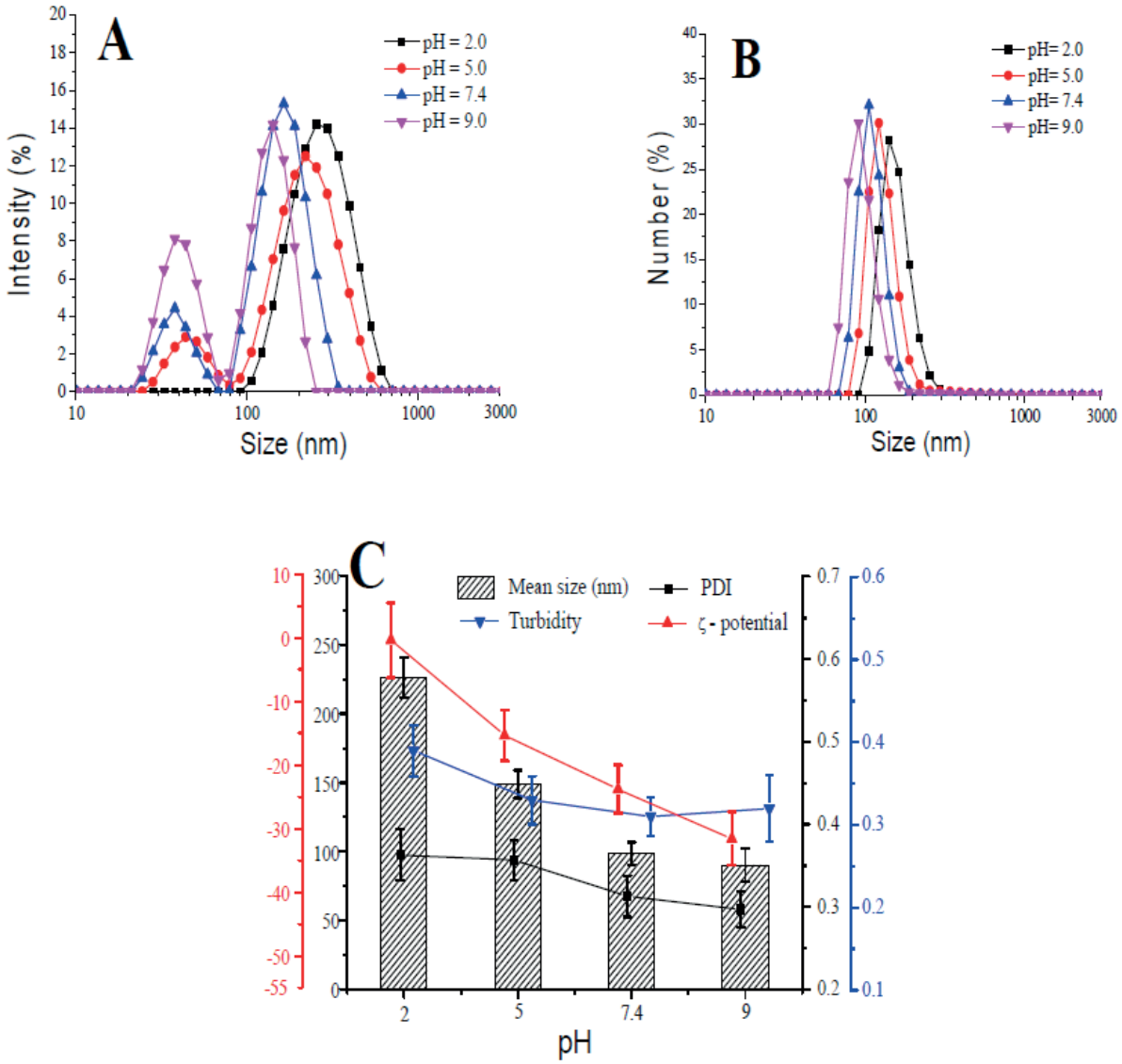
A eletroforese é a movimentação relativa de nanopartículas, carregadas eletricamente, em relação ao líquido. A velocidade da partícula é proporcional à força do campo elétrico, e tal proporcionalidade é chamada de mobilidade eletroforética (Dukhin e Xu, 2019). À medida que uma suspensão é colocada em um recipiente que tem dois eletrodos separados a uma distância conhecida, um potencial é aplicado entre os eletrodos e devido à eletroforese, as partículas com uma carga resultante são atraídas para o eletrodo de carga oposta. A velocidade com a qual as partículas se dirigem ao eletrodo é determinada utilizando espalhamento de luz e é feita a determinação a da mobilidade eletroforética. Assim é possível calcular o potencial Zeta, conhecendo a distância entre os eletrodos, o campo elétrico aplicado e a mobilidade eletroforética (Dukhin e Xu, 2019).

A técnica por potencial de fluxo consiste em adicionar uma amostra em solução ao recipiente de medida com dois eletrodos e acoplado com um pistão oscilante. A solução é forçada a fluir num espaço pequeno, o que faz com que os íons em excesso sejam cisalhados e movidos na mesma direção do fluxo. Em ambos os eletrodos o fluxo é medido como potencial de fluxo, que é proporcional ao potencial Zeta e a constantes obtidas na calibração do equipamento.

Utilizando as medidas de potencial Zeta é possível entender fenômenos de partículas complexas e como atuam na adsorção, sendo uma das aplicações possíveis de caracterização. Lv *et al.* (2020) mostraram a mudança do potencial ao preparar nanopartículas complexas de WPI (*Whey Protein Isolate*) e quitosana. Essa alteração foi usada para explicar a não agregação de partículas e formação de uma camada superficial de quitosana sobre as partículas produzidas; para isso deveria haver um excesso quitosana, quando o potencial Zeta aumenta significativamente com a adição de quitosana ao WPI e com o aumento do tamanho das partículas.

Qin *et al.* (2018) mostraram a variação do tamanho médio, potencial Zeta, índice de polidispersão (PDI) e da turbidez em relação a mudança de pH (pH 2,0 - 9,0) de nanopartículas de polissacarídeos de várias espécies de chás medicinais (TP-NPs). Como o potencial Zeta das TP-NPs se aproxima de zero em valores baixos de pH, as partículas formam agregados. Isso indica uma melhora na estabilidade dessas nanopartículas em condições neutras ou básicas (**Figura 6**).

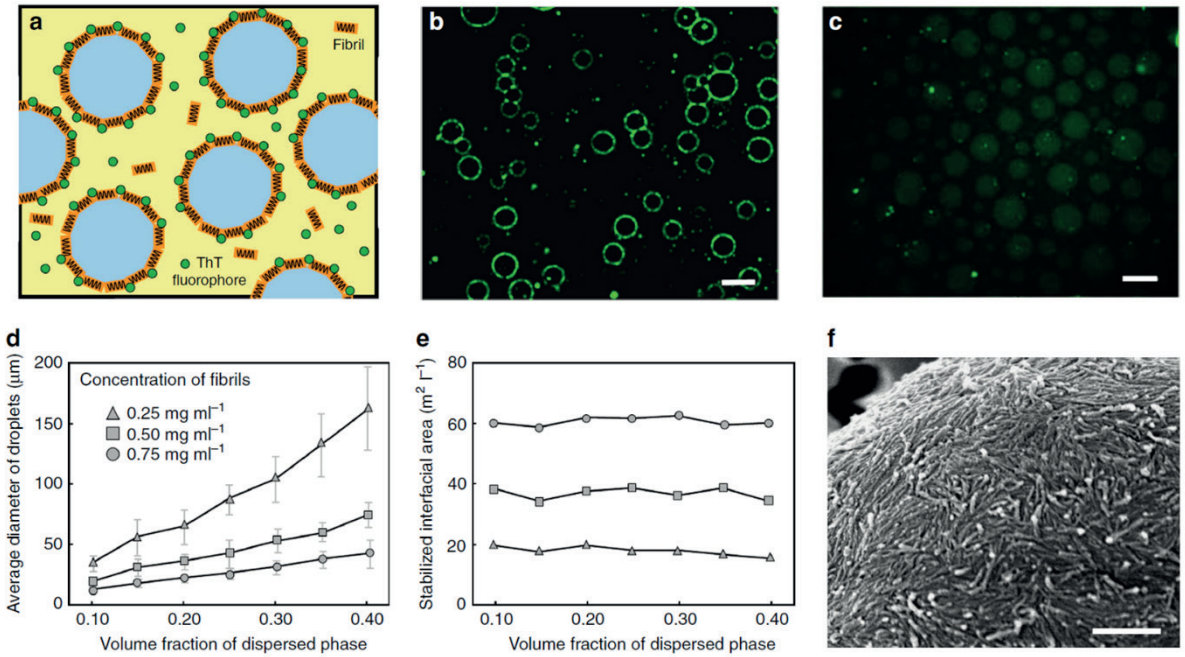
Figura 6. Efeito de diferentes valores de pH (2, 5, 7,4 e 9) na distribuição de tamanho (A: Intensidade; B: número), tamanho médio, índice de polidispersão (PDI), potencial Zeta e turbidez de TP-NPs preparados com razão de etanol para água de 10:1 a pH 6,0. Os dados são apresentados como a média de medições em triplicata com desvio padrão (n=3).



FONTE: Reproduzida de Qin *et al.* (2018) com autorização.

Outra abordagem que utiliza fibrilas proteicas de lisozima de clara de ovo de galinha para estabilizar emulsões água em água formadas por dextrana e poli(etilenoglicol) é descrita por Song *et al.* (2016). Os autores utilizaram fibrilas para estabilizar emulsões com tensões interfaciais muito baixas (**Figura 7**). A justificativa do uso das fibrilas está na formação de uma rede de fibrilossomas na interface, resultando em cápsulas semipermeáveis.

Figura 7. (a) modelo para uma monocamada de fibrilas adsorvidas na interface água/água. (b) microscopia confocal de lisozimas acumuladas na interface água/água. (c) emulsão sem a presença de fibrilas, mostrando que o fluoróforo utilizado permanece na fase dispersa da emulsão. (d) diâmetros médios de emulsões água em água estabilizadas que crescem linearmente com a fração volumétrica de fase emulsificada. (e) área interfacial total estabilizada por fibrilas em diferentes concentrações de fibrilas e de fase dispersa. (f) imagem de microscopia eletrônica de varredura (SEM) confirmando que as nanofibrilas se depositam como monocamada em interfaces emulsionadas, a barra de escala representa 500 nm.



FONTE: Reproduzida de Song *et al.* (2016) com autorização.

CONCLUSÃO

Além da existência de diversos sistemas bifásicos aquosos constituídos por polímeros que apresentam biocompatibilidade com produtos alimentícios, nos últimos anos surgiu uma extensiva lista de partículas que são capazes de se adsorverem na interface e estabilizar tais emulsões. O desenvolvimento de tais sistemas deve continuar e incluir testes como sabor, textura e aparência atraente a fim de que formulações comestíveis sejam possibilitadas. A possibilidade de existir emulsões com a ausência de uma fase oleosa pode gerar uma classe de alimentos que sejam funcionais (já que muitos biopolímeros se comportam como fibras que no corpo humano não são digeridas, tratando-se de uma classe que se encaixa nos alimentos que não são fonte de calorias).

Para que se alcance a estabilidade necessária para as emulsões água em água cheguem às prateleiras do mercado, deve-se focar em estudos cinéticos de separação de fases nos quais ocorra a adsorção não reversível de partículas na interface, levando a uma camada que previna a coalescência. Estudos como a observação microscópica desses sistemas e a determinação das tensões interfaciais atuam viabilizando o conhecimento da interface desses sistemas, aproximando da realidade a aplicação de emulsões bifásicas aquosas na indústria alimentícia. Como outra perspectiva, colocam-se os sistemas compostos por três

ou mais componentes termodinamicamente imiscíveis, produzindo morfologias mais complexas como as emulsões água em água em água (a/a/a), que podem servir como modelo na fabricação de novos materiais.

REFERÊNCIAS

1. Abbasi, N., Navi, M. e Tsai, S. S. H. (2018) "Microfluidic Generation of Particle-Stabilized Water-in-Water Emulsions", *Langmuir*, 34(1), p. 213–218. doi: 10.1021/acs.langmuir.7b03245.

2. Adheeb Usaid, A. S., Premkumar, J. e Ranganathan, T. V. (2014) "Emulsion and it's Applications in Food Processing – A Review", *International Journal of Engineering Research and Applications*, 4(4), p. 241–248.

3. Antonov, Y. A., Van Puyvelde, P. e Moldenaers, P. (2004) "Interfacial tension of aqueous biopolymer mixtures close to the critical point", *International Journal of Biological Macromolecules*, 34(1–2), p. 29–35. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2004.01.001.

4. Ben Ayed, E. *et al.* (2018a) "Water-In-Water Emulsion Gels Stabilized by Cellulose Nanocrystals", *Langmuir*, 34(23), p. 6887–6893. doi: 10.1021/acs.langmuir.8b01239.

5. Balakrishnan, G. *et al.* (2012) "Particles Trapped at the Droplet Interface in Water-in-Water Emulsions", *Langmuir*, 28, p. 5921–5926.

6. Bashir, K. e Aggarwal, M. (2019) "Physicochemical, structural and functional properties of native and irradiated starch: a review", *Journal of Food Science and Technology*. Springer India, 56(2), p. 513–523. doi: 10.1007/s13197-018-3530-2.

7. Beijerinck, M. W. (1896) "Ueber eine Eigentümlichkeit der löslichen Stärke", *Zentralbl Bakteriol Parasitenkd Infekt*, 2(22), p. 697–9.

8. Binks, B. P. e Horozov, T. S. (2006) *Colloidal Particles at Liquid Interfaces*. Cambridge University Press.

9. Boostani, S. *et al.* (2020) "The influence of emulsion parameters on physical stability and rheological properties of Pickering emulsions stabilized by hordein nanoparticles", *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 101(November 2019), p. 105520. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105520.

10. Buzza, D. M. A. *et al.* (2013) "Water-in-water emulsions based on incompatible polymers and stabilized by triblock copolymers-templated polymersomes", *Langmuir*, 29(48), p. 14804–14814. doi: 10.1021/la403356j.

11. Capron, I., Costeux, S. e Djabourov, M. (2001) "Water in water emulsions: Phase separation and rheology of biopolymer solutions", *Rheologica Acta*, 40(5), p. 441–456. doi: 10.1007/s003970100161.

12. Chatsisvili, N. *et al.* (2017) "Colloidal zein particles at water-water interfaces", *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 65, p. 17–23. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.10.036.

13. Chavoshpour-Natanzi, Z. e Sahihi, M. (2019) "Encapsulation of quercetin-loaded β-lactoglobulin for drug delivery using modified anti-solvent method", *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 96(December 2018), p. 493–502. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.05.051.

14. Chun, J. Y. *et al.* (2014) “Study of the phase separation behaviour of native or preheated WPI with polysaccharides”, *Polymer*. Elsevier Ltd, 55(16), p. 4379–4384. doi: 10.1016/j.polymer.2014.06.082.

15. Clegg, P. S. e Thijssen, J. H. J. (2020) “Chapter 1: Introduction to Bijels”, in *The Roral Society of Chemistry*.

16. Dewey, D. C. *et al.* (2014) “Bioreactor droplets from liposome-stabilized all-aqueous emulsions”, *Nature Communications*. Nature Publishing Group, 5(May), p. 1–9. doi: 10.1038/ncomms5670.

17. Dickinson, E. (2019) “Particle-based stabilization of water-in-water emulsions containing mixed biopolymers”, *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier, 83(October 2018), p. 31–40. doi: 10.1016/j.tifs.2018.11.004.

18. Ding, P. *et al.* (2002) “Interfacial tension in phase-separated gelatin/dextran aqueous mixtures”, *Journal of Colloid and Interface Science*, 253(2), p. 367–376. doi: 10.1006/jcis.2002.8572.

19. Doublier, J. L. *et al.* (2000) “Protein-polysaccharide interactions”, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 5, p. 202–214. doi: 10.1201/9780203755617.

20. Dukhin, A. S. e Xu, R. (2019) *Zeta-potential measurements*, *Characterization of Nanoparticles: Measurement Processes for Nanoparticles*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-814182-3.00014-6.

21. Edelman, M. W. *et al.* (2001) “Compatibility of gelatin and dextran in aqueous solution”, *Biomacromolecules*, 2(4), p. 1148–1154. doi: 10.1021/bm015545f.

22. Edelman, M. W., Tromp, R. H. e van der Linden, E. (2003) “Phase-separation-induced fractionation in molar mass in aqueous mixtures of gelatin and dextran”, *Physical Review E - Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics*, 67(2), p. 11. doi: 10.1103/PhysRevE.67.021404.

23. Edmond, E. e Ogston, A. G. (1968) “An approach to the study of phase separation in ternary aqueous systems.”, *The Biochemical journal*, 109(4), p. 569–576. doi: 10.1042/bj1090569.

24. Esquena, J. (2016) “Water-in-water (W/W) emulsions”, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. Elsevier Ltd, 25, p. 109–119. doi: 10.1016/j.cocis.2016.09.010.

25. Faraudo, J. e Bresme, F. (2003) “Stability of particles adsorbed at liquid/fluid interfaces: Shape effects induced by line tension”, *Journal of Chemical Physics*, 118(14), p. 6518–6528. doi: 10.1063/1.1559728.

26. Firoozmand, H., Murray, B. S. e Dickinson, E. (2009) “Interfacial structuring in a phase-separating mixed biopolymer solution containing colloidal particles”, *Langmuir*, 25(3), p. 1300–1305. doi: 10.1021/la8037389.

27. Firoozmand, H. e Rousseau, D. (2014) “Tailoring the morphology and rheology of phase-separated biopolymer gels using microbial cells as structure modifiers”, *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 42, p. 204–214. doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.04.040.

28. Freitas, R. A. *et al.* (2016) “Stabilization of Water-in-Water Emulsions by Polysaccharide-Coated Protein Particles”, *Langmuir*, 32(5), p. 1227–1232. doi: 10.1021/acs.langmuir.5b03761.

29. Frith, W. J. (2010) “Mixed biopolymer aqueous solutions – phase behaviour and rheology”, *Advances in Colloid and Interface Science*. Elsevier, 161(1–2), p. 48–60. doi: 10.1016/J.CIS.2009.08.001.

30. Ganley, W. J., Ryan, P. T. e van Duijneveldt, J. S. (2017) “Stabilisation of water-in-water emulsions by montmorillonite platelets”, *Journal of Colloid and Interface Science*. The Author(s), 505, p. 139–147. doi: 10.1016/j.jcis.2017.05.062.

31. Goodarzi, F. e Zendehboudi, S. (2019) “A Comprehensive Review on Emulsions and Emulsion Stability in Chemical and Energy Industries”, *Canadian Journal of Chemical Engineering*, 97(1), p. 281–309. doi: 10.1002/cjce.23336.

32. Grinberg, V. Y. e Tolstoguzov, V. B. (1997) “Thermodynamic incompatibility of proteins and polysaccharides in solutions”, *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd., 11(2), p. 145–158. doi: 10.1016/S0268-005X(97)80022-7.

33. Hanazawa, T. e Murray, B. S. (2013) “Effect of oil droplets and their solid/liquid composition on the phase separation of protein-polysaccharide mixtures”, *Langmuir*, 29(31), p. 9841–9848. doi: 10.1021/la401595u.

34. Hanazawa, T. e Murray, B. S. (2014) “The influence of oil droplets on the phase separation of protein-polysaccharide mixtures”, *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 34, p. 128–137. doi: 10.1016/j.foodhyd.2012.11.025.

35. Hann, S. D. *et al.* (2015) “Trapping and assembly of living colloids at water-water interfaces”, *Soft Matter*. Royal Society of Chemistry, 11(9), p. 1733–1738. doi: 10.1039/c4sm02267j.

36. Hans Tromp, R. *et al.* (2014) “Composition, concentration and charge profiles of water-water interfaces”, *Journal of Physics Condensed Matter*, 26(46). doi: 10.1088/0953-8984/26/46/464101.

37. Hatti-Kaul, R. (2001) “Aqueous two-phase systems: A general overview”, *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part B Molecular Biotechnology*, 19(3), p. 269–277. doi: 10.1385/MB:19:3:269.

38. Hazt, B. *et al.* (2020) “Effect of pH and protein particle shape on the stability of amylopectin–xyloglucan water-in-water emulsions”, *Food Hydrocolloids*, 104. doi: 10.1016/j.foodhyd.2020.105769.

39. Heertje, I. (1993) “Structure and function of food products: A review”, *Food Structure*, 12(3), p. 343–364. doi: 10.1016/j.foostr.2013.06.001.

40. Inam, M. *et al.* (2018) “Controlling the size of two-dimensional polymer platelets for water-in-water emulsifiers”, *ACS Central Science*, 4(1), p. 63–70. doi: 10.1021/acscentsci.7b00436.

41. Khemissi, H. *et al.* (2018) “Exploiting Complex Formation between Polysaccharides and Protein Microgels to Influence Particle Stabilization of W/W Emulsions”, *Langmuir*. American Chemical Society, 34(39), p. 11806–11813. doi: 10.1021/acs.langmuir.8b02383.

42. Lv, P. *et al.* (2020) “Pickering emulsion gels stabilized by novel complex particles of high-pressure-induced WPI gel and chitosan: Fabrication, characterization and encapsulation”, *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 108(February), p. 105992. doi: 10.1016/j.foodhyd.2020.105992.

43. Machado, J. P. E., de Freitas, R. A. e Wypych, F. (2019) “Layered clay minerals, synthetic layered double hydroxides and hydroxide salts applied as pickering emulsifiers”, *Applied Clay Science*. Elsevier, 169, p. 10–20. doi: 10.1016/j.clay.2018.12.007.

44. Maity, S. e Chakraborti, A. S. (2020) “Formulation, physico-chemical characterization and antidiabetic potential of naringenin-loaded poly D, L lactide-co-glycolide (N-PLGA) nanoparticles”, *European Polymer Journal*. Elsevier, 134(April), p. 109818. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2020.109818.

45. McNaught, A. D. e Wilkinson, A. (1997) *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the “Gold Book”)*, *Blackwell Scientific Publications, Oxford*. Available at: https://doi.org/10.1351/goldbook.

46. Michaux, M. *et al.* (2020) “Encapsulation of BSA/alginate water–in–water emulsions by polyelectrolyte complexation”, *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, p. 106406. doi: 10.1016/j.foodhyd.2020.106406.

47. Mishra, A. e Malhotra, A. V. (2009) “Tamarind xyloglucan: A polysaccharide with versatile application potential”, *Journal of Materials Chemistry*, 19(45), p. 8528–8536. doi: 10.1039/b911150f.

48. Murphy, D. B. e Davidson, M. W. (2013) *Chapter 13: Confocal Laser Scanning Microscopy*, *Fundamentals of Light Microscopy and Electronic Imaging*.

49. Murray, B. S. e Phisarnchananan, N. (2014) “The effect of nanoparticles on the phase separation of waxy corn starch+locust bean gum or guar gum”, *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 42, p. 92–99. doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.01.004.

50. Murray, B. S. e Phisarnchananan, N. (2016) “Whey protein microgel particles as stabilizers of waxy corn starch + locust bean gum water-in-water emulsions”, *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 56, p. 161–169. doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.11.032.

51. Nguyen, B. T. *et al.* (2015) “pH-responsive water-in-water pickering emulsions”, *Langmuir*, 31(12), p. 3605–3611. doi: 10.1021/la5049024.

52. Nguyen, B. T., Nicolai, T. e Benyahia, L. (2013) “Stabilization of water-in-water emulsions by addition of protein particles”, *Langmuir*, 29(34), p. 10658–10664. doi: 10.1021/la402131e.

53. Nicolai, T. e Murray, B. (2017) “Particle stabilized water in water emulsions”, *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 68, p. 157–163. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.08.036.

54. Norton, I. T. e Frith, W. J. (2001) “Microstructure design in mixed biopolymer composites”, *Food Hydrocolloids*, 15(4–6), p. 543–553. doi: 10.1016/S0268-005X(01)00062-5.

55. Paddock, S. W. (2000) “Principles and practices of laser scanning confocal microscopy”, *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part B Molecular Biotechnology*, 16(2), p. 127–149. doi: 10.1385/mb:16:2:127.

56. Peddireddy, K. R. *et al.* (2016) “Stabilization of Water-in-Water Emulsions by Nanorods”, *ACS Macro Letters*, 5(3), p. 283–286. doi: 10.1021/acsmacrolett.5b00953.

57. Piculell, L. e Lindman, B. (1992) “Association and segregation in aqueous polymer/polymer, polymer/surfactant, and surfactant/surfactant mixtures: similarities and differences”, *Advances in Colloid and Interface Science*, 41, p. 149–178.

58. Poortinga, A. T. (2008) “Microcapsules from self-assembled colloidal particles using aqueous phase-separated polymer solutions”, *Langmuir*, 24(5), p. 1644–1647. doi: 10.1021/la703441e.

59. Prigogine, I. e Defay, R. (1954) *Chemical thermodynamics*. London, UK: Longmans & Green. Qin, Y. *et al.* (2018) 'Preparation of Bioactive Polysaccharide Nanoparticles with Enhanced Radical Scavenging Activity and Antimicrobial Activity', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(17), pp. 4373–4383. doi: 10.1021/acs.jafc.8b00388.

60. Van Puyvelde, P. *et al.* (2000) "Breakup of filaments in blends during simple shear flow", *Journal of Rheology*, 44(6), p. 1401–1415. doi: 10.1122/1.1315309.

61. Scholten, E. *et al.* (2002) "Interfacial tension of a decomposed biopolymer mixture", *Langmuir*, 18(6), p. 2234–2238. doi: 10.1021/la0114373.

62. Schramm, L. L. (2014) *Emulsions, Foams, Suspensions, and Aerosols*. 2nd ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

63. Scott, R. L. (1949) "The thermodynamics of high polymer solutions. IV. Phase equilibria in the ternary system: Polymer - liquid 1 - liquid 2", *The Journal of Chemical Physics*, 17(3), p. 268–279. doi: 10.1063/1.1747238.

64. Semenova, M. G. (2007) "Thermodynamic analysis of the impact of molecular interactions on the functionality of food biopolymers in solution and in colloidal systems", *Food Hydrocolloids*, 21(1), p. 23–45. doi: 10.1016/j.foodhyd.2006.02.009.

65. Shi, A. *et al.* (2020) "Pickering and high internal phase Pickering emulsions stabilized by protein-based particles: A review of synthesis, application and prospective", *Food Hydrocolloids*. Elsevier Ltd, 109, p. 106117. doi: 10.1016/j.foodhyd.2020.106117.

66. Song, Y. e Shum, H. C. (2012) "Monodisperse w/w/w double emulsion induced by phase separation", *Langmuir*, 28(33), p. 12054–12059. doi: 10.1021/la3026599.

67. Song, Y. *et al.* (2016) 'Fabrication of fibrillosomes from droplets stabilized by protein nanofibrils at all-aqueous interfaces', *Nature Communications*. Nature Publishing Group, 7, pp. 1–8. doi: 10.1038/ncomms12934.

68. Teng, Z., Li, Y. and Wang, Q. (2014) 'Insight into Curcumin-Loaded β - Lactoglobulin Nanoparticles: Incorporation, Particle Disintegration, and Releasing Pro fi les', *Journal of Adricultural and Food Chemistry*, 62(35), pp. 8837–8847.

69. Tolstoguzov, V. (2003) "Some thermodynamic considerations in food formulation", *Food Hydrocolloids*, 17(1), p. 1–23. doi: 10.1016/S0268-005X(01)00111-4.

70. Tomotika, S. (1936) "Breaking up of a drop of viscous liquid immersed in another viscous fluid which is extending at a uniform rate", *Proceedings of the Royal Society of London. Series A - Mathematical and Physical Sciences*, 153(879), p. 302–318. doi: 10.1098/rspa.1936.0003.

71. Vermant, J. *et al.* (1998) "Anisotropy and orientation of the microstructure in viscous emulsions during shear flow", *Langmuir*, 14(7), p. 1612–1617. doi: 10.1021/la971046h.

72. Vis, M. *et al.* (2014) "Donnan potentials in aqueous phase-separated polymer mixtures", *Langmuir*, 30(20), p. 5755–5762. doi: 10.1021/la501068e.

73. Vis, M. *et al.* (2015) "Water-in-Water Emulsions Stabilized by Nanoplates", *ACS Macro Letters*, 4(9), p. 965–968. doi: 10.1021/acsmacrolett.5b00480.

74. Vis, M., Erné, B. H. e Tromp, R. H. (2016) "Chemical physics of water–water interfaces", *Biointerphases*, 11(1), p. 018904. doi: 10.1116/1.4939102.

75. Wang, S. *et al.* (2001) “Depletion-induced demixing in aqueous protein-polysaccharide solutions”, *Biomacromolecules*, 2(4), p. 1080–1088. doi: 10.1021/bm010001z.

76. Wilkinson, C. by A. D. M. and A. (2014) *IUPAC compendium of chemical terminology*, *Choice Reviews Online*. doi: 10.5860/choice.40sup-0262.

77. Xue, L. H. *et al.* (2017) “Polymer-Protein Conjugate Particles with Biocatalytic Activity for Stabilization of Water-in-Water Emulsions”, *ACS Macro Letters*, 6(7), p. 679–683. doi: 10.1021/acsmacrolett.7b00294.

78. Yang, H. *et al.* (2020) “Fabrication and characterization of Pickering emulsion stabilized by soy protein isolate-chitosan nanoparticles”, *Carbohydrate Polymers*. Elsevier, 247(June), p. 116712. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116712.

79. Yang, X. *et al.* (2020) “An overview of classifications, properties of food polysaccharides and their links to applications in improving food textures”, *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, 102, p. 1–15. doi: 10.1016/j.tifs.2020.05.020.

17

Extração e caracterização do óleo da semente da fruta do conde

- Camila Patricia **Favaro**
  UTFPR-MD
- Ângela Claudia **Rodrigues**
  UTFPR-MD
- Carolina Castilho **Garcia**
  UTFPR-MD

10.37885/201102224

RESUMO

Objetivo: O objetivo do presente trabalho foi extrair o óleo da semente de *Annona squamosa* L. (fruta do conde), determinando e quantificando os ácidos graxos do mesmo, além de realizar sua análise térmica, de forma a identificar as potencialidades de utilização do óleo extraído. **Métodos:** Amostras de fruta do conde foram coletadas, despolpadas e de suas sementes foi extraído óleo por método a frio (Bligh & Dyer). Os ácidos graxos dos óleos foram esterificados e transesterificados seguindo metodologia reconhecida e, então, os ésteres metílicos de ácidos graxos foram separados e quantificados em cromatógrafo gasoso com detector de ionização de chama. A identificação desses ésteres metílicos foi realizada por quantificação relativa ou normalização. A análise térmica dos óleos extraídos foi realizada em equipamento da Perkin Elmer em atmosferas de nitrogênio e oxigênio. **Resultados:** Os ácidos graxos presentes em maior concentração nas amostras foram o ácido linoleico e o oleico. Ainda mais, verificou-se altas proporções de ácidos graxos da família n-6 nos óleos, sendo a razão n-6 por n-3 maior que a recomendação diária. Em atmosfera de nitrogênio, as amostras de óleo apresentaram estabilidade térmica até aproximadamente 300 °C, já em atmosfera de oxigênio sua estabilidade foi de 175 °C, sendo observadas três etapas de decomposição. **Considerações finais:** O conhecimento do perfil em ácidos graxos do óleo extraído de sementes da fruta do conde, permitiu verificar sua potencial aplicação na indústria de alimentos, como óleos para saladas, e na indústria farmacêutica para produção de cosméticos, contribuindo para o aproveitamento desse resíduo sólido.

Palavras-chave: *Annona Squamosa*, Ácidos Graxos, Estabilidade Térmica.

INTRODUÇÃO

Dados da Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) indicam que a produção mundial de frutas em 2018 foi de aproximadamente 868 milhões de toneladas, sendo o Brasil um dos maiores produtores com mais de 40 milhões de toneladas. A China destacou-se como maior produtor, com produção de mais de 243 milhões de toneladas de frutas, seguida da Índia, com cerca de 99 milhões de toneladas (FAO, 2020).

As condições edafoclimáticas do Brasil possibilitam o plantio de uma grande variedade de frutas. A fruta do conde, também conhecida como pinha, ata ou anona é cultivada em pequenos pomares devido às altas exigências da cultura, especialmente em mão de obra. A produção é destinada ao mercado interno sob a forma *in natura* e, secundariamente, é aproveitada para sucos, doces, geléias, licores e na farmacopéia. Classificada como exótica, inclusive no mercado interno, representa, a princípio, uma alternativa de negócio atraente, especialmente para a pequena produção, em função da sua rentabilidade (BRITO, 2010).

Estudos com as sementes de frutas da família Annonacea tem sido realizados por possuírem diversas classes de substâncias com atividades químicas e farmacológicas, principalmente no que se refere às acetogeninas (CHEN; CHEN; LI, 2012a; CHEN et al., 2012b). Segundo Santos, Pimenta e Boaventura (2007) essas substâncias naturais apresentam importantes atividades biológicas tais como: citotóxica, antitumoral, pesticida, vermicida, antimicrobiana, imunossupressora, antiemética, inibidora do apetite e antimalárica.

Yang et al. (2009) verificou que o teor total de acetogenina foi maior nas sementes de *Annona squamosa* que em outras quatro espécies (A. glabra, A. de gravioleira, A. reticulados e A. Bullata). Seffrin et al. (2010) extraíram extrato das sementes de *Annona squamosa* e *Annona atemoya* e estudaram as propriedades naturais inseticidas das acetogeninas, verificando que as duas espécies apresentaram potencial para o desenvolvimento de inseticidas botânicos.

Os estudos relacionados à semente da fruta do conde são sempre relacionados às acetogeninas, não tendo sido encontrados na literatura estudos com relação à caracterização do perfil e quantificação dos ácidos graxos presentes no óleo extraído da semente da fruta.

Kobori e Jorge (2005) afirmaram que as indústrias alimentícias brasileiras produzem resíduos que poderiam ter uma finalidade mais benéfica ao homem e ao meio ambiente. Muitos frutos comestíveis são processados para fabricação de sucos naturais, sucos concentrados, doces em conserva, polpas e extratos, os quais possuem sementes que são, muitas vezes, descartadas quando poderiam ser utilizadas para minimizar o desperdício de alimentos. Nesse estudo, os autores caracterizaram o óleo extraído de sementes de tomate, laranja, goiaba e maracujá, verificando que os mesmos apresentaram características

físico-químicas semelhantes a alguns óleos comestíveis, possuindo potencial de utilização para o consumo humano.

Segundo Alves, Figueiras e Moura (2000), a fruta do conde possui, em média, 39,16% de casca, 11,03% de sementes, 48,13% de polpa e 1,68% de eixo.

OBJETIVO

Extrair o óleo da semente de *Annona squamosa* L. (fruta do conde), determinando e quantificando os ácidos graxos do mesmo, além de realizar sua análise térmica, de forma a identificar as potencialidades de utilização do óleo extraído.

MÉTODOS

Coleta das amostras

Em março de 2014 foram coletadas frutas do conde de três diferentes plantas em três diferentes cidades da região Oeste do Paraná, Brasil: Santa Helena (A1), Cascavel (A2) e Medianeira (A3). Foi realizado o despolpamento das frutas e acondicionamento das sementes em freezer a -20 °C até o momento das análises.

Extração do óleo das sementes

A extração do óleo das sementes secas e o teor de lipídeos totais das mesmas foram realizados em triplicata, pelo método de Bligh & Dyer, no qual a extração do óleo é realizada a frio, utilizando uma mistura de clorofórmio, metanol e água em exatas proporções, para a extração de todas as classes de lipídios (BLIGH; DYER, 1959).

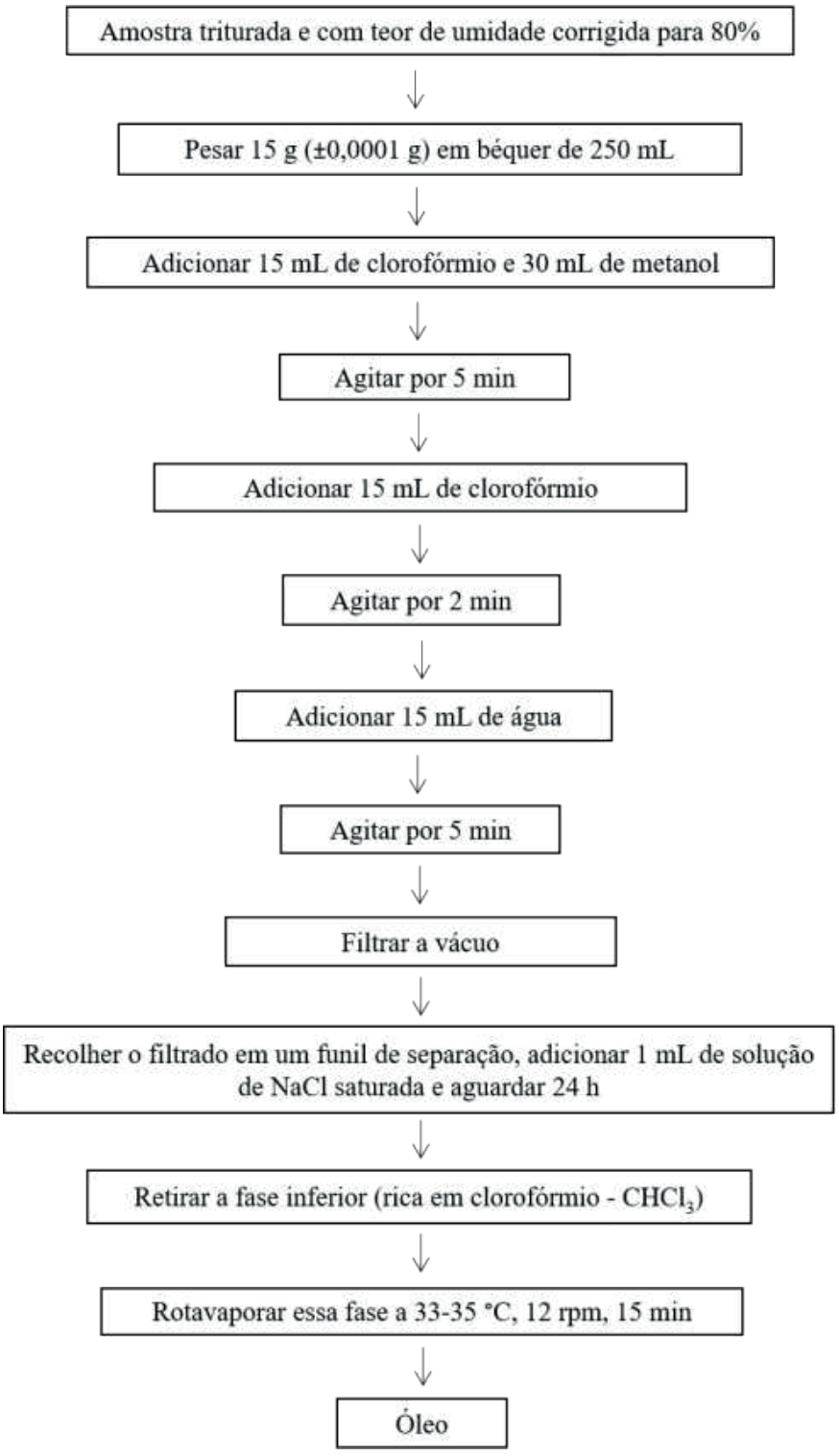
Essa metodologia de extração foi selecionada devido ao fato de a mesma não necessitar de temperaturas altas, as quais poderiam degradar ou comprometer a análise dos ácidos graxos presente nas amostras. O Fluxograma 1 apresenta os passos utilizados para a realização dessa análise.

Esterificação e transesterificação do óleo extraído

Segundo Maia e Rodriguez-Amaya (1993), a determinação da composição de ácidos graxos por cromatografia gasosa é uma análise largamente utilizada, porém existe a dificuldade de detecção de ácidos graxos com cadeia longa, os quais não são suficientemente voláteis para uma análise direta, necessitando assim da transformação dos mesmos em ésteres. Os métodos para preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos podem ser de transesterificação ou uma hidrólise seguida de esterificação.

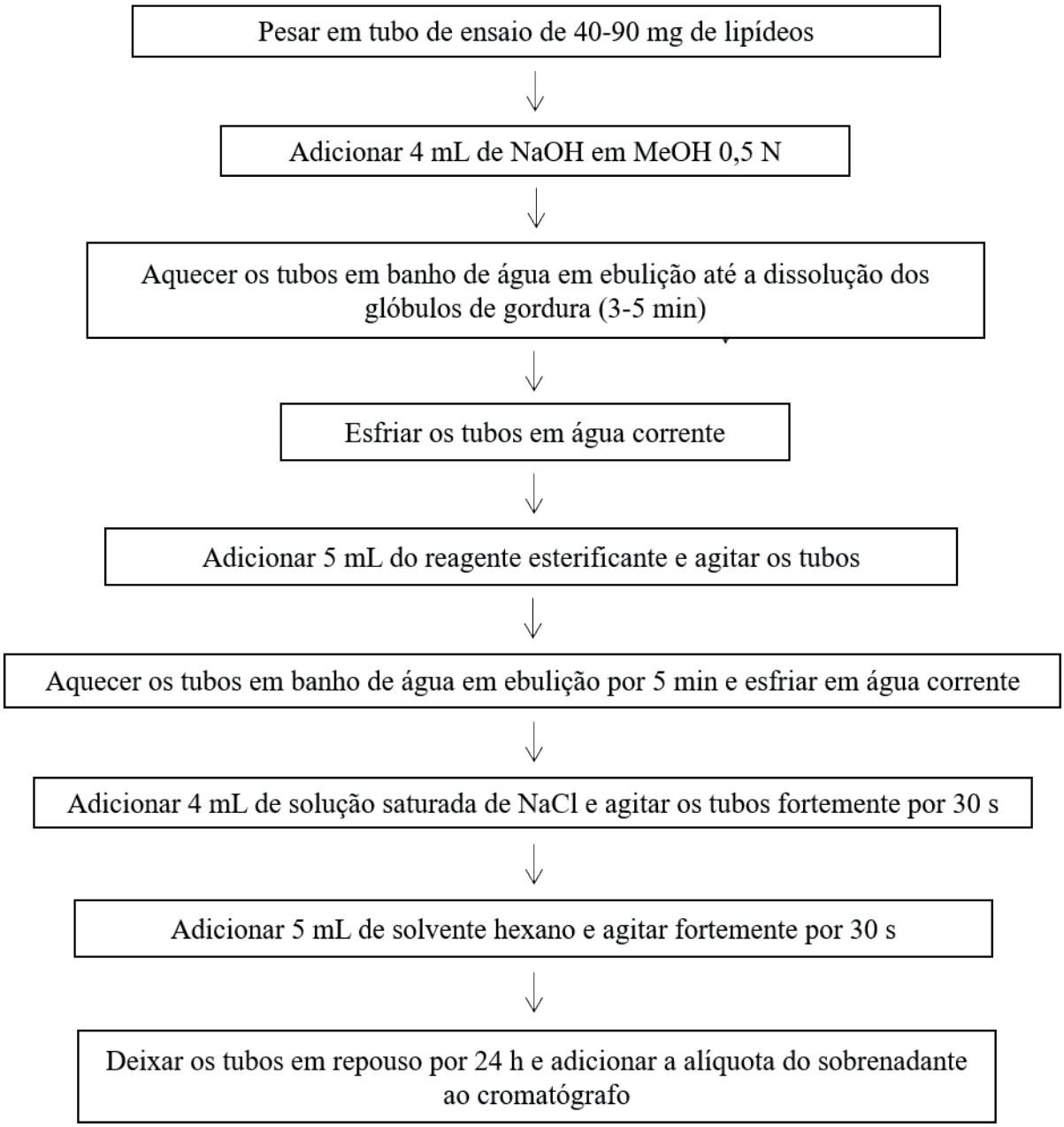
O processo de metilação do óleo foi realizado pelo método proposto por Hartman e Lago (1973) modificado por Maia e Rodriguez-Amaya (1993), no qual a fração lipídica total foi submetida à saponificação com KOH metanólico, seguida de esterificação com mistura de ácido sulfúrico (H2SO4) e cloreto de amônio (NH4Cl) em metanol (obtida sob refluxo) e transferida para hexano. No Fluxograma 2 estão descritas as etapas desse processo.

Fluxograma 1. Extração do óleo por Bligh & Dyer.



Fonte: Adaptado de Bligh e Dyer (1959).

Fluxograma 2. Etapas da transesterificação.



Fonte: Maia e Rodriguez-Amaya (1993).

Determinação e quantificação do perfil de ácidos graxos

A composição em ácidos graxos consistiu na conversão dos lipídios totais em ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG), conforme o método de metilação descrito em Hartman e Lago (1973) e modificado por Maia e Rodriguez-Amaya (1993). Através dessa metodologia os triacilglicerois e também os ácidos graxos livres foram convertidos em EMAGs.

Os EMAG foram separados em cromatógrafo a gás Varian CP-3380 (Pato Alto, CA, EUA), equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida CP-7420 (100 m x 0,25 mm x 0,25 μm de cianopropril – 100% ligado). As taxas dos gases usados foram 1,4 mL·min^{-1} de H2 como gás de arraste, 30 mL min^{-1} de N2 de gás auxiliar,

30 e 300 mL min^{-1}, respectivamente, H2 e ar sintético para a chama. A temperatura do injetor e detector foi de 235 °C e a coluna foi programada a 165 °C por 4 min, seguido de uma rampa de 4 °C min^{-1} até 185 °C por 5 min e uma segunda rampa de 10 °C min^{-1} até 225 °C por 10 min. Foram realizadas injeções de 2 μL para cada solução contendo os EMAG, para uma razão de divisão de 1:100.

Os EMAG foram identificados através da quantificação relativa ou normalização. As áreas dos picos foram determinadas utilizando-se o software Star 5.0 da Varian.

Análise termogravimétrica dos óleos extraídos das sementes das frutas

A técnica de termogravimetria (TG) permite a investigação das propriedades voláteis dos óleos e a correlação das características termo-oxidativas. A análise térmica dos óleos extraídos das sementes de fruta do conde provenientes das três diferentes cidades foram realizadas no termoanalisador modelo STA6000 (simultaneous thermal analysis) da PerkinElmer (Waltham, MA, EUA), em atmosfera de nitrogênio (N2) e de oxigênio (O2) com vazão de 100 mL min^{-1} do gás, variando a temperatura de 50 a 600 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1} (GARCIA, et. al., 2007).

RESULTADOS

Teor de lipídeos totais das sementes:

O teor de lipídeos encontrado na semente da fruta do conde foi de 7,52% ± 0,65.

Cromatografia gasosa

O perfil dos ácidos graxos encontrados no óleo de sementes de fruta do conde está descrito na Tabela 1, como média ± desvio padrão. Também são encontrados na Tabela 1 os somatórios dos ácidos graxos presentes (saturados, mono-insaturados e poli-insaturados) e as razões dos ácidos graxos n-6/n-3.

Tabela 1. Composição percentual dos ácidos graxos presentes nas sementes de fruta do conde.

Ácidos graxos	A1	A2	A3	Média
Ácido mirístico (C14:0)	0,06±0,01	0,06±0,01	0,04±0,01	0,05
Ácido palmítico (C16:0)	19,39±0,26	18,17±0,01	17,19±0,06	18,25
Ácido margárico (C17:0)	0,26±0,02	0,17±0,01	0,17±0,01	0,20
Ácido esteárico (C18:0)	5,68±0,06	4,57±0,02	5,39±0,02	5,21
Ácido oleico (C18:1 n-9)	37,92±0,22	32,97±0,17	35,33±0,09	35,41

Ácidos graxos	A1	A2	A3	Média
Ácido linoleico (C18:2 n-6)	34,44±0,07	41,73±0,12	39,49±0,05	38,55
Ácido gama-linolênico (C18:3 n-6)	0,44±0,01	0,37±0,01	0,45±0,01	0,42
Ácido alfa-linolênico (C18:3 n-3)	1,10±0,02	1,20±0,01	1,15±0,01	1,15
Ácido araquídico (C20:0)	0,20±0,01	0,27±0,01	0,28±0,01	0,25
Ácido heneicosanóico (C21:0)	0,07±0,01	n.d.	n.d.	0,02
Ácido behênico (C22:0)	0,29±0,02	0,29±0,01	0,31±0,02	0,30
Ácido lignocérico (C24:0)	0,16±0,02	0,19±0,01	0,18±0,01	0,18
Somatórios e razões dos ácidos graxos				
AGPI	35,98±0,09	43,29±0,13	41,08±0,04	40,12
AGMI	37,92±0,22	32,97±0,17	35,33±0,09	35,41
AGS	26,10±0,18	23,74±0,04	23,59±0,10	24,48
n-6	34,88±0,08	42,10±0,13	39,94±0,04	38,97
n-3	1,10±0,02	1,20±0,01	1,15±0,01	1,15
AGPI/AGS	1,38±0,01	1,82±0,01	1,74±0,01	1,65
n-6/n-3	31,64±0,39	35,23±0,36	34,85±0,29	33,91

AGPI: somatório de ácidos graxos poli-insaturados; AGMI: somatório de ácidos graxos mono-insaturados; AGS: somatório de ácidosgraxos saturados; n-6: somatório dos ácidos graxos da série ômega 6; n-3: somatório dos ácidos graxos da série ômega 3; AGPI/AGS: razão dos ácidos graxos poli-insaturados pelo somatório dos ácidos graxos saturados; n-6/n-3: razão dos ácidos graxos da série ômega 6 pelo somatório dos ácidos graxos da série ômega 3. n.d.: não detectado.

Análise termogravimétrica:

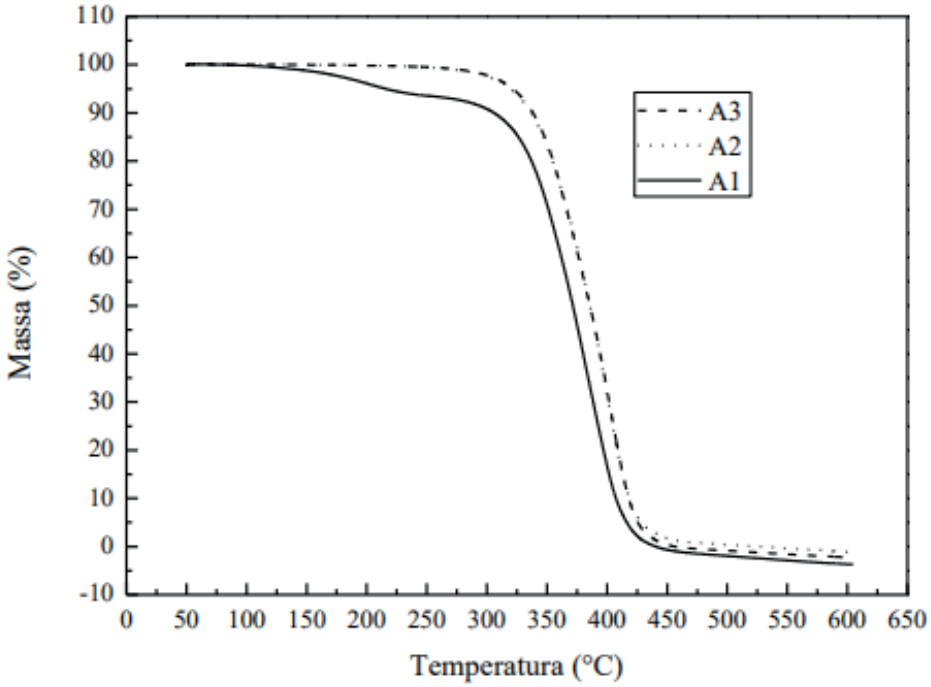
A Tabela 2 apresenta a massa inicial das amostras de óleo das sementes de fruta do conde adicionadas no equipamento de TG, em atmosferas de oxigênio e nitrogênio.

Tabela 2. Massas dos óleos de semente de fruta do conde utilizadas nos experimentos.

Amostra	Massa das amostras (mg)	
	Oxigênio	Nitrogênio
A1	4,476	5,878
A2	9,207	7,976
A3	7,306	8,450

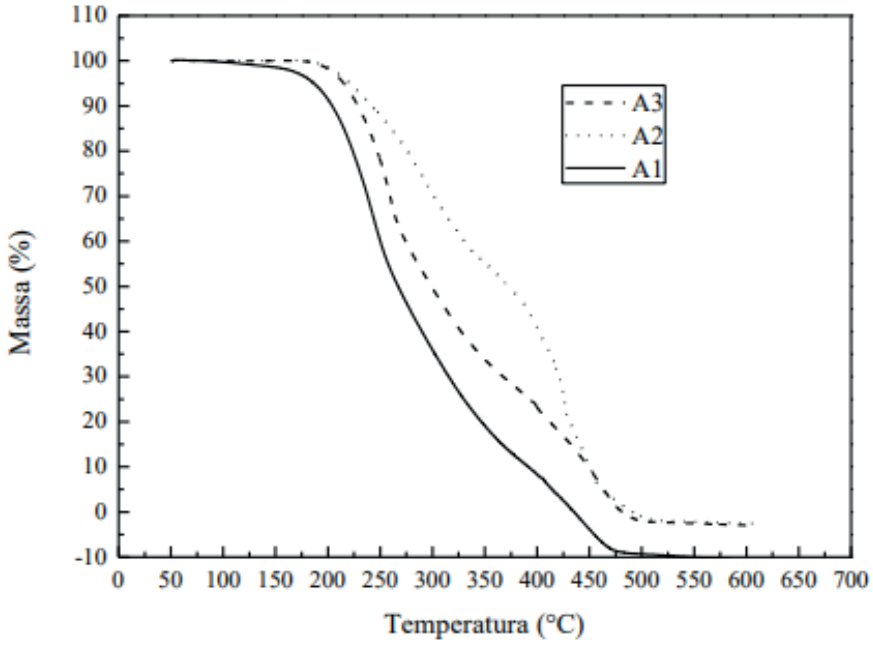
Na Figura 1 tem-se a curva de TG em atmosfera de nitrogênio para as amostras de óleo de sementes de fruta do conde das três diferentes cidades.

Figura 1. Curvas TG em atmosfera de nitrogênio para os óleos de semente de fruta do conde analisados.



A Figura 2 apresenta a curva de TG em atmosfera de oxigênio do óleo da semente de fruta do

Figura 2. Curvas TG em atmosfera de oxigênio para os óleos de semente de fruta do conde analisados.



DISCUSSÃO

Teor de lipídeos totais das sementes:

O teor de lipídeos encontrado na semente da fruta do conde foi de aproximadamente 7,52%. Já o teor de lipídeos da semente do ariticum, também da família Annonaceae, foi estudado por Santos, Martins e Conceição (2011), sendo sua extração também foi realizada por Bligh & Dyer, encontrando um teor lipídico de 8,21%, o que se aproximou ao encontrado na semente de fruta do conde.

Brum, Arruda e Regitano-D´Arce (2009) compararam diferentes métodos de extração de lipídeos totais, Bligh & Dyer e Soxhlet, de aveia em flocos, verificando que através do método de Soxhlet a quantidade de lipídeos totais extraídos por 4 h foi de 7,70 g/100 g de amostra. Quando a extração foi realizada por Bligh & Dyer, os autores verificaram uma quantidade de 7,66 g de lipídeos totais em 100 g de amostra, evidenciando o fato de que os dois métodos de extração dos lipídeos totais são equivalentes.

Cromatografia gasosa:

Quanto aos teores de ácido mirístico (C14:0), ácido margárico (C17:0), ácido gama-linolênico (C18:3n-6), ácido araquídico (C20:0), ácido heneicosanóico (C21:0), ácido behênico (C22:0) e ácido lignocérico (C24:0) foram encontrados valores médios inferiores a 0,42% para o total de lipídeos, sendo estes os menos abundantes dos ácidos graxos encontrados em sua composição.

Segundo Saldanha e Gonzales (2012) as gorduras poli-insaturadas: ômega 3 (n-3) e ômega 6 (n-6) são consideradas essenciais pois o ser humano não consegue sintetizá-las no organismo, enquanto que outras gorduras poli-insaturadas não são consideradas essenciais pois o organismo consegue produzí-las a partir do ácido linolênico e do ácido linoleico. Moreira, Curi e Mancini Filho (2002) relatam que o ácido linoleico é encontrado fundamentalmente em azeites e óleos de sementes, bem como em cereais.

Verificou-se na Tabela 1 que o ácido graxo presente em maior concentração nas amostras A2 e A3 foi o ácido linoleico (C18:2 n-6); já na amostra A3, o ácido graxo presente em maior concentração foi o ácido oleico. Verificou-se também altos teores de ácido oleico (C18:1 n-9) e ácido palmítico (C16:0) nos óleos extraídos das sementes de fruta do conde (Tabela 1). Devido ao seu alto conteúdo de ácido oleico e pelo fato de ser fonte do ácido graxo essencial n-6, os óleos das sementes de fruta do conde apresentam potencial de utilização na indústria de alimentos, como óleos para saladas. Seu alto teor de ácido palmítico

oferece plasticidade apropriada para a produção de sopas (GARCIA et al., 2007), além de possibilitar sua utilização na indústria de cosméticos e farmacêutica (SILVA, 2012).

Epaminondas (2009) estudou os óleos das sementes de linhaça torrada, marrom e dourada, e obteve 43,81% e 42,88% de ácido alfa-linolênico, respectivamente, sendo esse o ácido graxo presente em maior proporção no óleo de linhaça. Os percentuais dos ácidos graxos presentes em altos teores no óleo de linhaça, depois do ácido alfa-linolênico, foram próximos aos encontrados no óleo da semente de fruta do conde. Com relação ao ácido linoleico, Epaminondas (2009) obteve valores de 14,85% para as sementes marrons e 18,23% para as sementes douradas; para o ácido oleico, valores de 27,40% nas sementes marrons e 24,04% para as sementes douradas; para o ácido palmítico, valores de 7,25 % nas marrons e 7,09% nas sementes douradas. Comparando-se os resultados é possível constatar que o óleo de linhaça possui menores quantidades dos ácidos graxos citados que o óleo da semente da fruta do conde.

Cavalcanti et al. (2012) estudaram o óleo das amêndoas de faveleira e encontraram em maiores proporções os ácidos linoleico (49,45%), palmítico (20,87%) e oleico (17,80%). Os autores reiteram que os ácidos linoleicos e linolênicos são essenciais para os humanos, famílias n-6 e n-3, respectivamente, e são precursores do ácido araquidônico, que metabolicamente se transforma em ácidos graxos poli-insaturados de cadeias longas. Estes ácidos graxos fazem parte da estrutura das membranas biológicas. Substâncias eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclinas e leucotrienos) são também derivadas do ácido araquidônico. Esses compostos têm importantes funções na mediação de reações imunológicas, alérgicas e inflamatórias e no controle da hemostasia.

Os ácidos graxos de cadeia muito longa, como os ácidos araquidônico e docosaexaenóico, desempenham importantes funções no desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina. Esse grupo de ácidos graxos são sintetizados a partir dos ácidos linoleico e alfa-linolênico presentes na dieta. As famílias n-6 e n-3 competem pelas enzimas envolvidas nas reações de dessaturação e alongamento da cadeia. Por esse motivo, a razão de ingestão diária de alimentos fontes de ácidos graxos n-6 e n-3 assume grande importância na nutrição humana, sendo recomendada por órgãos oficiais a ingestão diária da razão entre os ácidos graxos n-6 e n-3 no intervalo de 4:1 a 5:1 (MARTIN et al., 2006).

Analisando a Tabela 1 verificou-se que o óleo da semente de fruta do conde fornece altas proporções de ácidos graxos da família n-6, e que a razão de n-6 por n-3 é alta, maior que a recomendação diária. Segundo Martin et al. (2006) com a industrialização a razão n-6/n-3 aumentou, principalmente na dieta ocidental, sendo que estudos clínicos comprovaram que a diminuição dessa razão para valores próximos de 4:1 reduz significativamente

a taxa de mortalidade em pacientes com doenças cardiovasculares, sintomas decorrentes de asma e inflamações decorrentes de artrite reumatoide.

Análise termogravimétrica:

Pode-se verificar na Figura 1 que, em atmosfera inerte, as amostras A2 e A3 seguiram padrão de decomposição semelhantes, em que a degradação teve início a 300 °C e findou a aproximadamente 425 °C, com somente uma etapa de degradação. A amostra A1 teve sua degradação iniciada à temperatura de 125 °C e então a degradação seguiu o mesmo padrão das demais. Aos 400 °C verificou-se perda de massa de aproximadamente 95 % para as amostras de A2 e A3 e de 96 % para a amostra A1.

Em atmosfera de oxigênio, Figura 2, pode-se verificar que as amostras possuem estabilidade térmica até aproximadamente 175 °C. A partir dessa temperatura, verificou-se degradação térmica. Em atmosfera de oxigênio a degradação iniciou-se em uma temperatura bastante inferior e ocorreram mais etapas de degradação dos óleos quando comparada à degradação em atmosfera de nitrogênio. Isso ocorreu devido ao fato de a perda de massa não ser resultado somente da degradação térmica, mas também da oxidação da amostra. O nitrogênio é um gás inerte que não reage com os triacilglicerídeos, sendo a perda de massa relacionada somente com a degradação térmica.

Para o óleo extraído A3 verificou-se que a primeira etapa de degradação ocorreu entre 175 °C e 270 °C com perda de massa de 37,97%. A segunda etapa ocorreu entre 270 °C até aproximadamente 460 °C, tendo perda de massa de 55,83%. A terceira etapa de degradação do óleo ocorreu entre 460 °C e 485 °C, com perda de massa de 6,20%.

A amostra de A2 apresentou a primeira etapa de degradação na faixa de 175 a 350 °C com perda de massa de 45,64%. Na segunda etapa ocorreu perda de massa de 41,53% no intervalo de 350 a 450 °C. A última etapa teve início em 450 °C e fim em 480 °C, com perda de 12,83%.

Na curva termogravimétrica em atmosfera de oxigênio, assim como em atmosfera de nitrogênio verificou-se o início da degradação térmica da amostra A1 a 125 °C, sugerindo a ocorrência de contaminação da amostra ou possível oxidação da amostra durante seu armazenamento.

Para a amostra A1, com curvas em formatos bastante semelhantes às curvas da amostra A3, verificou-se na primeira etapa (125 – 250 °C) perda de massa de 41,44% e na segunda etapa (250 – 375 °C) perda de 43,72 %. Já na última etapa, quando as temperaturas variaram de 375 a 450 °C, a perda de massa foi de 14,84%.

Os resultados obtidos pela TG em atmosfera de oxigênio mostraram que o comportamento térmico dos óleos de sementes de fruta do conde foi semelhante, principalmente no que diz respeito às temperaturas de início e fim da degradação.

Em atmosfera de oxigênio, ocorreram três etapas de perda de massa referentes à oxidação das amostras. A primeira etapa pode ser atribuída à decomposição térmica dos ácidos graxos insaturados das amostras; a segunda etapa, à decomposição dos ácidos graxos saturados; e a última etapa à degradação de macromoléculas que se formaram durante o processo de oxidação (CAVALCANTI et al., 2012; GARCIA et al., 2007).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse trabalho contribuiu para o conhecimento do perfil em ácidos graxos do óleo extraído de sementes de fruta do conde, as quais se constituem como um resíduo sólido. Dessa forma, verificou-se potencial aplicação do óleo na indústria de alimentos, como óleos para saladas, e na indústria farmacêutica para produção de cosméticos, por apresentar altas proporções de ácidos linoleico, oleico e palmítico. Além disso, o óleo mostrou-se como fonte do ácido graxo essencial n-6.

A estabilidade da maioria das amostras em atmosfera de nitrogênio ocorreu até aproximadamente 300 °C, enquanto que em atmosfera de oxigênio, a temperatura de estabilidade térmica foi de aproximadamente 175 °C, fato relacionado não só à degradação térmica das amostras, como também à sua oxidação.

REFERÊNCIAS

1. ALVES, R. E.; FILGUIERAS, H. A. C.; MOURA, C. F. H. **Caracterização de frutas nativas da América Latina**. Jaboticabal: Funep, 2000. 66p.

2. BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian-**Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 991-917, 1959. https://doi.org/10.1139/o59-099

3. BRITO, A. F. S. **Estudo do Mercado da Pinha (*Annona squamosa* L.) Produzida no Estado da Bahia, Brasil**. 2010. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Vitória da Conquista. 2010. Disponível em: <http://transformationmastershq.com/teses/20/Adeline-Ferraz-Santos.pdf?1345324011> Acesso em: 21 nov. 2020.

4. BRUM, A. A. S.; DE ARRUDA, L. F.; REGITANO-D´ARCE, M. A. B. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Química Nova**, v.32. n.4, p. 849-854, 2009. https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400005

5. CAVALCANTI, M. T.; BORA, P.S; CARVAJAL, J. C. L.; FLORENTINO, E. R.; SILVA, F. L. H. Análise térmica e perfil de ácidos graxos do óleo das amêndoas de faveleira (*Cnidosculus phyllacanthus* Pax. & K. Hoffm) com e sem espinho. **Revista Verde**, v. 7, n. 4, p. 154-162, out-dez, 2012. Disponível em: <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/1879> Acesso em: 21 nov. 2020

6. CHEN, Y.; CHEN, J.; LI, X. Mono-tetrahydrofuran annonaceous acetogenins from the seeds of *Annona squamosa*. **Phytochemistry Letters**, v. 5, p. 33–36, 2012a. https://doi.org/10.1016/j.phytol.2011.08.015

7. CHEN, Y.; CHEN, J.; WANG, Y.; XU, S.; LI, X. Six cytotoxic annonaceous acetogenins from *Annona squamosa* seeds. **Food Chemistry**, v. 135, p. 960–966, 2012b. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.041

8. EPAMINONDAS, P. S. **Caracterização físico-química e termo-oxidativa das sementes de linhaça (*Linun usitatissimum* L.) e de seus óleos**. 2009. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2009. Disponível em: <http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=1574 26> Acesso em: 21 nov. 2020

9. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Crops**. Disponível em:http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC Acesso em: 21 nov. 2020.

10. GARCIA, C. C.; FRANCO, P. I. B. M.; ZUPPA, T. O.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; LELES, M. I. G. Thermal Stability Studies of some Cerrado Plant Oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 87, p. 645-648, 2007. https://doi.org/10.1007/s10973-006-7769-x

11. HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, n. 6, p. 475-477, 1973.

12. KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos Óleos de algumas Sementes de Frutas como Aproveitamento de Resíduos Industriais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 5, p. 1008-1014, 2005. https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000500014

13. MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avaliação de um método simples e econômico para a metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 53, p. 27-35, 1993.

14. MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006. https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000600011

15. MOREIRA, N.X.; CURI, R.; MANCINI FILHO, J. Ácidos graxos: uma revisão. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 24, p. 105-123, 2002. Disponível em: <http://sban.cloudpainel.com.br/files/revistas_publicacoes/47.pdf> Acesso em: 20 nov. 2020

16. SALDANHA, E. S. P. B.; GONZALES, E. Enriquecimento de ácidos graxos na alimentação de poedeiras. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 9, n. 1, 2012. Disponível em: <http://www.aptaregional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2012/janeiro- junho-2/1073-enriquecimento-de-acidos-graxos-na-alimentacao-de- poedeiras/file.html?force_download=1> Acesso em: 21 nov. 2020

17. SANTOS, J. P. F.; MARTINS, F. S.; CONCEIÇÃO, E. C. Extração e caracterização dos lipídeos do óleo das sementes de *Annona crassiflora* Mart. (Araticunzeiro). In: 63ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Científica, 2011. Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Brasileira de Pesquisa Científica. Disponível em: <http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/resumos/resumos/5999.htm> Acesso em: 21 nov. 2020.

18. SANTOS, L. A. R.; PIMENTA, L. P. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Acetogeninas de anonáceas bioativas isoladas das sementes de *Annona cornifolia* A. St-Hil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 9, n. 3. p. 48-51, 2007. http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722012000400009

19. SEFFRIN, R. C.; SHIKANO, I.; AKHTAR, Y.; ISMAN, M. B. Effects of crude seed extracts of *Annona atemoya* and *Annona squamosa* L. against the cabbage looper, *Trichoplusia ni* in the laboratory and greenhouse. **Crop Protection**, v. 29, p. 20–24, 2010. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.09.003

20. SILVA, A. E. de S. da. **Identificação e Quantificação via Técnicas Cromatográficas de Ácidos Graxos com Potencial Farmacológico em Frutos Amazônicos**. 2012. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (USP), São Paulo. 2012. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85134/tde-16012013- 145227/publico/2012SilvaIdentificacao.pdf> Acesso em: 21 nov. 2020

21. YANG, H. J.; LI, X.; TANG, Y. P.; ZHANG, N.; CHEN, J. W.; CAI, B. C. Supercritical fluid CO2 extraction and simultaneous determination of eight annonaceous acetogenins in Annona genus plant seeds by HPLC-DAD method. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, p. 140– 144, 2009. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2008.09.055

18

Influência da sazonalidade nos teores de compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de flores de duas cultivares de jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen)

- Ana Paula de Souza e **Silva**
  UFPA
- Eduardo Gama Ortiz **Menezes**
  UFPA
- Flávia Cristina Seabra **Pires**
  UFPA
- Ivonete Quaresma da Silva de **Aguiar**
  FPA
- Sérgio Henrique Brabo de **Sousa**
  FPA
- Andréia de Fátima Souza **Araújo**
  UFPA
- Maria Caroline Rodrigues **Ferreira**
  UFPA
- Raul Nunes de **Carvalho Junior**
  UFPA
- Letícia Maria Martins **Siqueira**
  UFPA

doi 10.37885/201102248

RESUMO

Objetivo: Determinar o teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de flores de duas cultivares de jambu (Nazaré e Jamburana) e avaliar possíveis diferenças entre as duas. **Métodos:** Foram utilizadas flores provenientes de cultivos realizados em dois períodos do ano (estação úmida e estação seca), e para cada cultivo, foram realizadas duas colheitas (61 e 76 dias após a semeadura). **Resultados:** Os teores de compostos fenólicos totais mostraram que o cultivo na estação úmida apresentou maiores valores para as duas cultivares, sendo os tempos de colheita antecipados (61 dias) os que apresentaram maiores concentrações. A atividade antioxidante apresentou resultados que se relacionam aos teores de fenólicos totais, por também apresentarem maiores valores para estação úmida, porém diferiram-se nos tempos de colheita, sendo os de maior tempo (76 dias) os que apresentaram maiores resultados. **Conclusão:** As duas cultivares apresentaram diferenças, sendo a cultivar Nazaré a que possui maiores níveis de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, e que o período de colheita com melhores rendimentos foi a estação úmida.

Palavras-chave: Jambu, Compostos Fenólicos, Atividade Antioxidante.

INTRODUÇÃO

Acmella oleracea (L.) R. K. Jansen é uma planta medicinal originária da América do Sul, de ocorrência nas regiões norte, nordeste, sul e sudeste do Brasil, sendo também distribuída na Índia, Malásia, África Central e Ocidental e no norte da Austrália (Jansen, 1981; Ramsewak et. al., 1999; Mahendra et. al., 2001; Yadav & Singh, 2010). Possui como sinonímia botânica *Spilanthes oleracea* L. e é popularmente conhecida no Brasil como jambu, jamburana, jambuaçú, agrião-bravo, agrião-do-pará e agrião-do-brasil. Em inglês, a erva é frequentemente mencionada como "toothache plant" (planta da dor de dente) (Moreno et. al., 2012; Di Stasi, 2002).

O jambu é uma planta herbácea anual do tipo C3, considerada perene, fortemente ramificada, semiereta ou quase rasteira, e se multiplica de forma tanto sexuada como assexuada, chegando a atingir entre 32 a 60 cm de altura (Villachica et. al., 1996; Lorenzi & Matos, 2002; Savadi, et. al., 2010).

É uma hortaliça bastante consumida na região amazônica, sendo utilizada na preparação de iguarias regionais, como pato-no-tucupi e tacacá, e suas folhas são utilizadas na composição de cozidos e saladas. Apresenta propriedades condimentares, relacionadas ao sabor acre e pungente da planta, e seu uso como condimento deve ser realizado de forma moderada, uma vez que a hortaliça apresenta propriedades medicinais, que podem provocar reações adversas, se ingeridas em porções elevadas (Dias et. al., 2012; Tiwari et. al., 2011; Leng et. al., 2011; Hind & Biggs, 2003; Jirovetz et. al., 2006).

No estado do Pará, são comercializadas duas cultivares de jambu, denominadas de Jamburana e Nazaré. De acordo com dados da Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), a cultivar Jamburana é mais consumida para fins medicinais e apresenta características nativas ou selvagens. A cultivar Nazaré é mais utilizada para fins alimentícios, sendo resultado de programa de melhoramento genético, realizado pela Embrapa, e lançada no mercado para produção em larga escala, sem riscos de contaminação por pragas e doenças, principalmente a "ferrugem", que era o principal agente responsável pela destruição de cultivos da espécie.

De maneira geral, há poucas publicações relacionadas às duas cultivares, onde dados relacionados aos seus perfis fitoquímicos e agronômicos sejam bem explanados. Desta forma, objetivou-se neste trabalho, a avaliação de possíveis diferenças entre as cultivares Nazaré e Jamburana, no que se refere aos teores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante das plantas processadas. Optou-se pela utilização das flores, uma vez que as mesmas produzem as sementes e seus níveis de produção de biomassa dependem da quantidade de sementes produzidas. Este trabalho é parte de um estudo mais aprofundado sobre avaliação de possíveis diferenças entre as duas cultivares.

OBJETIVO

Determinar o teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de flores de duas cultivares de jambu (Nazaré e Jamburana) e avaliar possíveis diferenças entre as duas.

MÉTODOS

Pré-tratamento e preparo de amostra

Neste trabalho, foram utilizadas flores de duas cultivares de *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, denominadas de Nazaré e Jamburana. As amostras são provenientes de cultivo orgânico em campo aberto, sendo resultado de dois experimentos de cultivo: um realizado em julho de 2016, correspondendo a estação seca, predominando a escassez de chuva na região amazônica, e outro em março de 2017, correspondendo a estação úmida, no qual se registra altos índices de chuva na mesma região. Os experimentos foram delineados em blocos casualizados, com três repetições e duas épocas de colheita (61 e 76 dias após a semeadura), baseado no tempo de senescência da planta. Portanto, as amostras foram avaliadas quanto ao seu período de cultivo (estação úmida e estação seca), tempo de colheita (61 e 76 dias) e tipo de cultivar (Nazaré e Jamburana), resultando em oito amostras, que foram identificadas de acordo com a tabela 1:

Tabela 1. Identificação das amostras

Amostras			Identificação
Período (estação)	Tempo (dias)	Cultivar	
Úmida	61	Nazaré	MP1
Úmida	61	Jamburana	MP2
Úmida	76	Nazaré	MP3
Úmida	76	Jamburana	MP4
Seca	61	Nazaré	MP5
Seca	61	Jamburana	MP6
Seca	76	Nazaré	MP7
Seca	76	Jamburana	MP8

Após as colheitas, as flores foram higienizadas em água corrente e secas em estufa de circulação de ar (Fabbe-Primar, Brasil) por 48h sob temperatura de 40ºC. Em seguida, foram moídas em moinho de facas e seus teores de umidade foram medidos em um analisador de umidade infravermelho, com precisão de ±0,01% (GEHAKA, modelo IV-2500, Brasil). A figura 1 mostra o plantio das duas cultivares e as flores após o processamento (secagem e moagem).

Figura 1. a) plantio da cultivar Nazaré; b) plantio da cultivar Jamburana; c) flores após o processo de secagem e moagem.

Obtenção dos extratos

Aproximadamente 1g das amostras de flores de *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen depois de processadas, foram submetidas à extração em 30 mL de etanol grau HPLC (Tedia®, Fairfield, EUA). Em seguida, as amostras foram centrifugadas sob rotação de 10.000 rpm por 10 min em temperatura de 4ºC (Termo Electron Led GMBH, Multifige X1R-N/S). Posteriormente, o sobrenadante foi filtrado e os extratos armazenados em frasco âmbar e mantidos sob refrigeração.

Determinação de compostos fenólicos totais

As determinações foram realizadas segundo método proposto por Singleton & Rossi (1965) com adaptações. Para quantificação foi utilizado como padrão o ácido gálico nas concentrações de 20 a 100 mg/L, para construção da curva analítica (r=0,99). Os resultados foram calculados e expressos em equivalente a ácido gálico por 100g (mg AGE/100g base seca (b.s)).

Capacidade antioxidante in vitro pelo método TEAC

Os testes da capacidade antioxidante pelo método TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*) foram realizados segundo protocolo descrito por Rice-Evans e Miller (1994). No qual o radical ABTS·+ é obtido a partir da reação da solução aquosa de ABTS (2,2-azino-bis (3-ethilbenzo-thiazoline-6-ácido sulfônico)) a 7 µM com uma solução estoque de perssulfato de potássio a 140 µM. A Mistura foi mantida ao abrigo da luz à temperatura ambiente (≈ 26 ºC) durante 16 horas. Uma vez formado o radical ABTS·+, foi realizada diluição em etanol grau HPLC (Tedia®, Fairfield, EUA) até a obtenção de uma absorbância de 0,7±0,05, com leituras em comprimento de onda a 734 nm.

Com base no extrato obtido no item 2.2 preparou-se três concentrações do extrato (10, 20 e 30 mg/mL). A partir de cada concentração, uma alíquota de 30µL reagiu com 3mL do radical ABTS·+. Após 6 minutos de reação foi realizada leitura da absorbância a 734 nm

em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Evolution 300, Sam Jose, EUA), utilizando etanol como branco. Como referência, foi elaborada uma curva analítica com trolox (6-hidroxi--2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico), nas concentrações de 0,01 a 0,20 mg/mL e os resultados (n=3) calculados e expressos em µM Trolox/g (base seca).

Analise estatística dos dados

As determinações foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como a média de três repetições independentes (n=3). Para verificar a existência de diferenças, as médias dos resultados foram submetidas à análise de variância e, quando significativas, comparadas pelo teste de Tukey a 95% de probabilidade, com auxílio do programa Statistica® versão 7.0 (Statsof. Inc. Tulsa, EUA).

RESULTADOS

Compostos fenólicos totais

Com base nos resultados obtidos, a cultivar Nazaré foi a que apresentou o maior teor de compostos fenólicos totais em relação aos outros parâmetros avaliados, tendo valores variando de 8,97 a 22,48 mg AGE/ 100g de amostra (b.s.). De acordo com o exposto na tabela 2, o maior teor de compostos fenólicos totais ocorreu na estação úmida (MP1 a MP4), tanto para a colheita de 61 quanto para 76 dias, sendo estes valores maiores para o tempo de colheita em 61 dias pós semeadura. Chitarra e Chitarra (2005) mencionam que, em hortaliças ocorre grandes variações nos teores iniciais de antioxidantes, este fato é ocasionado pela variabilidade genética entre cultivar, bem como pelos fatores climáticos que influenciam grandemente a síntese de metabolitos secundários.

Tabela 2. Teores de compostos fenólicos totais em flores de jambu

Cultivares Nazaré e Jamburana	Compostos fenólicos totais (mg AGE/100g)
Mp1	22,48±0,09a
Mp2	16,23±0,02b
Mp3	17,74±1,39b
Mp4	20,56±0,42a
Mp5	12,01±0,02c
Mp6	11,92±0,25c
Mp7	8,97±0,14d
Mp8	7,95±0,16d

Dados expressos a média ± desvio-padrão. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey a 95% de probabilidade.

Na cultivar Jamburana, o teor médio de compostos fenólicos totais variou entre 7,95 a 20,56 mg AGE/ 100g de amostra (b.s.), sendo sua colheita em 61 dias a que apresentou

maior teor. Em relação a avaliação estatística, as cultivares da estação úmida MP1 e MP4 não se diferiram estatisticamente entre si (p>0,05), bem como a MP2 e MP3, não apresentaram variações significativas, consideradas iguais segundo o teste estatístico aplicado. Para a estação seca, as cultivares MP5 e MP6 não se diferem, bem como as cultivares MP7 e MP8.

Atividade antioxidante

Os resultados de atividade antioxidante das flores de jambu estão apresentados na tabela 3 e podem ser relacionados aos resultados de compostos fenólicos totais, pois observou-se maiores valores para as amostras coletadas na estação úmida (MP1 a MP4) que também apresentam tanto para a cultivar Nazaré quanto para Jamburana os maiores teores em compostos fenólicos. Os tempos de colheita apresentaram influência nos níveis de atividade antioxidante das cultivares, sendo os maiores tempos de colheita os que apresentaram maiores atividades. Isto pode estar relacionado a produção de outros compostos secundários com atividade antioxidante, diferentes dos compostos fenólicos.

Tabela 3. Atividade antioxidante de flores processadas de jambu

Cultivares Nazaré e Jamburana	µM Trolox/g
MP1	10,74±0,09b
MP2	8,16±0,12d
MP3	14,45±0,58a
MP4	13,56±0,02a
MP5	9,251±0,22c
MP6	7,02±0,03e
MP7	5,57±0,04f
MP8	6,05±0,06f

Dados expressos a média ± desvio-padrão. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de a 95% de probabilidade.

DISCUSSÃO

Compostos fenólicos totais

Para os dois períodos de cultivo estudados, o teor de fenólicos totais diminuiu com o passar do tempo de colheita, isso ocorre por conta do início da fase de senescência da planta. Esta fase caracteriza-se pelo fim do ciclo de vida da planta e a diminuição na produção de alguns metabólitos secundários. A tendência da cultivar Nazaré de apresentar maiores valores dos compostos fenólicos corroboram para o desenvolvimento de plantas melhoradas geneticamente que podem sintetizam elevados compostos secundários relacionados a saúde.

Atividade antioxidante

Para a estação seca, houve redução da atividade antioxidante, onde os tempos de colheita apresentaram diferenças significativas. Estatisticamente, as cultivares MP7 e MP8 não apresentaram diferenças, já em relação as cultivares MP5 e MP6 se diferiram entre si. Borges et. al. (2015) apresentaram valores médios de 0,30±0,14 (TEAC mg/g^{-1}) para a cultivar Jamburana e 0,26±0,08 (TEAC mg/g-1) para a cultivar Nazaré. Os autores avaliaram as folhas das duas cultivares sob cultivo orgânico e convencional. Os valores mais baixos apresentados devem-se ao fato da parte da planta utilizada (folha) apresentar concentrações menores em antioxidantes naturais, que aquelas encontradas nas flores de *Acmella oleracea*, a parte da planta que possivelmente apresenta a maior concentração de metabólitos secundários com propriedades antioxidantes.

CONCLUSÃO / CONSIDERAÇÕES FINAIS

Comparando as duas cultivares de jambu, sendo uma modificada geneticamente (Nazaré) e outra de características nativas (Jamburana), foram observadas diferenças entre as duas. Em relação ao período de cultivo, observou-se o maior teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante na estação úmida. Para os tempos de colheita, o teor de fenólicos totais foi maior para a colheita antecipada (61 dias) como também para a atividade antioxidante, houve variações em relação ao tempo, sendo a colheita tardia a que apresentou maiores resultados. De maneira geral, este trabalho apresenta resultados primários em relação as possíveis diferenças entre as duas cultivares, bem como seus períodos e tempos de colheita, e corrobora para os dados de modificação genética realizados na cultivar Nazaré.

REFERÊNCIAS

1. Borges, L. S.; Vieira, M. C. S.; Vianello, F.; Goto, R.; Lima, G. P. P. *Antioxidant compounds of organically and conventionally fertilized jambu (Acmella oleracea).* Biological Agriculture & Horticulture. v. 32, p. 149-158, 2015.

2. Chitarra, M. I. F., Chitarra, A. B. (2005). *Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio*. 2. Ed. Lavras:UFLA, 278p.

3. Di Stasi, L. C. *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. São Paulo: Editora UNESP. p.472-483, 2002.

4. Dias, A.M.A.; Santos, P.; Seabra, I.J.; Júnior, R.N.C.; Braga, M.E.M.; De Sousa, H.C. *Spilanthol from Spilanthes acmella flowers, leaves and stems obtained by selective supercritical carbon dioxide extraction,* J. Supercrit. Fluid. v.61, p.62–70, 2012.

5. Hind, N.; Biggs, N. *Acmella oleracea*: Compositae. Curtis's Botanical Magazine. v.20, n.1, p.31-39. 2003.

6. Jansen, R.K. *Systematics of Spilanthes* (Compositae: Heliantheae). Syst. Bot. v.6, p.231-257, 1981.

7. Jirovetz, L.; Buchbauer, G.; Abraham, G.T.; Shafi, M.P. *Chemical composition and olfactoric characterization of Acmella radicans (Jacq.) R.K. Jansen var. radicans from southern India*, Flavour and Fragrance Journal. v.21, p.88–91, 2006.

8. Leng, T.C.; Ping, N.S.; Lim, B.P.; Keng, C.L. *Detection of bioactive compounds from Spilanthes acmella (L.) plants and its various in vitro culture products*. J Med Plant Res. v.5, p.371-8, 2011.

9. Lorenzi , H. ; Matos, F. J. A. ; *Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas. Nova Odessa*: Instituto plantarum de estudos da Flora LTDA. 512p. 2002.

10. Mahendra, R.; Deepak, A.; Archana, S.; Ajit, V. *Positive growth responses of the medicinal plants Spilanthes calva and Withania somnifera to inoculation by Piriformospora indica in a field trial*. Mycorrhiza, v.11, p.123-128, 2001.

11. Moreno, S.C.; Carvalho, G.A.; Picanço, M.C.; Morais, E.G.F.; Pereira, R.M. *Bioactivity of compounds from Acmella oleracea against Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) and selectivity to two non-target species.* Pest Manag Sci, v. 68, p.386-393, 2012.

12. Ramsewak, R. S.; A. J. Erickson, and M. G. Nair, *"Bioactive N-isobutylamides from the flower buds of Spilanthes acmella*. Phytochemistry, vol. 51, no. 6, pp. 729–732, 1999.

13. Rice-Evans, C., Miller, N. J. (1994). *Total antioxidant status in plasma and body fluids*. Methods enzymolecule. v. 234, p. 279-293.

14. Savadi, R.V.; Yadav, R.; Yadav, N. *Study on immunomodulatory activity of ethanolic extract of Spilanthes acmella Murr. leaves*. Indian Journal of Natural Products and Resources. V.1(2), p.204-207, 2010.

15. Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965) *Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagentes*. *Americam Journal of enology and viticulture*. 16, 144-153.

16. Tiwari K.L.; Jadhav S.K.; Joshi V. *An updated review on medicinal herb genus Spilanthes*. Chin J Integr Med. v.9, p.1170-8, 2011.

17. Villachica, H.; Carvalho, J. E. U.; Muller, C. H.; Diaz, S. C.; Almanza, M. *Frutales y hortalizas promissórios de la Amazônia*. Lima: TCA; Secretaria Protempore, p. 322- 327, 1996.

18. Yadav K, Singh N. *Micropropagation of Spilanthes acmella Murr. – An Important Medicinal Plant*. Nature and Science, v. 8(9), p.5-11, 2010.

19

Obtenção de xarope da seiva do tronco de palma (*Elaeis guineenses*) clarificada com quitosana

- Rômulo Almeida **Costa**
  UFPA/ITEC/FEA
- Adriano de Figueiredo **Marçal**
  UFPA/ITEC/LAOS
- Lucia de Fátima Alves **Gomes**
  UFPA/ITEC/LAOS
- Vanessa Albres **Botelho**
  UFPA/ITEC/FEA
- Luiz Ferreira de **França**
  UFPA/ITEC/FEA
- Nadia Cristina Fernandes **Corrêa**
  UFPA/ITEC/FEA

10.37885/201102241

RESUMO

A cadeia produtiva da palma gera inúmeros resíduos dentre eles, podendo se destacar os troncos das palmeiras que são derrubadas para substituição por novas mudas da espécie, motivadae pelo declínio do rendimento em frutos e por consequência no óleo de palma. Com isso, troncos são descartados e/ou subutilizados, no entanto, esse resíduo da cadeia produtiva tem potencial de aproveitamento através da extração da seiva, líquido amarelo claro rico em açúcares. Objetivo do trabalho foi investigar a clarificação da seiva de palma extraída a partir do tronco, pelo processo de coagulação e floculação, utilizando como agente clarificante a quitosana, visando a obtenção de um xarope com elevado teor de açúcares. Métodos: A realização do processo de clarificação foi feita a partir de um planejamento experimental. As variáveis avaliadas foram: pH, concentração de quitosana, tempo de sedimentação e velocidade de rotação da mesa agitadora. Resultados: A partir dos resultados foi possível avaliar que houve redução de turbidez da seiva de palma, sendo o pH, a concentração de quitosana e a velocidade de rotação as variáveis mais significativas no processamento. Conclusão: O pH de 6,3, a concentração de quitosana igual a 400 mg/L e a velocidade de agitação em 150 rpm promoveram a transmitância de 90,5 % na seiva, sendo este considerado o ponto ótimo da clarificação. Posteriormente, a seiva clarificada no ponto ótimo foi concentrada até 65°Brix.

Palavras-chave: Seiva, Dendê, Clarificação, Xarope.

INTRODUÇÃO

A palma ou dendezeiro (*Elaeis guineensis*) é uma espécie bastante difundida em países tropicais destacando-se Malásia e Indonésia. Desta espécie de palmeira se extraí, a partir da polpa do fruto, um óleo muito conhecido e comercializado no mercado internacional, o óleo de palma ou dendê utilizado principalmente nas indústrias alimentícia e de cosméticos. Os dois países juntos respondem por mais de 80 % da produção mundial de óleo de palma sendo assim, os maiores produtores mundiais. O Brasil ainda é um discreto produtor, no entanto, têm potencial de expansão com mais de 30 milhões de hectares de área sustentável para cultivo, sendo o Estado do Pará o maior produtor de palma concentrando 90 % da produção nacional (Furlan-Junior, 2006).

A palma é produtiva a partir de 2,5 anos após o plantio e sofre declínio gradativo de produtividade entre 20 e 25 anos de idade, logo faz-se necessário o replantio de novas mudas. Durante o período de produtividade média a palma chega a produzir até 18 toneladas de cachos de frutos frescos por hectare ao ano. Durante o replantio, cada hectare gera em torno de 80,4 toneladas de biomassa seca ao ano, das quais 66 toneladas, aproximadamente, são de troncos e 14 toneladas de folhas que, apesar das várias possibilidades de destinação da biomassa a partir dos troncos, normalmente eles são deixados sobre o solo para decomposição natural (Murai e Kondo, 2011).

Os troncos descartados possuem grande quantidade de seiva, correspondendo até 70 % do seu peso líquido, a qual é rica em carboidratos destacando-se a sacarose, glicose e frutose, e outros em menores quantidades, contendo também aminoácidos, sais orgânicos, vitaminas e minerais. Logo, este líquido de coloração amarelo claro torna-se uma boa fonte alternativa à produção de açúcar de mesa, adoçantes, bebidas, energéticas, outros produtos açucarados e etanol.

Os carboidratos são fontes primárias de açúcares, sendo considerado um importante componente por promover energia para organismo desempenhar diversas funções vitais. Este macronutriente é encontrado em várias matrizes alimentícias, tanto na forma livre quanto associado a outras macromoléculas, apresentando-se na forma cristalina, solúvel em água, e sabor doce (Palmer e Brandes, 1974; Kamal e Klein, 2011).

Devido a característica natural dos açúcares, fontes que os contenham podem ser explorados comercialmente para a produção de derivados açucarados. O uso de produtos açucarados como os xaropes ricos em açúcares redutores vem crescendo no mercado, um exemplo é o xarope de frutose um açúcar natural, com capacidade adoçante superior à sacarose, mais resistente a contaminação microbiológica, além da vantagem de poder ser estocados sob altas concentrações sem o risco de cristalização.

A clarificação é uma operação importante no processamento de produtos alimentícios como sucos e xaropes, tendo por finalidade a remoção de constituintes considerados impurezas, normalmente, lipídios e sólidos insolúveis, reduzindo a turbidez do produto e consequentemente diminuindo a cor. A clarificação é um dos métodos de otimização das propriedades sensoriais e de aceitabilidade mercadológica (Pacheco-Palencia *et al.,* 2006). Esta operação pode ser realizada utilizando um agente clarificante dentre estes a quitosana, que é o produto da desacetilação da quitina obtida industrialmente a partir das carapaças de crustáceos. O polímero é utilizado como um eficiente agente coagulante e floculante em processo de clarificação de sucos de frutas, bebidas, tratamento de água potável e residuária (Chatterjee *et. al.,* 2004). Além de apresentar uma importante atividade antimicrobiana contra várias cepas bacterianas e fúngicas, devido sua natureza policatiônica (Rabea *et al.,* 2003).

OBJETIVO

Clarificar e concentrar a seiva obtida a partir da prensagem do tronco de palma com a finalidade de elaborar um produto açucarado, xarope rico em açúcares redutores, que possa ser utilizado em diversas aplicações alimentícias.

MÉTODOS

Prensagem do tronco e obtenção da seiva

A palma foi cedida pela empresa Biopalma S/A localizada no município de Moju-PA. Ainda no campo realizou-se o corte do tronco separando a região transversal-central e descartando a fração periférica, em seguida os troncos recém cortados foram transportados, em temperatura ambiente, para o Laboratório de Operações de Separação da Universidade Federal do Pará (LAOS/ITEC/UFPA). A fim de facilitar o processo de extração da seiva promoveu-se a redução do tamanho do tronco em partes menores (cubos de 2 por 2 cm). Posteriormente, foi feita a higienização com solução hipoclorada a 200 ppm para a retirada de sujidades e redução da carga microbiana. Em seguida, os cubos foram embalados a vácuo em sacos de polietileno com capacidade de 1000 gramas e armazenados em freezer comercial a -18 °C até sua utilização. A extração da seiva foi realizada no dia anterior às etapas de clarificação utilizando-se uma prensa hidráulica (SIWA FMB) com capacidade de 1 L e pressão de 15 ton/cm².

Caracterização física e química da seiva *in natura*

A seiva extraída do tronco de palma foi caracterizada conforme as metodologias da AOAC (1997) e outras metodologias oficiais. Foram realizadas as análises de: Umidade, proteínas totais, lipídeos totais, cinzas, carboidratos (por diferença), viscosidade, densidade, acidez total titulável, pH, sólidos solúveis (°Brix), turbidez, açúcares redutores (AR) e açúcares não redutores. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Processo de clarificação da seiva

Para a clarificação utilizou-se como agente clarificante a quitosana comercial produzida pela Polymar Indústria, Comércio, Importação e Exportação Ltda, seguindo a metodologia descrita por Lima (2005) com adaptações na elaboração da solução de quitosana. Os ensaios foram realizados considerando as seguintes variáveis: pH, concentração de quitosana e agitação. Foram aplicadas as seguintes condições: pH da seiva (4,5 e 6,3), concentração de quitosana 100 a 500 mg/L, agitação 0 (sem agitação), 150 e 300 rpm. Todos os experimentos ocorreram durante 120 minutos em temperatura ambiente. Ao final de cada ensaio foi medida a transmitância das amostras.

Obtenção do xarope a partir da seiva clarificada

A seiva clarificada foi concentrada até 65 ºBrix produzindo assim o xarope por dois métodos de concentração: (1) evaporação a vácuo nas condições de pressão negativa de 600 mmHg em temperatura de 70 °C e (2) através do uso de estufa de circulação de ar quente em temperatura de 40 ºC. No sistema 1 foi montando um aparato para evaporação da água presente na seiva com aquecimento da solução em manta aquecedora e emprego de vácuo no condensador. No sistema 2 foi usada uma estufa de circulação ar quente marca Quimis (modelo Q-314) com fluxo de ar paralelo e vazão ajustável por janelas localizadas na entrada e na saída do ar, com a seiva, cerca de 300 mL acondicionada em bandeja de vidro tipo pirex.

RESULTADOS

Características físicas e físico-química da seiva *in natura* e clarificada

Tabela 1. Características físicas e físico-químicas da seiva *in natura*

Parâmetros (g/100g)	Seiva in natura
Umidade	95,25 ± 0,05
Lipídeos	0,38 ± 0,01

Parâmetros (g/100g)	Seiva in natura
Proteínas	0,02 ± 0,11
Cinzas	0,93 ± 0,04
Carboidratos	3,41
Viscosidade (cSt) a 40 ºC	0,98 ± 0,01
Densidade (g/cm³) à 25 ºC	1,02 ±0,01
Acidez titulável total (mgNaOH/g)	4,29 ±0,08
pH	4,76
Sólidos Solúveis (°Brix)	4,60
Turbidez (T %)	20,00
Açúcar Redutor Total (g/L)*	22,17 ±0,27
Sacarose*	16,09

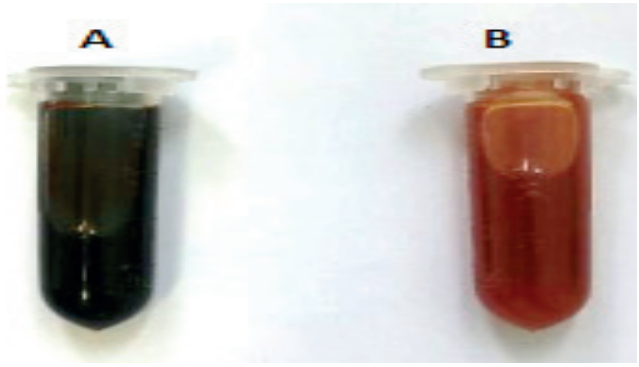
*base seca

Tabela 2. Características físico-química da seiva de clarificada

Parâmetros (g/100g)	Seiva clarificada
Lipídeos	-
Proteínas	-
pH	5,8
Sólidos Solúveis (°Brix)	4,6
Açúcar Redutor Total (g/L)	22,02 ± 0,45
Viscosidade (cSt)	0,88 ± 0,001
Densidade (g/cm3)	1,02 ± 0,03
Turbidez (%)	90,50

Produção de xarope por diferentes sistemas de concentração

Figura 1. Xarope concentrado em sistema 1 (A); Xarope concentrado em sistema 2 (B)



ISCUSSÃO

A Tabela 1 expressa os resultados obtidos através da caracterização físico-química da seiva *in natura* por suas médias e seus respectivos desvios padrão. Os resultados mostram que a seiva tem um elevado teor de água resultados próximos foram descritos por Chooklin *et al.* (2011) e Umerie (2000) que encontraram 97,06 % e 93,33 %, respectivamente. O elevado teor de água (umidade) da seiva esperado por se tratar de uma matéria prima no estado líquido requer etapas posteriores de processamento como tratamento por calor

(pasteurização, esterilização comercial), congelamento, refrigeração entre outros visto ser facilmente contaminada por microrganismos devido sua composição natural (presença de açúcares, minerais, aminoácidos, etc.), bem como por ter uma baixa acidez.

O teor de sólidos solúveis encontrado nesta pesquisa foi de 4,6, valor superior ao encontrado por Chooklin et al. (2011) que foi de 3,4 %, enquanto Gomes (2016) ao estudar a seiva de palma da região do baixo amazonas, no Pará, identificou o teor de sólidos solúveis de 7,13 °Brix. É importante ressaltar que o teor de sólido solúvel está diretamente relacionado a concentração de açúcares presente na seiva.

A seiva de palma apresentou valores desprezíveis de lipídeos, proteínas e cinzas. O valor de carboidrato total encontrado foi de 3,4 g/100g, caracterizando a seiva como fonte de carboidrato. Pela presença de carboidrato encontrada e os baixos valores de outros componentes como lipídeos, proteínas e cinzas, a seiva pode ser uma alternativa para a produção de concentrado açucarado sem a necessidade de outras etapas para retirada destes componentes.

O pH encontrado para seiva *in natura* foi de 4,76. O pH geralmente está relacionado ao parâmetro de qualidade do alimento, no entanto, não existe uma legislação que determina o pH para a seiva *in natura*. Porém, na literatura é possível encontrar uma faixa de pH encontrado por diversos autores como o Jitbunjerdkul (1989) e Lasekan *et al*. (2007) que encontraram pH próximo a 7 para seiva *in natura*, enquanto Umerice (2000) encontrou um pH igual 4,5 para seiva da inflorescência de palma, valor próximo ao encontrado nesta pesquisa, por outro lado, Gomes (2016) encontrou um pH de 3,39. Microrganismos, principalmente bactérias lácticas, produzem ácido orgânicos (ácido láctico) diminuindo o pH do meio. O pH da seiva verificado neste estudo o torna um produto considerado de baixa acidez passível de contaminação por microrganismos, logo o substrato necessita de tratamentos posteriores que retardem o crescimento microbiano.

O valor de turbidez da seiva de palma foi medido em transmitância, quanto mais alta a quantidade de luz que se dispersa, maior é a turbidez.

O valor de açúcar redutor em glicose encontrado nesse trabalho foi abaixo do encontrado por Umerie (2000) de 8,42 g/L para seiva da inflorescência de palma no sul da Tailândia. O teor de AR em glicose na seiva *in natura* é, do ponto de vista tecnológico, um fator importante para a concentração e elaboração do produto final, o xarope. Outros açucares foram quantificados sendo encontrados 22,17 g/L de ART (açúcar redutor total) e 16,09 g/100 g de sacarose com potencial para ser convertido em açucares redutores. O valor de ART foi abaixo do encontrado por Gomes (2016) 39,86 g/L. Vale ressaltar que a quantidade de açúcares encontrados na seiva depende de outros fatores como a idade da palmeira, a parte em que foi extraída, se da inflorescência ou do tronco.

Avaliação das condições de clarificação

Os resultados dos ensaios de clarificação em pH 4,5 mostraram que o processo de agitação continuado permite um comportamento típico de floculação, onde o movimento das partículas já coaguladas unem-se formando uma estrutura maior decantando para fundo do recipiente. Os resultados indicam que para essa condição de pH os melhores ensaios foram para agitação igual 150 rpm apresentando os valores mais altos de transmitância, os quais foram de 48,5 % de transmitância para concentração de quitosana igual a 100 mg/L e 53,4% de transmitância para concentração de quitosana igual a 500 mg/L.

Com relação ao teor de sólidos solúveis totais, observa-se que não houve redução nos testes de clarificação utilizando a quitosana. Lima (2005) encontrou para seus experimentos uma variação negativa, uma vez que houve, em todos os testes, redução no teor de sólidos solúveis após a clarificação, sendo esse fato devido à formação de flocos entre as impurezas e o polímero, com arraste de parte das matérias solúveis do caldo de cana.

Os ensaios para a seiva com o pH 6,3 mostraram resultados de transmitância mais elevados se comparados com os ensaios da seiva com pH 4,5. As maiores transmitâncias foram de 66,2 %, 65,9 % e 66,75 % nas concentrações em 200, 300 e 400 mg/L, respectivamente, sendo todas, também, para a agitação de 150 rpm.

Os resultados das características da seiva clarificada são apresentados na Tabela 2. Para as análises foi selecionada a seiva clarificada nas seguintes condições: concentração 400 mg/L, 150 rpm e pH 6,3, sendo posteriormente centrifugada a 3000 rpm por 5 minutos.

Os resultados de lipídeos e proteínas sugerem que essas substâncias se tornaram não quantificáveis após a clarificação. A quitosana por possuir características policatiônica liga-se facilmente a ácidos graxos e aminoácidos carregados negativamente, complexando essas substâncias. Teles (1997) observou um decréscimo de aproximadamente 90% no teor de lipídios do açaí clarificado em relação ao açaí bruto.

No que se refere ao pH, observa-se que os valores são diferentes para a seiva *in natura* e seiva clarificada. Um maior pH foi encontrado na seiva clarificada, uma vez que houve a adição de NaOH nas concentrações de 40 % e 0,1 M para melhor atuação do agente clarificante. Lima (2005) determinou como faixa de atuação da quitosana o pH entre 4,0 – 7,0, desse modo precisava realizar a correção do pH para etapa de clarificação, já que a quitosana tem sua maior eficácia no pH próximo ao neutro. Os resultados que demostram a redução do pH de 6,3 para 5,8 depois da adição da solução de quitosana é explicado pelo fato do polímero ter sido diluído em ácido acético a 10 % durante a preparação da solução. Lim e Hudson (2004) indicam a sua solubilização em ácidos orgânicos (como o ácido acético, o fórmico, o cítrico). A relação de sólido solúvel como já mencionado permaneceu constante durante clarificação.

Para as análises físicas de viscosidade e densidade ocorreu uma pequena variação após o processo de clarificação, ação da quitosana para redução da viscosidade que também é relatada por outros autores.

O resultado de 90,5 % de turbidez na seiva clarificada mostra que o agente clarificante foi suficiente e satisfatório para a remoção das partículas em suspensão. Lima (2005) observou uma redução de 97,6 % de turbidez nas condições ótimas do seu experimento, com o pH igual a 6 e sobre temperatura de aquecimento.

O teor de sólidos solúveis foi ajustado até 65 ºBrix para os dois processos de concentração, seguindo o que foi feito por Naknean *et al.* (2015) para também produzir o xarope de palma. O padrão de sólidos solúveis totais em xarope de seiva de palma não deve ser inferior a 65 ºBrix, conforme departamento de Agricultura da Tailândia (2003) e o instituto de agricultura americana (1980) que padronizaram o xarope Palmyra palm e xarope de bordo respectivamente, para evitar o crescimento de microrganismos durante o armazenamento a temperatura ambiente. Os xaropes de glicose comerciais são concentrados até cerca de 80 ºBrix, xarope de mandiocaba atingem 76,8 e 74,6 ºBrix, em evaporadores de tacho aberto e à vácuo, respectivamente (Maffra e Oliveira, 2008).

O processo de evaporação no sistema 1 não foi eficiente nesse trabalho com o propósito de produzir o xarope clarificado como pode ser visto na Figura 1A. Um fator que explica a intensidade da cor escura é a temperatura mais elevada do evaporador à vácuo em relação a estufa. Temperaturas acima dos 70 ºC promove o processo de caramelização, e já que as proteínas foram removidas na etapa de clarificação, a reação de Maillard não pode ser usada para justificar a cor escura no xarope (Billaud, 2004). Já a seiva produzida no sistema 2 como visto na Figura 1B, apresentou coloração satisfatória para um xarope, sem qualquer evidência de queima. Industrialmente, a etapa de concentração de produtos açucarados ocorre em evaporadores à vácuo, o que permite a evaporação da água a temperaturas inferiores a 100 ºC (Marafante, 1993).

CONCLUSÃO / CONSIDERAÇÕES FINAIS

As característica físico-químicas encontradas na seiva *in natura* permitem que a matéria prima seja concentrada para a produção de xarope. A concentração de quitosana e a intensidade de agitação tem influência para redução da turbidez da seiva, favorecendo a clarificação. As condições observadas para a clarificação da seiva permitiram que a mesma fosse clarificada a níveis superiores a 90 % de transmitância. Na produção do xarope de seiva o sistema usando a evaporação em estufa de recirculação de ar foi observado como o melhor sistema de concentração.

REFERÊNCIAS

1. A.O.A.C. **Association of official analytical chemists. Official methods of analysis**. 16. ed., 3.rev., Washington, 1997.

2. Billaud, C., Maraschin, C. **Inhibition of polyphenoloxidase from apple by Maillard reaction products prepared from glucose or fructose with L-cysteine under various conditions of pH and temperature**. Lebensmittle-Wissenschaft und Technologie, 2004.

3. Chatterjee S. et. al. **Clarification of fruit juice with chitosan**. Process Biochemistry. v.39 p.29–32, 2004.

4. Chooklin, S.; Kaewsichan, L.; Kaewsrichan. **Potential utilization of sap from oil palm (*Elaeis guineensis*) for lactic acid production by *Lactobacillus casei***. Journal of sustainable energy & environment, 2011.

5. Furlan Júnior, José, **Dendê: manejo e uso dos subprodutos e dos resíduos**, Embrapa Amazônia Oriental, 1st edn (Belém: Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 246, 2006).

6. Gomes, L. F. A., **Caracterização e otimização da pasteurização da seiva do dendezeiro (*Elaeis guineenses*)**. Dissertação de Mestrado – UFPA, Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em ciência e Tecnologia de Alimentos, Belém, 2016.

7. Jitbunjerdkul, S. **Effect of antimicrobial agents on the quality of palm sugar products**. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 1989.

8. Kamal, M. A.; Klein, P. **Determination of sugars in honey by liquid chromatography**. Saudi Journal of Biological Sciences. v.18, p.17-21, 2011.

9. Lasekan, O., Buettner, A. and Christlbaure, M. **Investigation of important odorant of palm wine (*Elaeis guineensis*)**. Food Chemistry, 2007.

10. Lim S.H., Hudson S.M, **Carbohydr Research**, 2004.

11. Lima, E.C.C.B. **Utilização de quitosana no processo de clarificação do caldo de cana para fabricação de açúcar do tipo mascavo**. Dissertação de mestrado, UFV, 2005.

12. Maffra, A. C. C.; Oliveira, M. S. F. **Mandiocaba: caracterização física, físico-química e obtenção de concentrado açucarado**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) Universidade Federal do Pará, 2008.

13. Marafante, L. J. **Tecnologia da fabricação do álcool e do açúcar**. São Paulo: Ícone, 1993.

14. Murai, K., Kondo, R. **Extractable sugar contents of trunk from fruiting and nonfruiting oil palms of different ages**. J Wood Sci. 2011, 57, 140-148.

15. Pacheco-Palencia L.; Hawken, P.; Talcott, S.T. **Phytochemical, antioxidante and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage**. Food Research International. IN PRESS, 2006.

16. Palmer, J. K., Brandes, W. B. **Determination of sucrose, glucose, and fructose by liquid chromatography**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.22, n.4, 1974.

17. Rabea E.I. et al. **Chitosan as Antimicrobial Agent: Applications and Mode of Action. Bio macromolecules**, v4. n.6 p. 1457-1465, 2003.

18. Teles, K. H. **Obtenção do suco clarificado e concentrado de acerola (*Malpighia glabra* L.)**. Dissertação de Mestrado. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 1997.

19. Umerie, S. C. **Caramel production from saps of American oil palm (*Elaeis guineensis*) and wine palm (*Raphia hookeri*) trees**. Bioresource Technology, 2000.

20

Obtênção e determinação dos parâmetros físico-químicos do óleo da amêndoa de inajá (*Maximilianamaripa* (*Aubl.*) *Drude*).

- Brendo Luiz das Mercês Pinho **Ataide**
  UEPA
- Elton Ferreira **Vinagre**
  UEPA
- Maricely Janette Uría **Toro**
  UEPA

10.37885/201102221

RESUMO

O inajazeiro é uma palmeira da família Arecaceae (Palmae) encontrada em toda a Amazônia tanto brasileira como dos demais países vizinhos, tendo sua maior incidência no Estado do Pará e no estuário do Rio Amazonas, chegando até o Maranhão. O objetivo do trabalho foi a extração e caracterização físico-química do óleo da amêndoa de inajá. As analises físico-químicas realizadas no de óleo vegetal de inajá, foram: Índice de acidez (I.A), Índice de peróxido (I.P), Índice de refração (I.R), Índice de Saponificação, Índice de esterificação, determinação de densidade e índice de iodo segundo as normas do Instituto Adolf Lutz (2008). As determinações foram realizadas em triplicatas. Os resultados encontrados foram, respectivamente de 3,29 ±0,12 mg KOH/g; 0,33±0 meq/kg; 1,4565±0; 223,056mg KOH/g; 219,716mg KOH/g; 966,3±1,41 kg/m3 e 14,5073±0,27 de I2/100g. Deste modo, conclui-se que o óleo extraído possui características físico-químicas adequadas para ser utilizado na substituição de outros óleos comercializados.

Palavras-chave: Caracterização Físico-Química, Inajá (*Maximilianamaripa (Aubl.) Drude*),Óleo Vegetal de Inajá.

INTRODUÇÃO

O inajazeiro ou inajá é uma palmeira nativa do brasil que pode ser encontrado na Amazônia e nos países próximos como Peru, Bolívia, Venezuela, entre outros. A concentração dessa palmeira é frequente no Estado do Pará e no estuário do Rio Amazonas, estendendo-se até o Maranhão. (Cavalcante, 1991).

A semente do inajá é bastante diversificada, ela pode ser espalhada pela fauna onde abrange animais de diferentes espécies como “cutia, anta, cateto, veados de rabo branco e mateiro, catinguelê, macaco-prego, arara-azul” e outros (Duarte, 2008). Este mesmo autor afirma que é possível aproveitar a semente, assim como a polpa, para produzir óleo.

Na indústria, a capacidade do inajazeiro está na fabricação do óleo comestível extraído da amêndoa do fruto (MIRANDA et al., 2001). Alguns óleos têm diferentes características que podem variar desde de sua qualidade e cor, por exemplo, o óleo de palma e palmiste tem propriedade, cor e qualidade parecidas já o óleo da polpa e da amêndoa não, sendo muito distintas (MOTA e FRANÇA, 2008).

Os óleos vegetais possuem grande valor nutricional e por isso são consumidos mundialmente, eles são fontes de energia e tem ácidos graxos importantes, mais também, vale ressaltar que os mesmos influenciam e são encarregados pelo sabor textura de alimentos, podendo até usados no lugar da gordura animal e a diversidade de espécies vegetais auxilia para que esse óleo seja encontrado mais facilmente (IQBAL; BHANGER, 2007). Ettinger (2013) corrobora com a relevância desse óleo e acrescenta que é possível encontrar substâncias bioativas, como por exemplo, tocoferóis, fitosteróis, compostos fenólicos e carotenoides.

Esses conceitos são importantes para estabelecer um comparativo com o óleo estudado e entender onde o inajá tem seu destaque. Assim como o óleo anterior, o inajá tem ácidos graxos com o teor nutricional em destaque considerando seu fruto e quando analisado percebe-se que em quantidades distintas os ácidos como ômegas 3 (ácido linolênico), 6 (ácido linoleico) e 9 (ácido oleico) se fazem presente (EMBRAPA, 2011). Por essa razão, o inajá não é apenas considerado uma boa fonte de alimentos, mais também, é um produto com capacidade de fornecer biodiesel e assim provando seu potencial como insumo (FERREIRA, 2005).

Os métodos de extração do óleo podem variar e para que o resultado seja satisfatório, é necessário escolher o método mais adequado. Os procedimentos utilizados como de prensagem ou extração por solvente tem diferentes resultados quando opta pelo método quente que não é eficaz em termos de manter as características do óleo como o artifício usado a frio. Destaca-se que a prensagem é favorita na escolha dos métodos a ser utilizado, sendo está valorosa no processo de descontaminação, se o mesmo for necessário, além disso, este processo tem carência dos solventes orgânicos (IXTAINA et al., 2011).

Diante do que foi exposto, o presente trabalho visou realizar análise físico-química do óleo da amêndoa de inajá, por meio de uma extração que proporcionará o óleo com capacidade de se tornar valoroso para a indústria. Isso com o intuito de descobrir através da pesquisa se as amostras analisadas podem ser comercializadas.

OBJETIVO

- Complementar dados e referências disponíveis
- Extrair óleo da semente de inajá
- Realizar a caracterização físico-química do óleo da castanha de inajá
- Analisar viabilidade da comercialização do óleo de inajá

MÉTODOS

Os frutos do inajá foram adquiridos no município de Cametá-PA, levados para os laboratórios de Alimentos e de Química da Universidade do Estado do Pará, campus V-Belém. Os frutos foram selecionados, higienizados e posteriormente despolpados, obtendo-se assim a castanha, que será usada no estudo, e a polpa que seguiu para realização de outro trabalho.

A obtenção do óleo da amêndoa do inajá, foi feita a partir da prensagem mecânica, onde primeiramente fez-se a retirada da casca e em seguida a massa foi levada para estufa com circulação de ar, para aquecer a amostra e assim facilitar a extração. Após a extração, o óleo foi levado a centrifuga para decantação de impurezas em suspenção.

As analises físico-químicas realizadas na amostra de óleo vegetal de inajá, os índices foram: Índice de acidez (I.A), Índice de peróxido (I.P), Índice de refração (I.R), Índice de Saponificação, Índice de esterificação e determinação de densidade segundo as normas do Instituto Adolf Lutz (2008). As determinações foram realizadas em triplicatas.

Índice de acidez

Segundo Lutz, 2008 as condições conservação de todos os óleos podem ser de observadas a partir do cálculo dos índices de acidez, sendo estes de significante importância. A concentração dos íons de hidrogênio é na maioria das vezes alterada, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação que iram provocar uma ação de decomposição. Quando o óleo é exposto a luz e elevada temperatura causa sua rancidez, devido a degeneração dos glicerídeos e geralmente liberando ácidos graxos livres. Esses são habitualmente demostrados em termo de índice de acidez, assim como em ml de solução normal por cento ou até

mesmo em grama do componente ácido principal, normalmente o ácido oleico. Tratando-se dos regulamentos técnicos, estes normalmente utilizam esta última forma de expressar a acidez (LUTZ, 2008).

O índice de acidez é definido como o número de mg de hidróxido de potássio necessário para neutralizar um grama da amostra. O método é aplicável a óleos brutos e refinados, vegetais e animais, e gorduras animais. Os métodos que avaliam a acidez titulável resumem-se em titular, com soluções de álcali-padrão, a acidez do produto ou soluções aquosas/alcoólicas do produto, assim como os ácidos graxos obtidos dos lipídios. A análise foi feita através de titulação com NaOH 0,01N.

Os resultados para todas as análises realizadas para o óleo de inajá foram expressos em ácido oleico e acidez normal baseadas nas normas do Instituto Adolf Lutz (2008). Utilizando-se as formulas:

$$\frac{V \times f \times M \times 28{,}2}{P} = acidez\ em\ ácido\ oléioco, por\ cento, m/m \quad (1)$$

$$\frac{V \times f \times 5{,}61}{P} = indice\ de\ acidez \quad (2)$$

Índice de peróxido

Essa metodologia define todas as substâncias, em miliequivalentes de peróxido por 1000 g de amostra, que provocam a oxidação do iodeto de potássio nas condições do teste. Estes produtos advindos da oxidação da gordura são considerados, na maioria das vezes, peróxidos. Esse método pode ser usado para qualquer óleo e gorduras normais, até mesmo margarina e creme vegetal, entretanto é sensível e, dessa forma, mudanças no procedimento do teste pode alterar o resultado da análise (LUTZ, 2008). A análise foi feita por titulação com tiossulfato de sódio 0,01N, onde a amostra foi diluída com ácido acético/clorofórmio 3:2, adicionada solução concentrada de IK e deixada ao abrigo da luz por pelo menos duas horas conforme Adolf Lutz, 2008. Com o volume gasto encontrado utilizou-se a formula:

$$\frac{(A-B) \times N \times f \times 1000}{P} = índice\ de\ peróxido\ em\ meq\ por\ 1000g\ da\ amostra \quad (3)$$

A = nº de mL da solução de tiossulfato de sódio 0,001 N gasto na titulação da amostra

B = nº de mL da solução de tiossulfato de sódio 0,001 N gasto na titulação do branco

N = normalidade da solução de tiossulfato de sódio

f = fator da solução de tiossulfato de sódio.

P = nº de g da amostra

Índice de saponificação

O índice de saponificação é a quantidade de álcali necessário para saponificar uma quantidade definida de amostra. Este método é aplicável a todos os óleos e gorduras e expressa o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para saponificar um grama de amostra (Lutz, 2008). A análise foi realizada através de titulação com HCl 0,5N da amostra, após esta junto com solução alcoólica de KOH passarem aproximadamente uma hora no condensador para a completa saponificação da matéria. A formula utilizada foi:

$$\frac{28{,}05 \times f \times (A-B)}{P} = \text{Índice de Saponificação} \quad (4)$$

Determinação da densidade relativa

Todos os óleos e gorduras líquidas podem ter a densidade encontrada desta maneira. Os alimentos em estado líquido são os mais comuns de se realizar a determinação de densidade. Os picnômetros e densímetros convencionais e digitais são alguns dos equipamentos mais utilizados para medir a densidade. Os picnômetros são projetados e graduados permitindo que apresente resultados exatos, admitindo a pesagem de volumes precisamente iguais de líquidos, a determinada temperatura. Este método determina a razão da massa da amostra com relação à da água por unidade de volume a 25°C (LUTZ, 2008). Utilizou-se para o cálculo um picnômetro de 10ml a uma temperatura de 25°C, usa-se a formula:

$$\frac{A-B}{C} = \text{densidade relativa } \left(\frac{25}{25}\right)°C \quad (5)$$

A = massa do recipiente contendo óleo

B = massa do recipiente vazio

C = massa da água à temperatura de 25ºC

Índice de refração

O índice de refração tem grande importância pois pode ser usado como forma de identificação de uma substância, sendo que em solução pura seu índice é constante, mantidas as condições de temperatura e pressão. Quando falamos dessa analise em alimentos, não são substâncias puras no exato sentido, porém em situações de óleos, gorduras, óleos essenciais, a modificação do seu índice de refração é ínfima, por isso pode ser usado para uma avaliação do produto (LUTZ, 2008).

A medida do índice de refração pode ser feita diretamente em aparelhos como: refratômetro de Abbé ou refratômetro de imersão que possuem pequeno intervalo de leitura, mas grande precisão. Esses equipamentos devem ser calibrados conforme indicação do

fabricante. O índice de refração foi lido através do refratômetro de Abbé a 20ºC calibrado anteriormente com água destilada.

Índice de éster

O índice de éster foi determinado pela diferença do índice de saponificação e do índice de acidez, pela seguinte formula abaixo:

$$I.E = I.S - I.A \quad (6)$$

I.E: Índice de Éster

I.A: Índice de acidez

I.S: Índice de saponificação

Índice de iodo

"O índice de iodo de um óleo ou gordura é a medida do seu grau de insaturação. Na prática ele é determinado pela quantidade de halogênio absorvido e, convencionalmente, é expresso com o peso do iodo absorvido por 100 g da amostra" (LUTZ, 1976). Segundo o mesmo autor, o intervalo do índice de iodo encontrado é específico para cada tipo de óleo, assim este valor tem relação direta com o método aplicado na sua determinação. Para esta análise foi empregado o método de Hubl. A formula utilizada foi:

$$\frac{V \times f \times 1{,}27}{P} = Índice\ de\ iodo\ (Hubl) \quad (7)$$

V = diferença entre os números de ml de solução de tiossulfato de sódio 0,1 N gastos nas titulações

F = fator da solução de tiossulfato de sódio 0,1 N

P = n° de g da amostra

$$\frac{V \times f \times M \times 28{,}2}{P} = acidez\ em\ ácido\ oléioco, por\ cento, m/m \quad (1)$$

$$\frac{V \times f \times 5{,}61}{P} = indice\ de\ acidez \quad (2)$$

RESULTADOS

Tabela 1. Características físico-químicas.

Analise	I.A (% Ac.oléico)	I.A(mg KOH/g)	I.P (meq\ Kg)	I.R 20°C	Índice de Saponificação (mg KOH/g)	Índice de esterificação (mg KOH/g)	Densidade (kg/m3)	Índice de iodo g/100g
Média	1,65±0,07	3,29±0,12	0,33±0	1,45±0	223,056	219,716	996,3± 1,41	14,50± 0,27

DISCUSSÃO

Segundo a legislação colocada pela ANVISA os óleos prensados a frio e não refinados devem conter no máximo 15 meq/kg de peróxidos, desta forma, os índices de peróxidos achados no óleo da amêndoa de inajá (tabela 1) encontram-se dentro dos padrões estabelecidos. Em trabalho realizado por Singh 2015, foram encontrados valores mais elevados de 0,75 ± 0,01meq/kg para o óleo da amêndoa de inajá derivados da região amazônica, adquiridos no mercado Ver-o-Peso, localizado na cidade de Belém – PA, em diferentes períodos durante as safras de 2011/2013.

Normalmente faz-se a determinação do índice de peróxidos e dos dienos conjugados, resultantes inicias da oxidação, a fim de identificar a qualidade oxidativa do óleo. Porém a falta de confiabilidade oxidativa do óleo não será vista somente por se ter um baixo nível de peróxidos, pois estas substâncias são degradadas no decorrer do processo oxidativo. O que se relaciona com a produção de dienos conjugados é a oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados do óleo, produzidos pela movimentação de duplas ligações (SILVA, 1999).

Para a acidez de óleos prensados a frio e não refinados, o máximo permitido é de 4,0 mg KOH/g. Comparando-se com os valores calculados neste trabalho, percebe-se que o óleo de inajá está dentro dos níveis permitidos.

Segundo Resolução RDC nº 270 da ANVISA (BRASIL, 2005), que admite o máximo de 2% de acidez em ácido oleico para a maioria dos óleos vegetais brutos, como o óleo de soja, de girassol e de canola. A mesma resolução citada acima permite uma acidez máxima de 5% para o óleo ou gordura de coco bruto (BRASIL, 2005). Com relação a acidez expressa em ácido oleico, o óleo de inajá está dentro dos padrões estabelecidos pela legislação.

“Este índice revela o estado de conservação do óleo, visto que a decomposição dos triglicerídeos é acelerada pelo aquecimento e pela luz, logo a rancidez é quase sempre acompanhada pela formação de ácido graxo livre” (LUTZ, 2008; THODED FILHO et al., 2014). Igualmente está ligada com a qualidade de armazenamento, eficiência do método de extração e nas enzimas que já possui, aptas para catalisar a hidrólise dos triglicerídeos (BERTON et al., 2012).

De acordo com a resolução RDC nº 270 da ANVISA (BRASIL, 2005), o índice de saponificação da maioria dos óleos vegetais consumidos no Brasil varia entre 181 e 265 mg KOH/g. Dessa forma, a amostra de óleo encontrou-se dentro desse intervalo padrão. O valor encontrado foi de 223,056 mg KOH/g, sendo próximo ao obtido por Singh 2015 que calculou valores para o óleo da amêndoa de inajá de 231,06 ± 0,07mg KOH/g.

O índice de saponificação é importante para demonstrar a presença de óleos e gorduras de alta proporção de ácidos graxos, de baixo peso molecular, em misturas com outros óleos e gorduras. Quanto menor o peso molecular do ácido graxo, tanto maior será o índice de saponificação, grosseiramente; para as gorduras vegetais, quanto mais altos os índices de saponificação, mais se prestam para fins alimentares (MORETTO e FETT, 1998).

O índice de éster encontrado foi de mg KOH/g, ficando acima dos de valores encontrados por Silva, 2014 em análise de óleos de pequi. Este índice demostra a quantidade aproximada de triacilglicerideos.

Para densidade o valor encontrado para a amostra de óleo de inajá foi de 967,3kg/m3. Em análises feitas por Conceição, 2010 foram encontrados valores de 943,8kg/m3para o óleo de inajá. Na indústria de alimentos tem grande importância pois mostra o grau de insaturação do óleo. “Para os triglicerídeos, quanto menor for seu peso molecular mais alto será o seu grau de insaturação; de vez que as forças de atração entre as moléculas determinam à densidade e outras propriedades físicas, como a viscosidade” (RIBEIRO e SERAVALLI, 2004).

Os valores obtidos por Coimbra, M. C. e Jorge, N. 2011 para o índice de refração do óleo da amêndoa de macaúba foi de 1,4483. Já Singh 2015 encontrou para o óleo da semente do inajá 1,4498 ± 0, ambos próximos aos encontrados nesta pesquisa para amêndoa de inajá de 1,4565±0 respectivamente. Índice de refração de óleos e as gorduras apresentam capacidades de refringência divergentes e, de acordo com sua espécie desviam, com maior ou menor intensidade, os feixes luz que os transpõem; assim, quanto maior for o tamanho da cadeia hidrocarbonatada o nível de insaturação dos ácidos graxos constituintes dos triglicerídeos maior será o índice de refração de uma gordura (MORETTO e FETT, 1998).

Segundo o comitê do Codex Alimentarium Comission (2009), o óleo ou gordura de palma apresenta índice de iodo no intervalo 50-55 g I2/100 g e o óleo ou gordura de palmiste entre 14,1-21,0 g I2/100 g. O presente trabalho demostrou valores de14,5073±0,27, mais próximos ao intervalo do óleo de palmiste, sendo valor semelhante ao encontrado por Singh 2015 de 17,68 ± 0,02.

CONCLUSÃO

Tomando como base os resultados adquiridos na pesquisa, podemos concluir que o óleo extraído da amêndoa de inajá possui viabilidade na substituição de óleos como o de soja e palmiste, devido a semelhança de suas características, como também na indústria de cosméticos, pois apresenta um odor característico muito agradável, ressaltando ainda seu excelente rendimento no que tange a amêndoa em si.

REFERÊNCIAS

1. BRASIL, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Regulamento técnico para óleos e gorduras vegetais, Consulta Pública nº 85, de 13 de dezembro de 2004**. Encontrado em <http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B8994-1-0%5D.pdf> aceso dia 29 de maio de 2018.

2. BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC n°. 270, de 22 de setembro de 2005. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005**. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. Brasília, 2005. Encontrado em <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0270_22_09_2005.html> aceso dia 29 de maio de 2018.

3. BEZERRA, V. S. O Inajá (Maximiliana maripa (Aubl.) Drude) como fonte alimentar e oleaginosa. **Embrapa Amapá-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2011. Encontrado em <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/917016/o-inaja-maximiliana-maripa-aubl-drude-como-fonte-alimentar-e-oleaginosa> aceso dia 29 de maio de 2018.

4. BEZERRA, Valéria Saldanha. Aspectos do estado da arte, da produção e pesquisa com a palmeira murumuru (Astrocaryum murumuru Mart.). In: **Embrapa Amapá-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 5.; CLÍNICA TECNOLÓGICA EM BIODIESEL, 2., 2008, Lavras. Biodiesel: tecnologia limpa: anais completos. Lavras: UFLA, 2008. Encontrado em <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/352820> aceso dia 29 de maio de 2018.

5. CAVALCANTE, P.B. Frutas comestíveis da Amazônia. 5 ed. Belém: Edições CEJUP, 1991: CNPq: Museu Paraense Emílio Goeldi, 1991, 279p. Encontrado em <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=387206&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22CAVALCANTE,%20P.%20B.%22&qFacets=autoria:%22CAVALCANTE,%20P.%20B.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1> aceso dia 29 de maio de 2018.

6. COIMBRA, Michelle Cardoso; JORGE, Neuza. Characterization of the pulp and kernel oils from Syagrus oleracea, Syagrus romanzoffiana, and Acrocomia aculeata. **Journal of food science**, v. 76, n. 8, p. C1156-C1161, 2011. Encontrado em <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/21880> aceso dia 29 de maio de 2018.

7. CONCEIÇÃO, Relem Cativo da et al. Craqueamento catalítico dos óleos de inajá e maracujá para a obtenção de biocombustíveis. 2010. Encontrado em <https://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/3319/1/Dissertacao%20-%20Relem%20Cativo%20da%20Conceicao.pdf> aceso dia 29 de maio de 2018.

8. COSTA-SINGH, Tainara. **Avaliação dos parâmetros físico-químicos e estabilidade de compostos bioativos em óleos de polpa e amêndoa de frutos amazônicos**. 2015. Encontrado em <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/127931> aceso dia 29 de maio de 2018.

9. FERREIRA, E. de S. et al. **Caracterização física do fruto, análise físico-química do óleo extraído do mesocarpo do tucumã (Astrocaryumvulgare Mart.) e inajá (Maximiliana regia Aubl.).** In: Congresso brasileiro de plantas oleaginosas, óleos, gorduras e biodiesel, 2. 2005, Varginha. Anais ... Lavras: UFLA, 2005. p.497-500. Encontrado em <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/652/548> aceso dia 29 de maio de 2018.

10. ETTINGER, S. Macronutrientes: carboidratos, proteínas e lípideos. **Mahan KL, Escott-Stump S, organizadores. Krause: Alimentos, nutrição & dietoterapia. 10ª ed. São Paulo: Roca**, p. 31-63, 2002.

11. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4ª ed. (1ª Edição digital), 2008. 1020 p.

12. IQBAL, Shahid; BHANGER, M. I. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. **Food Chemistry**, v. 100, n. 1, p. 246-254, 2007. Encontrado em <https://europepmc.org/article/agr/ind43850314> acesso dia 28 de maio de 2018.

13. IXTAINA, Vanesa Y. et al. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 2, p. 166-174, 2011. Encontrado em <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.08.006> acesso dia 28 de maio de 2018.

14. MORETTO, Eliane. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. Varela, 1998. Encontrado em <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=273861&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22FETT,%20R.%22&qFacets=autoria:%22FETT,%20R.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1> acesso dia 28 de maio de 2018.

15. MIRANDA, I. P. A. et al. Frutos de palmeiras da Amazônia. 120p. **Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).** Manaus, 2001. Disponível em: <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=346671&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22BARBOSA,%20E.M.%22&qFacets=autoria:%22BARBOSA,%20E.M.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1 28 de maio de 2018

16. MOTA, Rafael Vitti; FRANÇA, LF de. Estudo das características da Ucuuba (Virola surinamensis) e do Inajá (Maximiliana regia) com vistas à produção de biodiesel. **Revista Científica da UFPA**, v. 6, n. 1, p. 1-9, 2007. Disponível em: <http://www.cultura.ufpa.br/rcientifica/artigos_cientificos/ed_08/pdf/ rafael_vitti.pdf>28 de maio de 2018

17. SILVA, Francisco AM; BORGES, M. Fernanda M.; FERREIRA, Margarida A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

18. SILVA, T. C. Utilização do óleo de pequi como coletor na microflotação de apatita [thesis]. **Catalão: Universidade Federal de Goiás**, 2014. Encontrado em <file:///C:/Users/stefane/Downloads/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20%20Tatiane%20Carvalho%20Silva%20-%202014%20-%20(3).pdf >> aceso dia 29 de maio de 2018.

19. RIBEIRO, E. P., SERAVALLI, E. A. G. Química de alimentos. São Paulo: Edgard Blücler, Instituto Mauá de Tecnologia, 2004. 184 p.

21

Óleos essenciais de plantas medicinais associados a biofilmes para proteção de frutos de mamoeiro

- Eduardo Oliveira **Guilherme**
  UFT
- Priscila Fonseca **Costa**
  UFT
- Dalmarcia de Souza Carlos **Mourão**
  UFT
- Pedro Raymundo Argüelles **Osorio**
  UFT
- Talita Pereira de Souza **Ferreira**
  UFT
- Gabriella Rayssa Antunes da Silva **Oliveira**
  UFT
- Gil Rodrigues **Santos**
  UFT

doi 10.37885/201102278

RESUMO

O fruto de mamão (*Carica papaya* L) pode perder rapidamente a sua qualidade em razão de ser climatérico e de ter elevados teores de umidade e taxas respiratórias favorecendo a sua rápida degradação. Estudos avaliando o uso de produtos são importantes, pois além de aumentar a maior conservação, proteção e qualidade de frutos também são de baixo custo e não deixam resíduos tóxicos nos alimentos em pós-colheita. Este trabalho teve por objetivo associar a utilização de biofilmes aos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Morinda citrifolia* e seus respectivos constituintes majoritários em componentes de qualidade em pós colheita. Entre as avaliações realizadas, foram feitas analises cromatográficas dos óleos essenciais, efeito dos tratamentos na redução de massa dos frutos, sólidos solúveis totais, coloração da casca e firmeza do fruto. Para adequação e viabilidade das concentrações a serem utilizadas nos tratamentos dos frutos com óleos essenciais foi realizado inicialmente o teste de fitotoxicidade. O principal constituinte encontrado no óleo essencial de *M. citrifolia* (Noni) foi o ácido octanóico, enquanto para o óleo essencial de *L. sidoides* (Lippia), foi o timol. A concentração de 3% dos óleos essenciais de Noni e Lippia foi a máxima a atingir um nível aceitável de fitotoxicidade sobre a casca de frutos de mamão. Tratamento dos frutos com as misturas de Parafina + *L. sidoides* e Parafina + *M. citrifolia* tiveram a menor redução de massa da polpa. Para a variável de sólidos solúveis totais os tratamentos não tiveram diferença significativa. Melhor resultado para a firmeza foi para o revestimento com óleo de girassol + noni. O óleo de girassol + noni e óleo de girassol + ácido octanóico foram os tratamentos que mantiveram a cor amarela normal dos frutos por maior período de tempo.

Palavras-chave: *Carica Papaya* L,, pós-Colheita, Qualidade de Frutos.

INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma espécie pertencente à família Caricaceae de origem tropical, muito apreciada no Brasil. O país é o segundo maior produtor mundial de mamão segundo Anuário Brasileiro de Fruticultura de 2017, sendo considerado o terceiro maior produtor mundial de frutas (FAO, 2018). Dentre os estados de maior produção a Bahia e Espirito Santo, juntos respondem por 64,32% da produção brasileira (IBGE, 2017).

Contudo, é conhecido que o mamão apresenta vida de prateleira, em pós-colheita relativamente curta, ocorrendo perdas próximas à 40%, dependendo das condições de armazenamento. Outros fatores que ocorrem em condições de pré e pós-colheita também podem reduzir ou acelerar o metabolismo dos frutos, proporcionando perdas quantitativas e qualitativas nas diferentes fases da comercialização (Zamperlini et al., 2007). Frutos tropicais normalmente apresentam elevado teor de umidade, polpa com textura macia facilmente danificável e altas taxas respiratórias. Essas características aliadas às embalagens que podem gerar calor, além da falta de tratamentos auxiliares, como o uso de reguladores vegetais que retardam os processos relacionados à maturação podem representar a rápida senescência dos frutos (Chitarra e Chitarra, 2005; Godoy et al., 2010). Segundo Vila (2004), durante a maturação ocorrem processos de degradação e síntese de pigmentos, conversão do amido em açúcares, redução da firmeza, degradação de pectinas e alteração na atividade enzimática.

Considerando estes fatores, têm sido empregados diversos métodos que podem auxiliar no prolongamento da vida útil pós-colheita de frutos, como refrigeração e uso de atmosfera modificada, utilização de filmes plásticos ou soluções com ceras que recobrem os frutos restringindo as trocas gasosas e a perda de água para o ambiente (Zambolim et al., 2002; Ali et al., 2011. Também, tem-se aumentado a procura de própolis na forma de revestimento para conservação pós-colheita de frutos (Ali et al., 2013; Zahid et al., 2013).

Entre outros métodos de conservação a armazenagem frigorificada tem reduzida eficiência, dado aos problemas com injúria por frio (Fagundes et al., 2006), o uso da atmosfera controlada (Vidrih et al., 1990), tem um custo de implantação muito elevado.

A inclusão de óleos essenciais (OEs) a diferentes biofilmes torna-se uma alternativa no desenvolvimento de filmes ativos na proteção dos frutos, proporcionando também ação antimicrobiana e antioxidante. De acordo com a literatura consultada, não há trabalhos realizados procurando associar biofilmes ao óleo essencial de noni e lippia com seus constituintes majoritários (ácido octanóico e Timol, respectivamente) e os seus efeitos sobre as qualidades de conservação de frutos tropicais.

Nesse sentido, a importância do desenvolvimento de novas alternativas de preservação de alimentos, de baixo custo e fácil obtenção, que prolonguem a vida de prateleira e apresentação do produto. Assim, o presente trabalho, teve por objetivo avaliar o uso de

revestimento comestível à base de óleos essenciais associados a diferentes biofilmes, sobre a qualidade e conservação de frutos de mamão.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos óleos essenciais

Frutos maduros de noni (*Morinda citrifolia* L.) e folhas de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) foram colhidos na região de Gurupi, município do Estado do Tocantins. Os frutos maduros de noni foram lavados e cortados em pequenos pedaços e as folhas de lippia, desidratadas à temperatura ambiente e posteriormente cortada em pequenos pedaços. A extração do óleo essencial, foi pelo método de hidrodestilação, em aparelho Clevenger, que consistiu em depositar 200g do material vegetal em 500mL de água em balão de fundo redondo de 1L e submetidos à fervura, por duas horas. Após a extração, o óleo essencial foi coletado sob a forma de sobrenadante, armazenado em frasco cor âmbar, identificada e mantido à 4 ° C, até a implantação dos bioensaios (Seixas et al.,2012, adaptado).

Composição química dos óleos essenciais de lippia e Noni

A composição química dos óleos essenciais (óleo de lippia e noni) foi determinada por Espectrometria de massa por cromatografia em fase gasosa (CG-ME). O cromatógrafo utilizado foi o modelo Shimadzu GC-210 equipado com detector seletivo de massa modelo QP2010 Plus. O equipamento foi operado nas seguintes condições: coluna capilar de sílica fundida RTX-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura de filme); com a seguinte programação da temperatura na coluna: 60-240 ºC (3 ºC/min); temperatura do injetor: 220 ºC; gás carreador hélio; injeção splitless com volume injetado de 1 µL de uma solução 1:1000 em hexano. Para o espectrômetro de massas (EM), foram utilizadas as seguintes condições: energia de impacto de 70 eV; temperatura de fonte de íons e da interface: 200 ºC. Foi injetada, nas mesmas condições das amostras, uma série homóloga de n-alcanos (C9H20..... C26H54). Os espectros obtidos foram comparados com o banco de dados da biblioteca Nist e Wiley 229 e o índice de retenção, calculado para cada constituinte, foi comparado com o tabelado, de acordo com Adams (2007).

A quantificação dos teores dos compostos foi expressa em porcentagem tendo como base normalização de áreas, que foram obtidas mediante cromatógrafo gasoso equipado com um detector de ionização de chamas (DIC), por meio do aparelho Shimadzu GC-210, nas seguintes condições: coluna capilar RTX-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura de filme); temperatura do injetor: 220 ºC; temperatura do DIC: 300 ºC; com programação

da coluna: temperatura inicial de 60 ºC com uma taxa de aquecimento de 3 ºC min^{-1} até 240 ºC, em seguida, passando para uma taxa de aquecimento de 10 ºC min^{-1} até 300 ºC, permanecendo nessa temperatura por 10 min; gás de arrastre nitrogênio (1,18 mL min^{-1}); taxa de Split 1:50; pressão na coluna de 115 KPa e volume injetado de 1 µL de uma solução 1:1000 em hexano.

Fitotoxicidade em frutos de mamão em função da concentração de óleos essenciais

Foram realizados testes de fitotoxicidade aplicando os óleos essenciais de lippia e noni para frutos de mamão em concentrações de 1; 2; 3; 4 e 5% e água destilada como controle. Alíquotas de óleo essencial foram adicionadas em uma solução de Tween 80 (1%) para obter as diferentes concentrações. Foram espalhados na superfície do fruto com auxílio de hastes flexíveis de algodão 200 µL da solução do óleo essencial. Após 48 horas foi realizada a avaliação da fitotoxicidade por meio de uma escala de notas, proposta por Goes, (2004), em porcentagem, de danos ocorridos na casca dos frutos, em que: 0 (zero)-frutos com ausência de sintomas de fitotoxicidade; 1-frutos com sintomas leves (frutos com leves pontuações diminutas, quase imperceptíveis, sem nenhuma restrição ao mercado de frutas frescas 1-10%); 2-frutos com sintomas moderados (frutas com pontuações pequenas e visíveis, localizadas, às vezes em confluência, porém podem ser aceitas com restrição para o mercado de frutas frescas 11-20%); 3-frutos com sintomas severos (pontuações escuras bem visíveis, ocupando espaços variáveis no fruto, rejeitados para mercado de frutas frescas >20%).

Efeito dos óleos essenciais associados a diferentes biofilmes na perda de peso e no tempo de prateleira de frutos de mamoeiro

Frutos da cv. Formosa foi utilizado nos ensaios, adquiridos no comércio local de Gurupi, Tocantins, produzidos em pomares da região. Todos apresentavam uniformidade na coloração e aspecto “de vez”, ou seja, anterior à fase de maturação. Os mesmos foram lavados com sabão neutro e enxaguados em água destilada esterilizada (ADE). Foram realizados nove tratamentos: Testemunha (água estéril), Cêra de Carnaúba + *L. sidoides*, Gelatina + *L. sidoides*, Parafina + *L. sidoides*, Óleo de Girassol + *L. sidoides*, Cêra de Carnaúba + *M. citrifolia*, Gelatina + *M. citrifolia*, Parafina + *M.citrifolia* e Óleo De Girassol + *M.citrifolia*. As soluções dos tratamentos foram aplicadas nos frutos com o auxílio de um borrifador manual. Imediatamente após os tratamentos, os frutos foram acondicionados em bandejas de plástico e armazenados à temperatura (T°C) de 28 ± 1 ºC e umidade relativa (UR %) variando de 72 a 85%.

Os frutos foram pesados em balança digital (Balmak®-ELP 25) para determinar a perda de massa fresca, durante oito dias com intervalo de dois dias.

Foram selecionados três biofilmes com melhor desempenho e adicionados os óleos essenciais de noni (*M. citrifolia*) e lippia (*L. sidoides*) e seus compostos majoritários ácido octanóico e timol, respectivamente. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições, em esquema fatorial de 3 x 4 + 1, sendo o fator A = três biofilmes e fator B = dois óleos essenciais e dois compostos majoritários, e água como a testemunha.

A vida útil pós-colheita dos frutos foi definida através de três variáveis: a perda de massa (desidratação), a mudança na coloração da casca e o tempo de vida útil que o fruto apresentou a contar do dia de instalação até não estar mais em condições de ser comercializado e/ou consumido (início da senescência).

A perda de massa foi realizada a cada dois dias durante o ensaio, com auxílio de uma balança digital. A cor da casca foi determinada mediante comparação com a escala de cores da Frutiséries 7 (Brasil, 2000), cujos estádios de maturação variam de 0 a 5, sendo: 0 (100% verde); 1 (até 15% da superfície amarela); 2 (até 25% da superfície amarela); 3 (até 50% da superfície amarela); 4 (50% a 75% da superfície amarela), e 5 (76 a 100% da superfície amarela). A concentração de sólidos solúveis totais (ºBrix) foi determinada no suco dos frutos, utilizando-se refratômetro manual, tipo Atago, com escala de 0 a 32ºBrix (Carvalho et al., 1990). A firmeza da polpa foi determinada realizando-se uma inserção no fruto nas regiões mediana, com penetrômetro de bancada SoilControl/USA, modelo PDBF-200, com ponteira de 8 mm, sendo expressa em Newton.

As análises estatísticas foram feitas, utilizando-se o software SISVAR (Ferreira, 2014). As médias dos dados relativos à caracterização dos frutos e às características físicas e químicas foram comparadas pelo teste Tukey, ao nível de 5% de significância. Os dados relativos ao período de armazenamento foram comparados pelo teste de agrupamento Scott Knott, ao nível de 5 e 1%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fitotoxicidade em frutos de mamoeiro em função da concentração de óleos essenciais

A partir da concentração de 3%, os óleos essenciais causaram fitotoxidade de grau 1 (1-10%) conforme demonstrado nas Figuras 1,2 e 3. Contudo, nesta concentração, o dano provocado nos frutos foi mínimo, onde se observaram injúrias leves representadas por pequenas pontuações que não tem nenhuma restrição ao mercado de frutas frescas. Já as concentrações de 4 e 5% foram consideradas impróprias para utilização nos frutos de mamoeiro, já que proporcionaram as notas de fitotoxicidade 2 e 3 respectivamente, prejudicando o aspecto natural da casca dos frutos e, portanto, apesar de não afetar a polpa interna dos frutos, o aspecto visual negativo, deixa-os inadequados à comercialização.

Outros relatos de óleos essenciais que provocaram fitotoxicidade à frutos também já foram relatados. Oliveira Junior et al. (2013) usaram óleo essencial decantarilho, *Schinus terebinthifolius*, em um nível de concentração 0,5% no mamão, para testar a proteção contra *Colletotrichum gloeosporioides*. Apesar do promissor "em resposta *in vitro*", o óleo não pôde ser recomendado devido aos altos níveis de fitotoxicidade do fruto que o tornam impróprio para marketing. Oliveira et al. (2016) também verificaram que o óleo essencial de cravo-da-índia causa escurecimento completo da casca, possivelmente devido a uma atividade fitotóxica desse óleo.

Figura 1: Fitotoxicidade de óleos essenciais de noni (*Morinda citrifolia*) e lippia (*Lippia sidoides*), em função de concentrações crescentes aplicadas em frutos de mamoeiro.

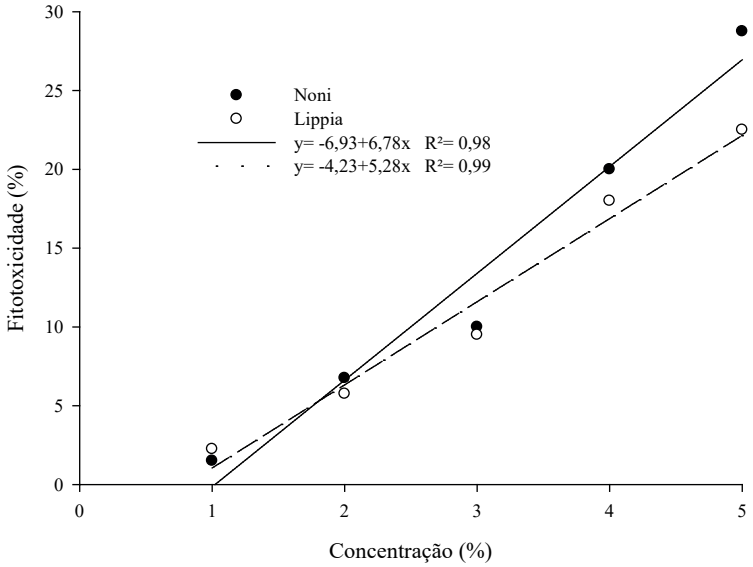


Figura 2. (A) Fruto de mamoeiro tratado com diferentes concentrações do óleo de lippia. (B) Fruto de mamoeiro tratado com diferentes concentrações de Timol, sem fitotoxicidez.

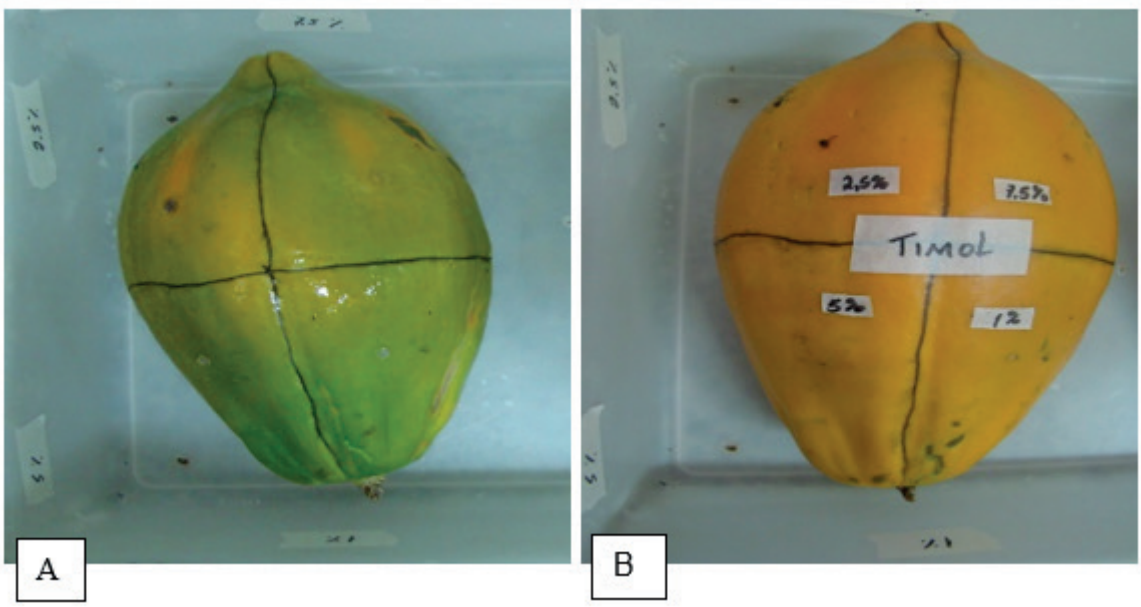
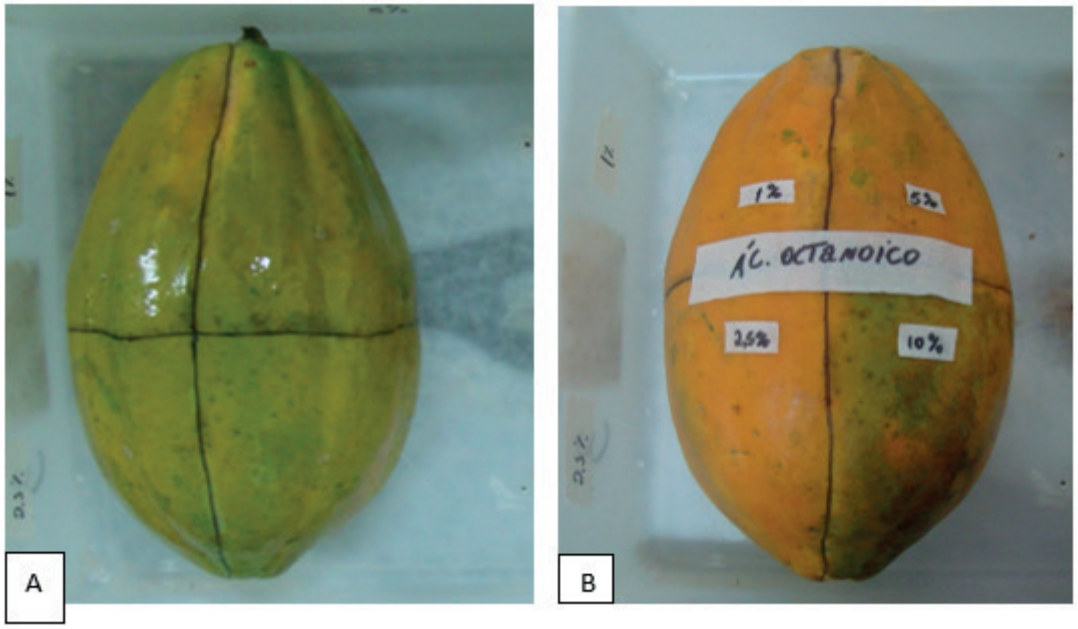


Figura 3. (A) Fruto de mamoeiro tratado com diferentes concentrações de Noni, mostrando fitotoxidade, nas concentrações de 5 e 10%. (B) Fruto de mamoeiro tratado com diferentes concentrações de Ácido octanóico.



Constituintes químicos dos óleos essenciais de lippia e noni

Os constituintes químicos presentes dos óleos essenciais de lippia e noni são apresentados na Tabela1. As analises cromatográficas revelaram o timol foi o constituinte majoritário (92, 68%) para o óleo essencial lippia. Com relação ao óleo essencial noni o ácido octanóico, foi o constituinte majoritário (82,24%), seguido por o ácido hexanóico (8,26%).

Resultados semelhantes a este trabalho também já foram obtidos por outros autores. Veras et al. (2014) e Fontenelle et al. (2007) relataram a presença de 84,9 e 59,65% do timol, respectivamente, como constituinte majoritário em óleo essencial de *L. sidoides*. Valores diferentes foram relatados por Osorio et al. (2018), onde obtiveram 64,03% de concentração de ácido octanóico (ácido caprílico) e 8,64% de ácido hexanóico (ácido capróico) no óleo essencial de *M. citrifolia*. Pino et al. (2010), identificaram 96 compostos, dos quais o ácido octanóico (70%) e ácido hexanóico (8%) foram os componentes majoritários. A variação do teor dos compostos majoritários dos óleos pode ser influenciada por vários fatores, tais como o grau de maturação dos frutos, condições do cultivo e desenvolvimento (tipo de solo e clima) hora da colheita (Pino et al., 2010; Fontenelle et al., 2007).

Tabela 1. Constituintes químicos de lippia (*Lippia sidoides*) e noni (*Morinda citrifolia*) identificados em seus respectivos óleos essenciais extraídos a partir de folhas e frutos coletados em Gurupi, Tocantins, 2017.

Óleo essencial de lippia			
Composto	**TR (min)**	**IR**	**(%)**
α-tujeno	5,915	924	0,05
α-terpineno	8,680	1014	0,09
ρ-cimeno	8,944	1020	1,16

Óleo essencial de lippia			
Composto	**TR (min)**	**IR**	**(%)**
γ-terpineno	10,176	1054	0,25
cis-sabineno hidratado	10,656	1065	0,10
4-terpineol	15,19	1174	0,45
Timol metil éter	17,264	1232	0,43
Timol	20,075	1289	92,68
(E)-cariofileno	25,369	1417	2,23
α-humuleno	26,849	1452	0,13
Óxido de cariofileno	31,878	1582	0,61
Total	-	-	98,18
Óleo essencial de noni			
Composto	**TR (min)**	**IR**	**(%)**
3-metil-3-butenil-1- acetato	4,583	888	-*
2-heptanona	4,992	897	-
Hexanoato metila	5,774	922	-
Ácido hexanóico	7,634	987	8,26
Hexanoato de etila	7,974	999	2,48
Octanoato Metila	12,713	1123	-
Ácido octanóico	15,603	1177	82,24
Octanoato de etila	15.803	1196	-
Hexanoato isopentila	18,537	1259	1,60
Hexanoato de metila	19,983	1292	-
3-metilbutil octanoato	26,897	1457	4,25
3-metilbut-2-enil octanoato	28,226	1489	-
Total	-	-	98,77

*Não quantificado (valores < 0,05); TR= Tempo de retenção; IR= Índice de retenção.

Desidratação de frutos revestidos com biofilmes incorporados com óleos essenciais

Durante os oito dias de armazenamento foram observados redução na massa dos frutos em todos os tratamentos. Os resultados da porcentagem de redução massa são apresentados na Tabela 2. Os frutos tratados com parafina + *L. sidoides*, parafina + *M. citrifolia* e óleo de girassol + *M. citrifolia* foram os que apresentaram a menor perda de massa, com destaque para parafina + *L. sidoides* onde a perda foi de 7,8% no final do período de armazenamento (oito dias), diferindo estatisticamente da testemunha.

O tratamento dos frutos com parafina + *L. sidoides* não diferiu estatisticamente do revestimento com óleo de girassol + *M. citrifolia*, no período de quatro e seis dias de armazenamento. Com relação ao tratamento testemunha houve a maior perda de massa, chegando os mesmos a perderem 23% da massa inicial em apenas oito dias de armazenamento.

Moura et al. (2016), demostraram que o óleo essencial a 0,1% de capim-limão permitiu menor redução na massa dos frutos de (4,28%), provavelmente por restringir a transpiração

através da minimização do gradiente de pressão de vapor. A aplicação dos biofilmes gera acúmulo de CO_2 e diminuição do O_2 disponível para os frutos, reduzindo assim as taxas respiratórias e a produção de etileno, desta forma, provoca retardamento no processo de maturação dos frutos (Chitarra e Chitarra, 2005).

Fakhouri et al. (2015) verificaram que o biofilme à base de amido/gelatina (1:1) a perda de massa encontrada para as uvas foi de 9%.

Jacomino et al. (2003), avaliando os efeitos de cinco ceras comercias à base de carnaúba na conservação pós-colheita de goiabas Pedro Sato, constataram que as ceras foram eficientes em retardar o amadurecimento, reduzir a perda de massa e a incidência de podridões.

Tabela 2. Perca de água em frutos de mamoeiro submetidos a tratamentos com diferentes biofilmes incorporados a óleos essenciais de noni e lippia.

Tratamentos	Dias após aplicação			
	2	4	6	8
	(%)	(%)	(%)	(%)
Testemunha	5,3 a*	8,1 a	13,6 a	22,6 a
Cera de Carnaúba + *Lippia sidoides*	4,0 ab	6,1 ab	11,6 ab	19,7 ab
Gelatina + *Lippia sidoides*	4,9 a	7,9 a	11,5 ab	19,5 ab
Parafina + *Lippia sidoides*	3,1 b	4,4 b	7,3 b	7,8d
Óleo de Girassol + *Lippia sidoides*	3,9 ab	5,7 ab	9,7 ab	17,4 ab
Carnaúba + *Morinda citrifolia*	3,7 ab	6,0 ab	11,6 ab	20,2 ab
Gelatina + *Morinda citrifolia*	3,6 ab	5,7 ab	9,9 ab	16,6 ab
Parafina + *Morinda citrifolia*	3,6 ab	5,3 ab	8,8 ab	9,8cd
Óleo de Girassol + *Morinda citrifolia*	3,5 ab	4,1 b	7,4 b	14,3 bc

*As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Efeito dos óleos essenciais e seus compostos majoritários associados a diferentes biofilmes na qualidade de frutos de mamoeiro

Conforme apresentado na Tabela 3, observou-se que todos os tratamentos, tiveram valores médios de sólidos solúveis totais (SST) semelhantes, não tendo diferença significativa.

Carnelossi et al. (2009), verificaram que frutos tratados e inoculados 24 horas após os tratamentos, não apresentaram diferenças significativas entre si, para os valores de (SST). Frutos de goiabas (*Psidium guajava* L.) revestidos com quitosana + amido de madioca ou quitosana + amido de mandioca + mistura de óleos essenciais do gênero de *Lippia gracilies* Schaver não apresentaram alterações significativas no teor de (SST) (Aquino et al., 2015). Perdones et al. (2012) obtiveram aumento do teor de TSS em morangos revestidos com quitosana e óleo essencial de limão, no entanto, os valores foram inferiores aos obtidos para frutos não revestidos ou revestidos apenas com quitosana.

Tabela 3. Teor de Sólidos Solúveis Totais (°Brix) e firmeza de polpa em frutos de mamão sob diferentes tratamentos aplicados sobre a casca após 12 dias de armazenamento.

Tratamento	SST °Brix	Firmeza (Newton)
Testemunha	9,67^{ns}	2,7 b
Óleo de girassol + Noni	8,2	7,9 a
Óleo de girassol + Lippia	9,7	4,0 ab
Óleo de girassol + Ác. Octanóico	10,3	6,2 ab
Óleo de girassol + Timol	9,0	6,0 ab
Gelatina + Noni	8,3	3,1 b
Gelatina + Lippia	9,7	5,1 ab
Gelatina + Ác. Octanóico	9,3	4,1 ab
Gelatina + Timol	9,7	4,6 ab
Parafina + Noni	7,3	2,5 b
Parafina + Lippia	8,3	3,7 b
Parafina + Ác. Octanóico	8,7	2,7 b
Parafina + Timol	8,7	5,0 ab
CV%	14,56	30,47

Letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. ns - Não significativo. Firmeza: Dados transformados pela raiz quadrada.

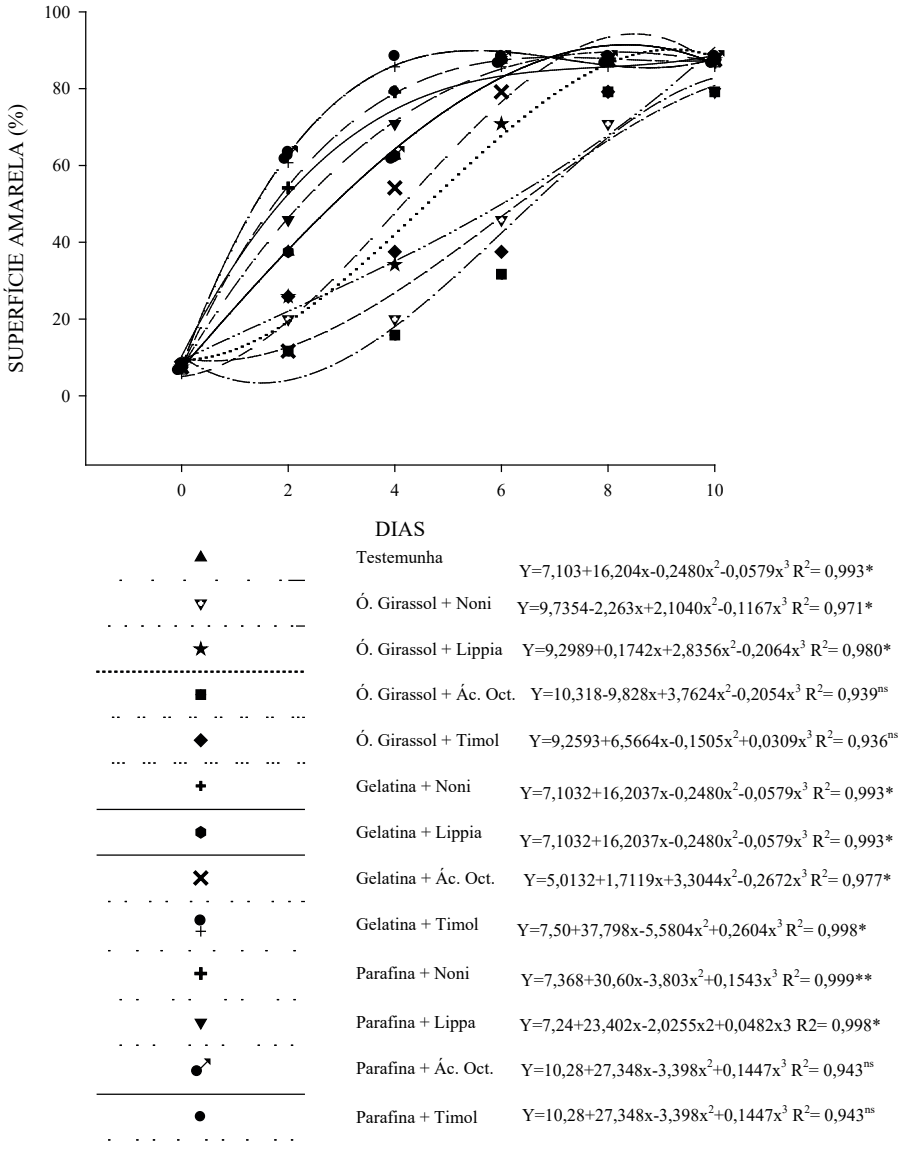
Com relação aos resultados da firmeza dos frutos (Tabela 3), houve diferença estatística entre os tratamentos. Os tratamentos: óleo de girassol + ácido octanóico, óleo de girassol + timol, proporcionaram maior firmeza de polpa, sobressaindo a mistura de óleo de girassol e óleo essencial de noni.

Acredita-se que houve um sinergismo positivo entre o óleo fixo de girassol associado ao óleo essencial de noni, devido os lipídeos e constituintes dos óleos terem reduzido o metabolismo e a permeabilidade do fruto, diminuindo a taxa respiratória e o retardamento do amadurecimento.

Cisse et al. (2015) demostraram que o revestimento com quitosana nos frutos de manga mantiveram mais firmeza inicial da polpa. Khaliq et al. (2015), utilizando goma arábica (GA) 10% e cloreto de cálcio 3% + (GA) 10% reteve por mais tempo a firmeza dos frutos.

A redução da respiração e a perda de água podem ser responsáveis pela retenção da firmeza. O uso de um revestimento adequado pode atrasar as alterações da textura e reduz o processo de amadurecimento como foi comprovado por diversos autores em diferentes variedades de frutas (Valero et al., 2013; Maqbool et al., 2011; Ahmed et al., 2009). A perda de peso associada ao amadurecimento da fruta também reflete como um declínio progressivo da firmeza da polpa (Forato et al., 2015).

Figura 4. Amadurecimento de frutos de mamoeiro em função do tempo de armazenamento e de diferentes tratamentos com óleos de girassol e lippia associados a diferentes biofilmes.



ns = não significativo, * = 5% e ** = 1% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

Com respeito à coloração da casca, o óleo de girassol associado com óleo essencial de noni e óleo de girassol com ácido octanóico foram os tratamentos que mantiveram a cor e amadurecimento dos frutos, durante o período de 10 dias de armazenamento em que os frutos não haviam atingido a maturação completa.

Este resultado é importante na conservação em pós-colheita dos frutos, já que foi verificado que a partir do sexto dia a testemunha já se encontrava completamente amadurecida, sendo os frutos inadequados à comercialização. Foi possível verificar que os tratamentos com óleo de girassol mantiveram a cor esverdeada da casca até aos seis dias decorridos do tratamento.

Forato et al. (2015) avaliando os revestimentos com formulações à base de goma de caju (CG) e carboximetilcelulose (CMC) ambos tiveram uma redução da perda de massa, preservando a firmeza e retardando as alterações da cor da pele em frutos de goiabas.

Os frutos de mamoeiro entram em processo de maturação antes mesmo de serem colhidos, sendo que sua maturação aumenta progressivamente após a colheita, devido aos processos fisiológicos, que aumenta a transpiração e respiração, acelerando assim a maturação fisiológica dos mesmos, sendo a mudança de cor um indicador natural de maturidade. Durante o processo de amadurecimento, a clorofila se degrada, expondo os carotenóides, o principal pigmento responsável pela maior parte do tom amarelado (Yao et al., 2014).

No presente trabalho verificou-se que o uso de biofilmes incorporados aos óleos essenciais pode ajudar na manutenção da umidade dos frutos, manter a firmeza da polpa, além de retardar a maturação dos frutos, aumentando assim o tempo de prateleira.

CONCLUSÕES

As concentrações dos óleos aplicadas sobre o fruto devem ser iguais ou inferiores a 3%, devido à fitotoxidade provocada sobre a casca dos frutos de mamoeiro.

A aplicação revestimentos a base de parafina + *Lippia sidoides* e parafina + *Morinda citrifolia* em frutos de mamão reduz a perda de massa.

Os tratamentos não afetaram estatisticamente a concentração de sólidos solúveis.

O biofilme óleo de girassol + noni proporciona uma maior resistência mecânica dos frutos (maior firmeza).

Os filmes compostos por óleo de girassol + noni e óleo de girassol + ácido octanóico demostraram ser eficientes na formação de revestimentos que prolongam a aparência, reduzindo a mudança de cor dos frutos.

Este estudo sugere que a aplicação combinada parafina + óleos essenciais (lippia e noni) pode ser um método promissor para reduzir a deterioração pós-colheita, prolongar a vida útil e manter a qualidade dos frutos do mamão.

REFERÊNCIAS

1. Adams, R.P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy, fourth edition. Allured Publishing Corporation Carol Stream. 1L, 60188, USA. 804 p.

2. Ahmed, M.J.; Sing, Z.; Khan, A.S. (2009). Postharvest aloe vera gel-coating modulates fruit ripening and quality of ‘arctic snow’ nectarine kept in ambient and cold storage. Int. J. Food Sci. Technol. 44, 1024–1033.

3. Ali, A.; Maqbool, M.; Alderson, P.G.; Zahid, N. (2013). Effect of gum arabic as an edible coating on antioxidant capacity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit during storage. Postharvest Biol. Technol. 76, 119–124.

4. Ali, A.; Muhammad, M.T.M.; Sijam, K.; Siddiqui, Y. (2011). Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. Food Chemistry, 124, 620–626.

5. Carnelossi, P. R.; Schwan-Estrada, K.R.F.; Cruz, M.E. S.; Itako, A.T.; Mesquini, R.M. (2009). Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 11, n. 4, p. 399-406.

6. Carvalho, C.R.L.; Mantovani, D.M.B.; Carvalho, P.R.N.; Moraes, R.M.M. (1990). Análises químicas de alimentos. Campinas: ITAL.

7. Chitarra, M.I.F.; Chitarra, A.B. (2005). Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras: Universidade Federal de Lavras.

8. Cissé, M.; Polidori, J.; Montet, D.; Loiseau, G.; Ducamp-Collin, M.N. (2015). Preservation of mango quality by using functional chitosan-lactoperoxidase systems coatings. Postharvest Biology and Technology, 101, 10-14.

9. DA FRUTICULTURA, A. B. (2017). Brasilian Fruit Yearbook. 2017. Disponível em:< http://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2017/03/PDF Fruticultura_2017.pdf >. Acesso em, 16 de Set de 2019.

10. De Aquino, A.B.; Blank, A.F.; de Aquino Santana, L.C.L. (2015). Impact of edible chitosan–cassava starch coatings enriched with *Lippia gracilis* Schauer genotype mixtures on the shelf life of guavas (*Psidium guajava* L.) during storage at room temperature. Food chemistry, 171, 108-116.

11. Fagundes, A.F.; Dabul, A.N.G.; Ayub, R.A. (2006). Aminoethoxivinilglicina no controle do amadurecimento de frutos de caqui cv. Fuyu. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 28, n. 1, p. 73-75.

12. Fakhouri, F.M.; Martelli, S.M.; Caon, T.; Velasco, J.I.; Mei, L.H.I. (2015). Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. Postharvest Biology and Technology, 109, 57-64.

13. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). (2018). Principais países produtores de papayas. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 17 Set. 2018.

14. Ferreira, D.F.S. (2014). A Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. Ciência e Agrotecnologia, v. 38, n. 2, p. 109-112.

15. Fontenelle, R.O.S.; Morais, S.M.; Brito, E.H.S.; Kerntopf, M.R.; Brilhante, R.S.N.; Cordeiro, R.A.; Rocha, M.F.G. (2007). Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *59*(5), 934-940.

16. Forato, L.A.; de Britto, D.; de Rizzo, J.S.; Gastaldi, T.A.; Assis, O.B. (2015). Effect of cashew gum-carboxymethylcellulose edible coatings in extending the shelf-life of fresh and cut guavas. Food Packaging and Shelf Life, 5, 68-74.

17. FRUTISÉRIES. Mamão. Brasília: Ministério da Integração Nacional, nov. 2000. Boletim Informativo. Disponível em: <http://www.integracao.gov.br>. Acesso em: 16 abr. 2019.

18. Godoy, A.E.; Jacominio, A.P.; Cerqueira-Pereira, E.C.; Gutierrez, A. de S.D.; Vieira, C. E.M.; Forato, L.A. (2010). Injúrias mecânicas e seus efeitos na qualidade de mamões Golden. Revista Brasileira de Fruticultura, v.32, n.3, p.682-691.

19. Goes, A.; Martins, R.D.; Reis, R.F. (2004). Efeito de fungicidas cúpricos, aplicados isoladamente ou em combinação com mancozeb, na expressão de sintomas de fitotoxicidade e controle da ferrugem causada por *Puccinia psidii* em goiabeira. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 26. n. 2, p. 237-240.

20. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – PRODUÇÃO AGRÍCOLA MUNICIPAL (IBGE – PAM). Tabelas. 2017. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>. Acesso em: 05 set. 2019.

21. Jacomino, A.P.; Ojeda, R.M.; Kluge, R.A.; Scarpare-Filho, J.A. (2003). Conservação de goiabas tratadas com emulsões de cera de carnaúba. Revista Brasileira de Fruticultura, 25, 401–405.

22. Khaliq, G.; Mohamed, M.T.M.; Ali, A.; Ding, P.; Ghazali, H.M. (2015). Effect of gum arabic coating combined with calcium chloride on physico-chemical and qualitative properties of mango (*Mangifera indica* L.) fruit during low temperature storage. Scientia Horticulturae, 190, 187-194.

23. Maqbool, M.; Ali, A.; Alderson, P.G.; Zahid, N.; Siddiqui, Y. (2011). Effect of a novel edible composite coating based on gum arabic and chitosan on biochemical and physiological responses of banana fruits during cold storage. J. Agric. Food Chem. 59, 5474–5482.

24. Moura, G.S.; Schwan-Estrada, K.R.F.; Clemente, E.; Franzener, G. (2016). Conservação pós-colheita de frutos de maracujá-amarelo por derivados de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). Ambiência, 12(2), 667-682.

25. Oliveira, E.S.; Viana, F.M.P.; Martins, M.V.V. (2016). Alternativas a Fungicidas Sintéticos no Controle da Antracnose da Banana. Summa Phytopathologica, v.42, n.4, p.340-350.

26. Oliveira Junior, L.F.G.; Santos, R.B.; Reis, F.O.; Matsumoto, S.T.; Bishop, W.M.S.; Machado, L.P.; Oliveira, L.F.M. (2013). Fungitoxic effect of essential oil from aroeira (*Schinus terebinthifolius* RADDI) on *Colletotrichum gloeosporioides*. Braz. J. Med. Plants 15(1):150-157.

27. Osorio, P.R.A.; Leão, E.U.; Veloso, R.A.; Mourão, D.S.C.; Santos, G.R.D. (2018). Essential Oils for Alternative *Teak Rust* Control. Floresta e Ambiente, 25(2).

28. Perdones, A.; Sánchez-González, L.; Chiralt, A.; Vargas, M. (2012). Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. Postharvest biology and technology, 70, 32-41.

29. Pino, J.A.; Márquez, E.; Quijano, C.E.; Castro, D. (2010). Volatile compounds in noni (*Morinda citrifolia* L.) at two ripening stages. Food Science and Technology, 30(1), 183-187.

30. Seixas, P.T.L.; Castro, H.G.; Cardoso, D.P.; Chagas Junior, A.F.; Nascimento, I.R. (2012). Bioactivity of essential oils on the fungus *Didymella bryoniae* of the cucumber culture. Braz. J. Appl. Technol. Agric. Sci. 5(3):61-66.

31. Valero, D.; Díaz-Mula, H.M.; Zapata, P.J.; Guillén, F.; Martínez-Romero, D.; Castillo, S.; Serrano, M. (2013). Effects of alginate edible coating on preserving fruit quality in four plum cultivars during postharvest storage. Postharvest Biol. Technol. 77, 1–6.

32. Veras, H.N.H.; Rodrigues, F.F.G.; Botelho, M.A.; Menezes, I.R.A.; Coutinho, H.D.M.; da Costa, J.G.M. (2014). Antimicrobial effect of *Lippia sidoides* and thymol on *Enterococcus faecalis* biofilm of the bacterium isolated from root canals. The Scientific World Journal.

33. Vidrih, R.; Simčič, M.; Hribar, J. (1990). Storing of persimmon fruit under controlled atmosphere conditions.

34. Vila, M.T.R. (2004). Qualidade pós-colheita de goiabas 'Pedro Sato' armazenadas sob refrigeração e atmosfera modificada por biofilme de fécula de mandioca. 2004. 66 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras/UFLA, Lavras.

35. Yao, B.N.; Tano, K.; Konan, H.K.; Bédié, G.K.; Oulé, M.K.; Nevry, R.K.; Arul, J. (2014). The role of hydrolases in the loss of firmness and of the changes in sugar content during the post--harvest maturation of *Carica papaya* L. var solo 8. Journal Food Science and Technology, v. 51, n. 11, p. 3309–3316.

36. Zambolim, L.; Costa, H.; Ventura, J.A.; Vale, F.X.R. (2002). Controle de doenças em pós-colheita de frutas tropicais. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Manejo integrado:** fruteiras tropicais – doenças e pragas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p.443-512.

37. ZamperlinI, G.P.; SantoS, K.T.; Broetto, S.G.; Silva, D.M. (2007). Estudos preliminares do comportamento do papaya em diferentes etapas do processo entre a colheita e a mesa do consumidor. In: MARTINS, D. dos S. Papaya Brasil: manejo, qualidade e mercado do mamão. Vitória-ES: Incaper, 704p.

38. Zahid, N; Ali, A; Siddiqui, Y; Maqbool, (2013). M. Efficacy of ethanolic extract of propolis in maintaining postharvest quality of dragon fruit during storage. Postharvest Biology and Technology, Amsterdam, v. 79, n. 1, p. 69–72.

22

Parâmetros de encapsulação de pectinase comercial em alginato de cálcio e seu efeito na atividade catalítica

- Lucia Maria Jaeger de **Carvalho**
  UFRJ
- Gisela Maria Dellamora **Ortiz**
  UFRJ
- Flávio de Souza Neves **Cardoso**
  UNIRIO
- José Luiz Viana de **Carvalho**
  CTAA EMBRAPA
- Maria Gabriela Bello **Koblitz**
  UNIRIO

10.37885/201102231

RESUMO

Introdução: Apesar das propriedades catalíticas elevadas das pectinases, a utilização de enzimas livres sempre apresenta algumas limitações como a baixa estabilidade, dificuldade de recuperação do produto e impossibilidade de uso contínuo. O encapsulamento enzimático é um dos métodos usados para superar essas limitações. Entretanto, é esperado que algum tipo de efeito ocorra em sua atividade catalítica. Objetivo: O objetivo deste trabalho foi estudar os parâmetros envolvidos no processo de encapsulação de pectinase comercial em alginato de cálcio e o efeito da encapsulação sobre sua atividade catalítica. Métodos: Foram avaliados os efeitos dos parâmetros: alginato de sódio, cloreto de cálcio, concentração da enzima e tempo de reação sobre a atividade enzimática e rendimento de encapsulação. O efeito do pH e da temperatura na atividade da enzima livre e encapsulada foi estudado. Resultados e discussão: O maior rendimento de imobilização foi obtido a uma concentração de solução enzimática de 4%. As enzimas livres e encapsuladas apresentaram comportamento semelhante quanto à atividade catalítica. A enzima encapsulada apresentava uma faixa de pH mais estreita (pH 4,0) comparada a enzima livre (pH 3,0 a 5,0). Adicionalmente, a enzima encapsulada apresentou aumento de estabilidade na faixa de pH entre 7 e 8 e acima de 10 a 12. Conclusão: A encapsulação com alginato de sódio se mostrou eficiente e minimizando custos operacionais para a indústria de alimentos.

Palavras-chave: Pectinase, Encapsulação, Parâmetros, pH, Temperatura.

INTRODUÇÃO

As enzimas pectinolíticas têm muitas aplicações em diferentes indústrias como de frutas e sucos de vegetais, vinho, têxteis e indústrias de papel e celulose (Rehman et al., 2014; Gummadi & Panda, 2003; Kashyap et al., 2001). Pectinase é um termo genérico utilizado para o grupo complexo de enzimas que catalisam a hidrólise da pectina quebrando a ligação a-1-4-glicosídica de ácido galacturônico para diminuir a viscosidade, responsável por causar turvação indesejável em sucos de frutas (Rehman et al., 2013; Kashyap et al., 2001). Apesar de suas propriedades catalíticas elevadas, alguns problemas são encontrados no uso de enzimas em processos industriais como: baixa estabilidade em condições operacionais, sua suscetibilidade às condições do processo, dificuldade de recuperação do produto, impossibilidade de múltiplos reaproveitamentos em um processo industrial e a presença de compostos inibidores, mesmo em baixas concentrações (Lei et al., 2015; Rehman et al., 2013). Vários métodos têm sido propostos para superar essas limitações e, entre elas, se destaca o método de imobilização (Rehman et al., 2013; Mohamad et al., 2015; Krajewska, 2004). As enzimas podem ser imobilizadas por vários métodos que podem ser classificados como físicos, com uma fraca interação entre enzima e suporte e produtos químicos cujas ligações covalentes são formadas com a enzima. Alguns exemplos de métodos físicos são: contenção de uma enzima dentro de um reator de membrana, adsorção (física, iônica) em uma matriz insolúvel em água, inclusão (ou aprisionamento de gel), microencapsulação com uma membrana sólida (Krajewska, 2004). Quando uma enzima é adicionada a um material inerte, algum tipo de efeito espera-se que ocorra na sua atividade catalítica. Estes efeitos podem ser estéricos e/ou conformacionais, podendo interferir com o microambiente difusional e afetar eficiência do sistema catalítico e as características da enzima como pH ideal e temperatura (Mohamad et al., 2015).

OBJETIVO

Estudar os parâmetros envolvidos no processo de encapsulação de uma pectinase comercial em alginato de cálcio e o efeito da encapsulação na sua atividade catalítica.

MÉTODOS

Enzima:

A enzima pectinolítica comercial Pectinex® Ultra Clear (*Aspergillus acuteatus*, *Aspergillus niger)* (Novozymes Latin America Ltda) foi usada para os experimentos. Esta enzima foi

selecionada entre outras enzimas comerciais por apresentar um aumento de limpidez mais significativo quando aplicada na polpa de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) como o trabalho preliminar de Cardoso et al. (2014).

Análise da atividade da pectinase

A atividade pectinase das enzimas livres e imobilizadas foi determinada por espectrofotometria a 540 nm usando o método do ácido dinitrosalicílico modificado (Oliveira et al., 2012). Para a reação enzimática, a pectina cítrica foi utilizada como substrato por 30 min. Uma unidade de atividade foi definida como a quantidade de amostra necessária para liberar 1 µmol de ácido galacturônico por minuto de reação. As análises foram realizadas em triplicata. A diferença entre as médias foi avaliada por ANOVA seguida do teste de Tukey, sendo consideradas significativas aquelas com $p \leq 0,05$.

Efeitos do pH e da temperatura na pectinase.

O efeito do pH sobre a pectinase foi avaliado a pHs 3,0 a pH 12,0, e os tampões com diferentes pHs foram misturados com a protease purificada na proporção de 1:1. A atividade enzimática foi determinada pelo método de ensaio descrito anteriormente. A mistura de reação foi incubada em diferentes temperaturas que variaram de 30 a 90 °C em pH ótimo, determinado previamente. As análises foram realizadas em triplicata. A diferença entre as médias foi avaliada por ANOVA seguida do teste de Tukey, sendo consideradas significativas aquelas com $p \leq 0,05$.

pH e estabilidade térmica

A pectinase foi pré-incubada a pHs de 3 a 12 a 10 ° C por 24h para avaliar sua estabilidade. Após este tempo, a atividade residual de cada tratamento foi determinada pelo método de ensaio descrito anteriormente. A pectinase foi pré-incubada de 30 a 90 °C por 1 h para se avaliar sua estabilidade térmica. Após este tempo, a atividade residual de cada tratamento foi determinada pelo método de ensaio descrito anteriormente. As análises foram realizadas em triplicata. A diferença entre as médias foi avaliada por ANOVA seguida do teste de Tukey, sendo consideradas significativas aquelas com $p \leq 0,05$.

Cápsulas de alginato de cálcio

As cápsulas foram obtidas gotejando-se solução de alginato de sódio a uma solução tampão contendo enzimas em solução de cloreto de cálcio usando bomba peristáltica Cole Parmer - Modelo 7523-80, Masterflex YZ-06475-14 L / S 14, mangueira e agulhas 0,80 x 25

mm. Volumes iguais de alginato de sódio e enzima comercial, diluídos em tampão citrato--fosfato (pH 4,0), foram homogeneizados a 150 rpm por 5 min em homogeneizador Fisatom 713D. Dois mililitros de solução de alginato de sódio e enzima foram gotejados a uma vazão de 2 mL / min em 20 mL de solução de cloreto de cálcio. As cápsulas formadas foram submersas em solução de cloreto de cálcio a 30, 60 ou 90 minutos em um refrigerador a 4 ° C. As cápsulas foram então lavadas em água deionizada e armazenadas em solução tampão de citrato-fosfato pH 4,0. A solução de cloreto de cálcio e a água deionizada utilizadas durante o processo de formação da cápsula foram armazenadas para análise do conteúdo proteico e da atividade da pectinase (Rehman et al., 2013).

Delineamento experimental dos parâmetros utilizados no processo de formação das cápsulas de alginato de cálcio

O planejamento fatorial foi utilizado em 3 níveis de variação com 4 repetições do ponto central com a utilização do software STATISTICA 7.0 para o estudo preliminar dos parâmetros avaliados durante o encapsulamento. Os parâmetros avaliados foram: concentrações de alginato de sódio, cloreto de cálcio e enzima comercial Pectinex Ultra Clear, tempo de reação e concentração da solução enzimática no rendimento de encapsulação e na atividade de pectinase da enzima encapsulada. Os parâmetros e valores usados são mostrados na Tabela 1, a seguir.

Tabela 1. Parâmetros e valores usados no planejamento fatorial completo para o processo de encapsulação da pectinase.

Parâmetros	-1	0	1
Concentração de alginato de sódio (%)	1	2.5	4
Concentração de cloreto de cálcio (M)	0.05	0.275	0.5
Tempo de reação (min)	30	60	90
Concentração da solução da enzima (% v/v)	0.5	2.75	5

Rendimento de encapsulamento

A quantidade de enzima encapsulada foi determinada pela diferença da quantidade inicial de proteína na enzima comercial diluída usada para a formação das cápsulas pela quantidade de proteína residual presente na solução de cloreto de sódio e a água usada na lavagem das cápsulas. As proteínas foram quantificadas pelo método de Bradford (Li et al., 2007).

Análise estatística

A análise de variância foi realizada com o software GraphPad Prisma utilizando o teste de Tukey como pós-teste com nível de confiança $p < 0,05$. A metodologia estatística multivariada também foi realizada. Foi utilizado um Planejamento Fatorial Completo (2n) em 3 níveis de variação com 4 repetições do ponto central utilizando o software STATISTICA 7.0 para os testes exploratórios. (Rodrigues & Iemma, 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação preliminar dos parâmetros usados no processo de encapsulação, atividade da pectinase e rendimento da encapsulação

Atividade pectinase e rendimento da encapsulação

A avaliação dos parâmetros: concentração de alginato de sódio, concentração de cloreto de cálcio, concentração da solução de enzimas e tempo de reação no processo de formação das cápsulas foi realizada para determinar quais deles influenciaram positiva e significativamente a atividade da pectinase e o rendimento da encapsulação. Os parâmetros que afetaram positiva e significativamente foram utilizados na otimização desse processo. Apenas o parâmetro de concentração da enzima foi significativo para o rendimento de encapsulação da resposta no nível de confiança $p \leq 0,05$.

A análise de variância foi significativa para os resultados obtidos com rendimento de encapsulamento ($p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$). O coeficiente de determinação (R^2) apresentou valor de 0,91. Para a resposta da atividade da pectinase, o parâmetro de concentração da enzima foi o único significativo no nível de confiança $p \leq 0,05$. A análise de variância foi significativa para a atividade da pectinase ($p \leq 0,05$). O coeficiente de determinação (R^2) apresentou um valor de 0,94. Portanto, apenas a concentração da enzima afetou significativamente o rendimento do encapsulamento e a atividade da enzima no nível testado ($p \leq 0,05$) e foi considerada para a otimização do encapsulamento.

Outros trabalhos relataram a influência da concentração de alginato de sódio e cloreto de cálcio sobre a atividade da enzima e o rendimento de encapsulamento usando a análise univariada. Rehman et al. (2013) avaliaram a influência do alginato de sódio e concentração de cloreto de cálcio no rendimento de encapsulamento da pectinase do *Bacillus lichenformis* em alginato de cálcio. Os resultados revelaram que tanto a concentração de alginato de sódio quanto a concentração de cloreto de cálcio influenciaram no encapsulamento. Segundo os autores, esse rendimento máximo com 3% da concentração de alginato de sódio é devido à formação de ligações cruzadas que mantiveram as enzimas encapsuladas. Ganaie et al.

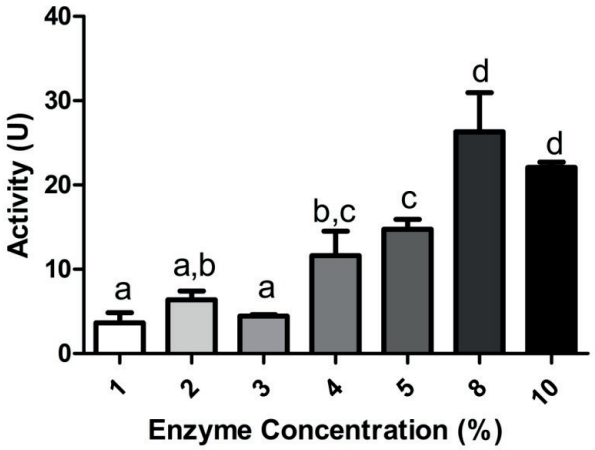
(2014) utilizaram a frutosiltransferase imobilizada em alginato de cálcio para a produção de frutooligossacarídeos. A mais atividade elevada da frutosiltransferase foi alcançada usando uma solução de 3% de alginato de sódio e 1% de cloreto de cálcio. De acordo com os autores, aumentando-se a concentração de alginato acima de 3%, se causaria um aumento na interação entre os sítios ativos da enzima e do alginato, resultando em sua baixa atividade.

Otimização dos parâmetros usados no processo de encapsulamento

Todos os parâmetros foram definidos em seus valores mínimos para o processo de encapsulamento, exceto para a concentração de cloreto de cálcio O uso dos valores mínimos resultou no uso de menor quantidade de reagente e menor tempo de reação. Soluções de alginato sódio com concentração acima de 2% são muito viscosas tornando-se difícil seu bombeamento. De acordo com Lee et al. (2000), os hidrogéis de alginato podem diminuir até 60% de sua resistência mecânica inicial quando expostos por mais de 15 horas em soluções tampão fisiológicas, o que foi atribuído à perda de íons divalentes pela troca com íons monovalentes presentes na solução. Portanto, foram utilizados a para otimização, solução de alginato de sódio a 1%, solução de cloreto de cálcio 0,5 M e tempo de reação de 30 min. Para a otimização do processo de formação das cápsulas, concentrações de enzima variando de 1 a 10% foram utilizadas.

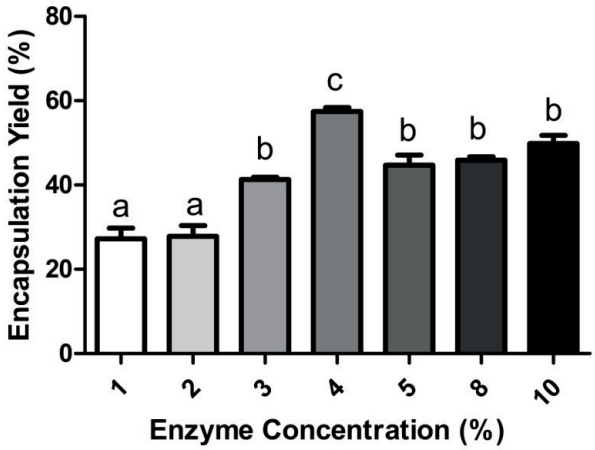
Quanto maior for a concentração de enzima utilizada no processo de encapsulamento, maior foi a atividade apresentada pela enzima encapsulada (Figura 1A). O aumento da atividade é, possivelmente, devido ao acúmulo de enzima na superfície e nos poros da cápsula de alginato de cálcio. Aumentando-se a concentração de enzima na formação de cápsulas de alginato de cálcio resultou em encapsulamento aumentando o rendimento na concentração de 4% (Figura 1B). A partir deste valor, ocorreu diminuição no rendimento ($p \leq 0,05$) devido ao fato de que maiores concentrações levariam a uma maior perda de enzimas para o cloreto de cálcio solução durante o gotejamento. Busto et al. (2006) imobilizaram pectinases comerciais em cápsulas de alginato de cálcio por adsorção. Os maiores rendimentos de imobilização foram obtidos quando 1,2% da enzima foi utilizada. De acordo com os autores, em concentrações mais elevadas, existe uma competição das enzimas pelo mesmos sítios de ligação. Comparando-se as duas variáveis dependentes analisadas (pectinase atividade e rendimento de encapsulamento), a concentração de 4% foi considerada ideal para a enzima comercial no processo de formação das cápsulas.

Figura 1. Atividade da enzima Pectinex® Ultra Clear. Uma unidade de atividade corresponde a formação de 1 µg de ácido galacturônico / min de reação. Letras iguais não diferem significativamente entre si a um nível de confiaça de $p < 0.05$.



O aumento da concentração da enzima na formação das cápsulas de alginato de cálcio resultou em aumento do rendimento de encapsulação para a concentração de 4% (Figura 1B). A partir desse valor, ocorreu uma diminuição no rendimento ($p \leq 0,05$) porque as concentrações levariam a uma maior perda de enzimas para a solução de cloreto de cálcio durante o gotejamento.

Figura 1. Rendimento da enzyma Pectinex® Ultra Clear encapsulada em alginato de cálcio em diferentes concentrações de enzima durante sua preparação. Uma unidade de atividade representa a formação de 1 µg de ácido poligaracturônico/ minuto de reação. Letras iguais não diferem significativamente entre si a um nível de confiaça de $p < 0.05$.

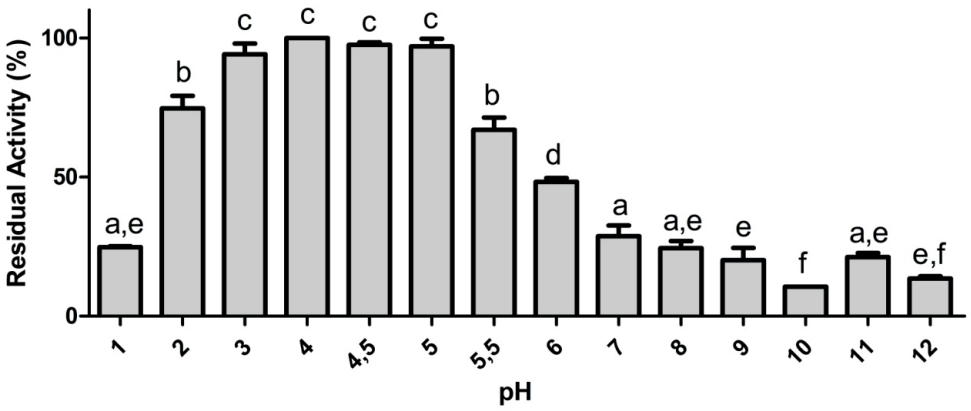


Busto et al. (2006) imobilizaram pectinases comerciais em cápsulas de alginato de cálcio por adsorção. Os maiores rendimentos de imobilização foram obtidos quando 1,2% da enzima foi utilizada. Segundo os autores, em concentrações mais elevadas, há competição das enzimas pelos mesmos sítios de ligação. Comparando as duas variáveis dependentes analisadas (atividade da pectinase e rendimento de encapsulamento), a concentração de 4% foi considerada ótima para a enzima comercial no processo de formação das cápsulas.

Efeito do pH e da temperatura na atividade da enzima comercial Pectinex Ultra Clear livre

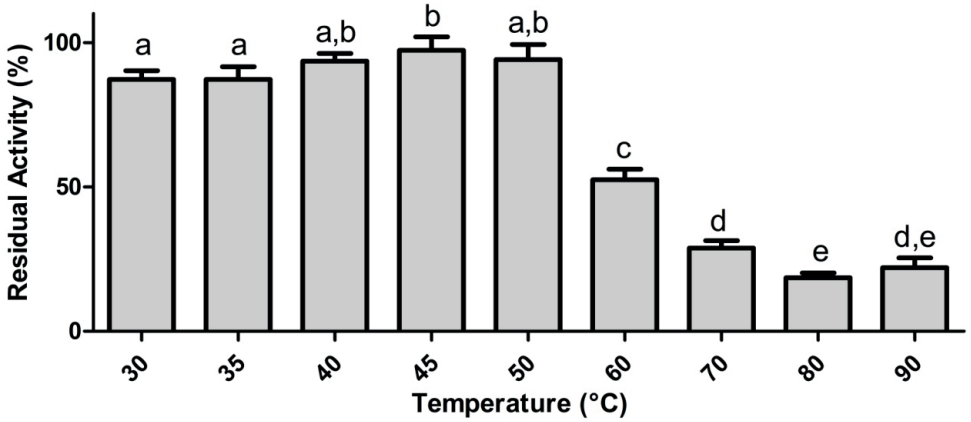
A enzima comercial Pectinex Ultra Clear livre mostrou um pH ótimo de atividade entre 3 e 5 (Figura 2A). A atividade de pectinase, entre esses valores, não foi significativamente diferente no nível de confiança $p \leq 0,05$. A enzima comercial Pectinex Ultra Clear livre mostrou uma faixa de temperatura de atividade ideal entre 40 e 50 ° C (Figura 2B). Durante as análises subsequentes de atividade, a temperatura foi de 40 ° C. Quanto mais baixa for a temperatura, menor a alteração dos componentes do meio, como vitaminas, pigmentos e compostos aromáticos.

Figura 2. Efeito do pH na atividade da enzima livre Pectinex Ultra Clear. Letras iguais não diferem significativamente entre si no nível de confiança p <0,05.



Ahmed et al. (2016) purificando a pectinase de *Aspegillus niger* obteve pH ótimo de 5,0 e temperatura ótima de 50 ° C de atividade enzimática. Poligalacturonase purificada de *Penicillium veridicatum* apresentou um pH ótimo de 5,0 e temperatura ótima de 55 ° C (Silva et al., 2002).

Figura 2. Efeito da temperatura sobre a atividade da enzima livre Pectinex Ultra Clear. Letras iguais não diferem significativamente entre si no nível de confiança p <0,05. pH e estabilidade térmica da enzima comercial Pectinex Ultra Clear



A enzima Pectinex Ultra Clear comercial livre teve estabilidade de pH entre 2 e 6 e entre 9 e 10 (Figura 3A). Amostras de enzimas encapsuladas e livres foram armazenadas em tampão citrato-fosfato pH 4,0. As duas faixas distintas de estabilidade de pH observadas na Figura 3A podem indicar a presença de isoenzimas na pectinase comercial. A enzima comercial Pectinex Ultra Clear livre teve estabilidade térmica entre 30 e 45 ° C após 1 h de incubação (Figura 3B). Pectinases de *Penicillium viridicatum* RFC3 produzidas por processo fermentativo em estado sólido (Silva et al., 2002) mostraram estabilidade em pHs entre 5,0 e 8,0 e nas temperaturas entre 30 e 40 ° C para a atividade da poligalacturonase.

Figura 3. Estabilidade de pH da enzima comercial Pectinex® Ultra Clear livre. Letras iguais não diferem significativamente umas das outras no nível de confiança p <0,05.

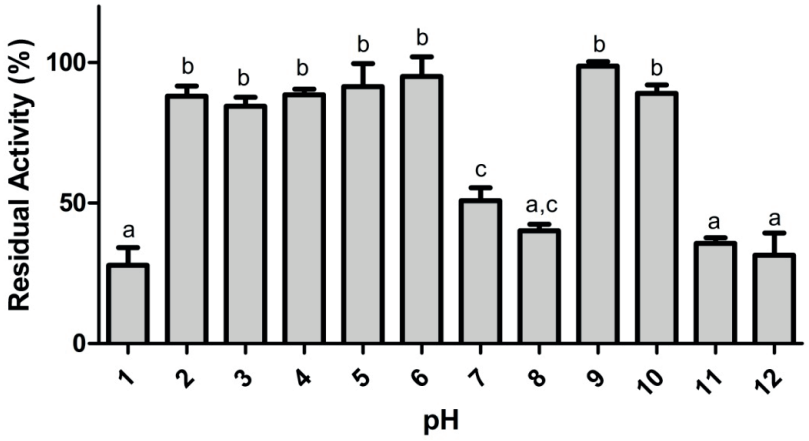
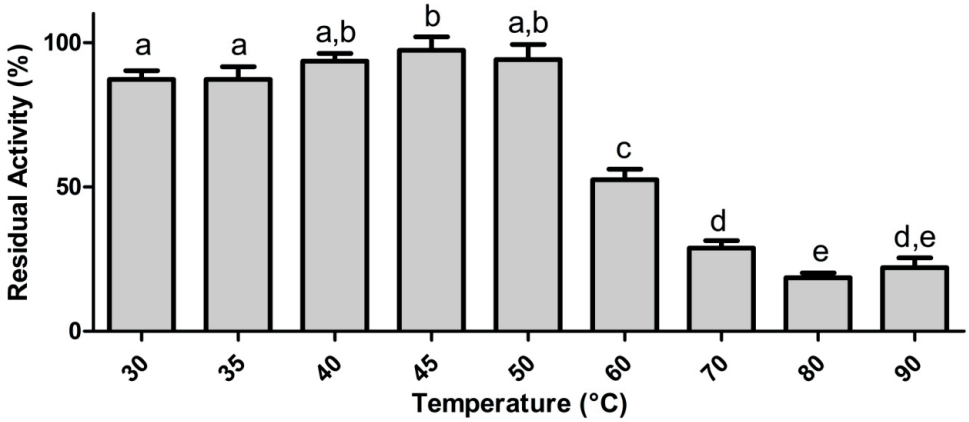


Figura 3. Estabilidade térmica da enzima comercial Pectinex® Ultra Clear livre. Letras iguais não diferem significativamente umas das outras no nível de confiança p <0,05.

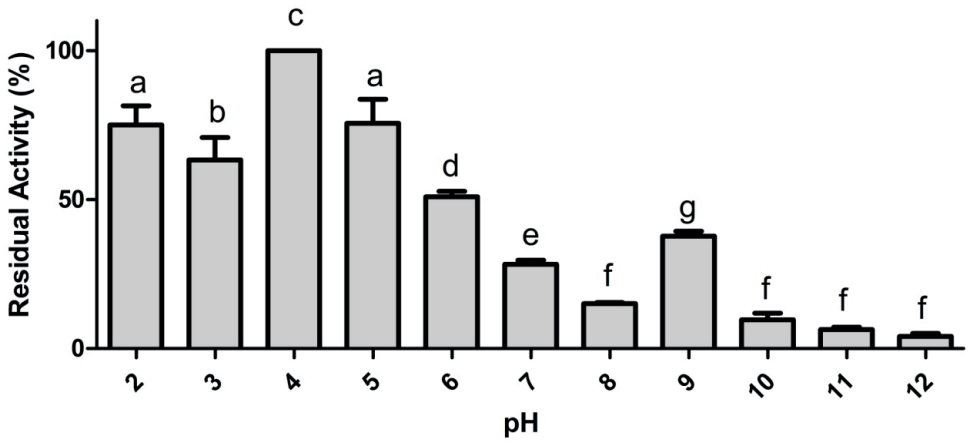


Efeito da temperatura e do pH na atividade da enzima Pectinex Ultra Clear encapsulada

Após a definição dos parâmetros utilizados no processo de encapsulação da enzima, foi realizada uma caracterização do pH e da temperatura ótima e estabilidade para comparação com os resultados obtidos com a enzima livre.

Após o encapsulamento, a enzima mostrou estreitamento na faixa de atividade de pH ideal. A enzima encapsulada apresentou maior atividade em pH 4,0 (Figura 4A) enquanto o a enzima livre variou de 3,0 a 5,0 (Figura 2A). É possível que a proximidade da enzima à superfície carregada negativamente do alginato tenha causado uma mudança na ionização do sítio ativo da enzima e/ou na conformação do substrato, fazendo uma adaptação enzima-substrato altamente eficiente apenas em pH 4,0 (Garg & Kumar, 2008). De forma geral, tanto a enzima livre quanto a encapsulada mostraram padrões semelhantes. Ambas as enzimas apresentaram uma redução acentuada da atividade em pH 6,0.

Figura 4. Efeito do pH sobre a atividade da enzima Pectinex® Ultra Clear encapsulada. Letras iguais não deferem, significativamente, ao nível de confiança de p <0.05.



Outros autores não observaram diferença entre os pHs ideais da enzima livre e encapsulada. Anwar et al. (2009), imobilizando protease de *Baciilus subtilis* KOBGE-SAH em alginato de cálcio, observaram que não havia diferença entre o pH ótimo (pH 7,5) das enzimas livres e encapsuladas. De acordo com Rehman et al. (2013), a imobilização da pectinase de *Bacillus licheniformis* KIBGE-IB21 em alginato de cálcio, não alterou o pH ideal da enzima, que era igual a 10,0. Segundo os autores, a enzima livre foi mais afetada pela mudança de pH em valores abaixo de 7,0 devido a maior estabilidade conformacional alcançada pela enzima imobilizada dentro da rede do polímero de alginato de cálcio.

Tal como aconteceu com a Pectinex Ultra Clear livre, a enzima encapsulada teve a maior atividade entre 40 e 50 ° C (Figura 4B). A partir de 70 ° C, tanto a enzima livre quanto a encapsulada apresentaram redução significativa ($p \leq 0,05$) de suas atividades. Outros autores também não encontraram qualquer diferença entre a temperatura ótima da enzima livre e daquela encapsulada. Busto et al. (2006) não observaram diferença entre a temperatura ótima de 55 ° C ao usar a pectinase Rapidase C80 livre e encapsulada em alginato de cálcio, relatando que a enzima livre manteve 80% de sua atividade máxima em uma faixa de temperatura (37-80 ° C) superior a encapsulada (45-70° C). Arya & Srivastava (2006) reportaram que após a imobilização de CGTase (ciclodextrina gliconotransferase) produzida

por *Bacillus macerans* ATCC 8244, em alginato de cálcio, não houve qualquer variação da temperatura ótima de atividade em relação a enzima livre que era 60 ° C. Os autores também relataram que o padrão de enzima imobilizada com a variação de temperatura foi muito semelhante à enzima livre, como ocorreu no presente trabalho.

No entanto, Rehman et al. (2013) observaram variação da temperatura ótima de atividade após a imobilização de pectinase *de Bacillus licheniformis* KIBGE-IB21, em cálcio alginato de 45 ° C, apresentado pela enzima livre, a 55 ° C. O aumento de temperatura ideal para a enzima encapsulada pode ser devido à limitação física da enzima que causou um aumento na energia de ativação necessária para o substrato se ligar ao sítio ativo da enzima imobilizada. **pH e estabilidade térmica de Pectinex Ultra Clear encapsulada**

A enzima Pectinex Ultra Clear encapsulada apresentou maior estabilidade em pH 3,0 (Figura 5A). A enzima livre tinha um pH de estabilidade entre 2 e 6 e, entre 9 e 10 (Figura 3A). A enzima encapsulada manteve 70% de sua atividade máxima na faixa de pH estudada (2 a 12), diferentemente da enzima livre, apresentando maior estabilidade de pH após a imobilização.

A Pectinex Ultra Clear encapsulada apresentou maior estabilidade térmica a 40 ° C (Figura 5B) enquanto a enzima livre mostrou faixa de temperatura entre 30 e 40 ° C (Figura 3B). A enzima encapsulada manteve 55,8% de sua atividade máxima a 50 ° C enquanto a enzima livre 41,1%. A partir de 60 ° C, as duas formas tiveram uma redução drástica em sua atividade (abaixo de 20%).

Figura 4. Efeito da temperatura sobre a atividade da enzima Pectinex® Ultra Clear encapsulada. Letras iguais não deferem significativamente ao nível de confiança de p <0.05.

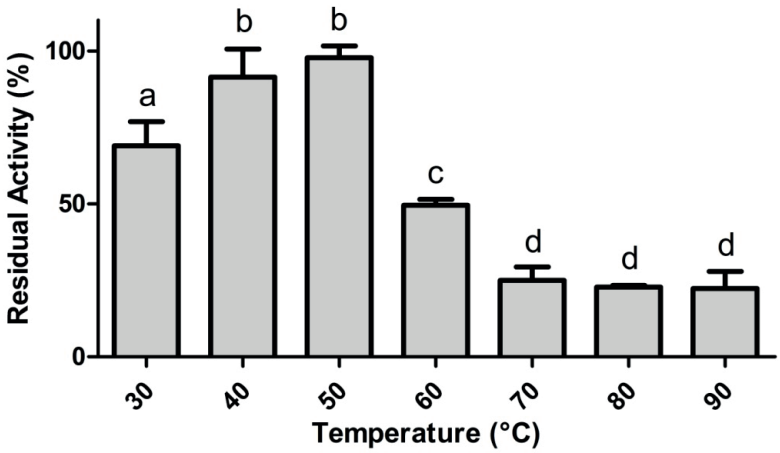
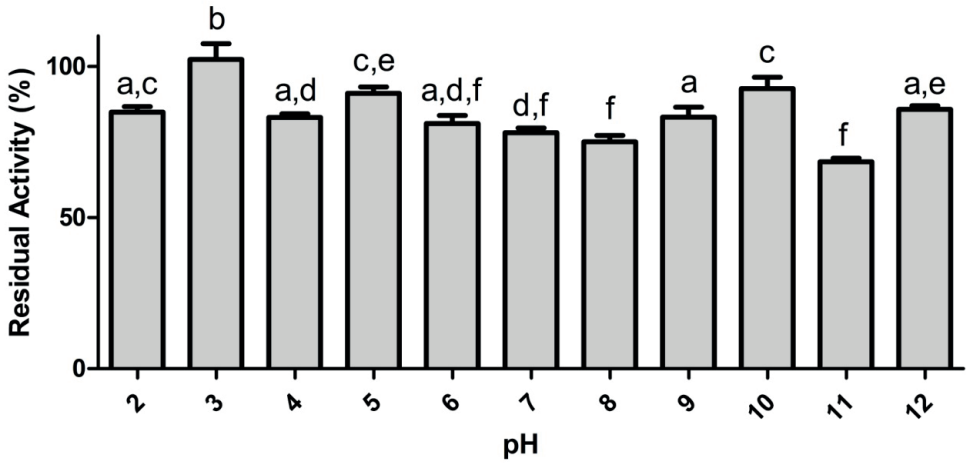
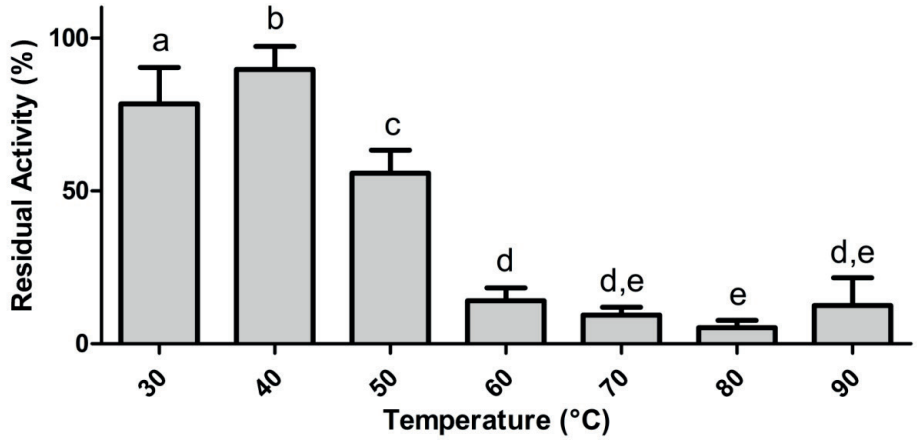


Figura 5. Efeito do pH na estabilidade da enzima Pectinex® Ultra Clear encapsulada. Letras iguais não diferem significativamente umas das outras no nível de confiança p <0,05.



Com os resultados obtidos pode-se afirmar que o encapsulamento não aumentou a estabilidade da enzima de acordo com o aumento da temperatura. Ramirez et al. (2013) reportaram aumento da estabilidade térmica de Pectinase de *Aspergillus niger* após encapsulamento por adsorção em alginato de cálcio e quitina. Verificaram que as enzimas, livre e encapsulada mantiveram sua atividade máxima até 40 ° C e 50 ° C, respectivamente. A enzima livre, foi inativada a 60 ° C, enquanto a enzima encapsulada ainda manteve 25% de sua atividade.

Figura 5. Efeito da temperatura na estabilidade da enzima Pectinex® Ultra Clear encapsulada. Letras iguais não diferem significativamente umas das outras no nível de confiança p <0,05.



CONCLUSÃO

A imobilização da enzima Pectinex Ultra Clear, por encapsulamento em alginato de cálcio, foi eficiente. Na otimização do encapsulamento, a única variável significativa foi a concentração enzimática. O melhor rendimento de imobilização foi obtido com uma solução

enzimática de 4%. As outras condições para imobilização da enzima foram concentração de 2% de alginato de sódio, cloreto de cálcio de 0,5M e tempo de reação de 30 min. As características da enzima encapsulada foram semelhantes às da enzima livre, apresentando apenas diferenças em relação ao estreitamento ideal da faixa de pH (4) e aumento da estabilidade nas faixas de pH entre 7 e 8 e acima de 10 a 12.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos mostraram-se promissores e aplicáveis para aa hidrólise enzimática em diferentes tipos de alimentos, principalmente, em indústrias de polpas e sucos de frutas.

REFERÊNCIAS

1. Ahmed, I., Zia, M. A., Hussain, M. A., Akram, Z., Naveed, M. T., & Nowrouzi, A. (2016). Bioprocessing of citrus waste peel for induced pectinase production by *Aspergillus niger*; its purification and characterization. Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 9(2), 148-154. http://dx.doi.org/10.1016/j.jrras.2015.11.003.https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.11.003

2. Anwar, A., Qader, S. A. U., Raiz, A., Iqbal, S., & Azhar, A. (2009). Calcium alginate: a support material for immobilization of proteases from newly isolated strain of *Bacillus subtilis* KIBGE--HAS. World Applied Sciences Journal, 7(10), 1281-1286.

3. Arya, S. K., & Srivastava, S. K. (2006). Kinetics of immobilized cyclodextrin gluconotransferase produced by *Bacillus macerans* ATCC 8244. Enzyme and Microbial Technology, 39(3), 507-510. http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.12.019.

4. Busto, M. D., García-Tramontín, K. E., Ortega, N., & Perez-Mateos, M. (2006). Preparation and properties of an immobilized pectinlyase for the treatment of fruit juices. Bioresource Technology, 97(13), 1477-1483. http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2005.06.013. PMid:16102964.

5. Cardoso, F. S. N., Koblitz, M. G. B., Ramos, M. F. S., Dellamora Ortiz, G. M., & Carvalho, L. M. J. (2014). Avaliação preliminar do uso de enzimas comerciais na clarificação de polpa de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.). In CIBIA9 Congresso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos: Vol. 1 (pp. 246-254). Valencia: Editorial Universitat Politècnica de València, Espanha.

6. Ganaie, M. A., Rawat, H. K., Wani, O. A., Gupta, U. S., & Kango, N. (2014). Immobilization of fructosyltransferase by chitosan and alginate for efficient production of fructooligosaccharides. Process Biochemistry, 49(5), 840-844. http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2014.01.026.

7. Garg, N., & Kumar, A. (2008). Immobilization of starch phosphorylase from cabbage leaves: production of glucose-1-phosphate. Brazilian Journal of Chemical Engineering, 25(2), 229-235. http://dx.doi. org/10.1590/S0104-66322008000200002.

8. Gummadi, S. N., & Panda, T. (2003). Purification and biochemical properties of microbial pectinases—a review. Process Biochemistry (Barking, London, England), 38(7), 987-996. http://dx.doi.org/10.1016/ S0032-9592(02)00203-0.

9. Kashyap, D. R., Vohra, P. K., Chopra, S., & Tewari, R. (2001). Applications of pectinases in the commercial sector: a review. Bioresource Technology, 77(3), 215-227. http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00118-8. PMid:11272008.

10. Krajewska, B. (2004). Application of chitin- and chitosan-basedmaterials for enzyme immobilizations: a review. Enzyme and Microbial Technology, 35(2-3), 126-139. http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2003.12.013.

11. Lee, K. Y., Rowley, J. A., Eiselt, P., Moy, E. M., Bouhadir, K. H., & Mooney, D. J. (2000). Controlling mechanical and swelling properties of alginate hydrogels independently by cross-linker type and crosslinking density. Macromolecules, 33(11), 4291-4294. http://dx.doi. org/10.1021/ma9921347.

12. Lei, M., Hu, D., Yang, H., & Lei, Z. (2015). Preparation and characterization of hollow magnetic composite nanoparticles for immobilized pectinase. Surface and Coatings Technology, 271, 2-7. http://dx.doi.org/10.1016/j.surfcoat.2015.02.018.

13. Li, T., Wang, N., Li, S., Zhao, Q., Guo, M., & Zhang, C. (2007). Optimization of covalent immobilization of pectinase on sodium alginate support. Biotechnology Letters, 29(9), 1413-1416. http://dx.doi.org/10.1007/ s10529-007-9409-3. PMid:17541760.

14. Mohamad, N. R., Marzuki, N. H. C., Buang, N. A., Huyop, F., & Wahab, R. A. (2015). An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 29(2), 205-220. http://dx.doi.org/10.1080/13102818.2015.1008192. PMID: 26019635.

15. Oliveira, R. Q., Valasques, G. L. Jr., Uetanabaro, A. P. T., Koblitz, M.G. B., Góes-Neto, A., Rosa, C. A., & Assis, S. A. (2012). Influence of carbon source, pH, and temperature on the polygalacturonase activity of *Kluyveromyces marxianus* CCMB 322. Food Science and Technology (Campinas), 32(3), 499-504. http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612012005000087.

16. Ramirez, H., Briones, A. I., Úbeda, J., & Arevalo, M. (2013). Immobilization of pectinase by adsorption on an alginate-coated chitin support. Biotecnología Aplicada, 30(2), 101-104.

17. Rehman, H. U., Aman, A., Silipo, A., Qader, S. A., Molinaro, A., & Ansari, A. (2013). Degradation of complex carbohydrate: Immobilization of pectinase from *Bacillus licheniformis* KIBGE-IB21 using calcium alginate as a support. Food Chemistry, 139(1-4), 1081-1086. http:// dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.069. PMid:23561212.

18. Rehman, H. U., Nawaz, M. A., Aman, A., Baloch, A. H., & Qader, S. A. U. (2014). Immobilization of pectinase from *Bacillus licheniformis* KIBGE-IB21 on chitosan beads for continuous degradation of pectin polymers. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 3(4), 282-287. http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2014.09.003.

19. Rodrigues, M. R., & Iemma, A. F. (2005). Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamento. Campinas: Casa do Pão Editora.

20. Silva, D., Martins, E. S., Silva, R., & Gomes, E. (2002). Pectinase production by Penicillium viridicatum RFC3 by solid state fermentation using agricultural wastes and agro-industrial by-products. Brazilian Journal of Microbiology, 33(4), 318-324. http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822002000400008.

23

Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) – Uma revisão

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

10.37885/201102210

RESUMO

Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é uma fruta nativa do Brasil e pode ser encontrada nas regiões da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. É rica em compostos fenólicos e carotenoides e por isso possui alta capacidade antioxidante. O óleo presente na polpa e na amêndoa possui alto teor lipídico e é composto majoritariamente por ácidos graxos monoinsaturados (ácido oleico - 55 % (óleo da polpa) e 42 % (óleo da amêndoa)). A polpa da fruta é utilizada na preparação de sucos, sorvetes, licores, doces e principalmente nos pratos tradicionais brasileiros. A amêndoa pode ser consumida fresca ou usada para a preparação de bolos e condimentos. A casca, que é formada pelo exocarpo e o mesocarpo externo, é rica em fibra alimentar e normalmente é utilizada para produzir farinha. Essa farinha pode ser usada na preparação de produtos de panificação. Da casca também é retirada a pectina para a produção de geleias. Pesquisas *in vivo* revelam que o pequi está relacionado à prevenção de doenças cardiovasculares, relacionadas ao estresse oxidativo e câncer, tem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Além de ter potencial para a indústria alimentícia, também pode ser usado na fabricação de produtos farmacêuticos (devido ao caráter antimicrobiano) e cosméticos (sabonetes e cremes). Assim, por ser uma fruta nutritiva e rica em compostos bioativos traz muitos benefícios ao ser consumida, além de grande potencial no desenvolvimento de novos produtos.

Palavras-chave: Óleo de Pequi, Fruta Brasileira, Prevenção de Doenças Crônicas, Antioxidante, Compostos Bioativos

INTRODUÇÃO

No Brasil existem diferentes tipos de terras e climas que resultam em uma grande diversidade de espécies distribuídas em torno dos seus biomas (LISBOA et al., 2020). O pequi é uma fruta nativa do Brasil e é encontrada nas regiões da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (GUEDES; ANTONIASSI; DE FARIA-MACHADO, 2017). Os frutos do pequi são uma importante opção de renda e alimentação para as populações que vivem nessas regiões (ROESLER; LORENCINI; PASTORE, 2010).

É uma fruta rica em compostos antioxidantes, como carotenoides e substâncias fenólicas (MACHADO; MELLO; HUBINGER, 2015). A porção lipídica presente na polpa e na semente (ou amêndoa) possui maior porcentagem de ácidos graxos monoinsaturados, mais especificamente o ácido oleico (C18:1). Pesquisas *in vivo* com o pequi têm demonstrado efeitos antioxidantes, antiinflamatórios, cardioprotetores, hepatoprotetores, antigenotóxicos e anticarcinogênicos (NASCIMENTO-SILVA; NAVES, 2019).

As partes do pequi tem potencial para ser utilizado pela indústria farmacêutica (BAPTISTA et al., 2018), cosmética (AMARAL et al., 2014), alimentícia (LEÃO et al., 2018) e de biorrefinaria (BORGES et al., 2020; SCAPIN et al., 2020).

PEQUI (CA*RYOCAR BRASILIENSE C*AMB.)

O pequi é uma planta arbórea (8–12 m) pertencente à família Caryocaraceae, com diversas espécies, sendo *Caryiocar brasiliense* Cambess a mais comum (RIBEIRO et al., 2018). O fruto obtido, chamado de pequi (palavra indígena que significa “coberto de espinhos”), também é conhecido popularmente como, piqui, pequiá, amêndoa de espinho, grão de cavalo ou amêndoa do Brasil (SOUSA et al., 2017).

Os frutos de pequi são constituídos por (detalhamento da parte externa para a parte interna – Figura 1): (a) exocarpo, também chamado de pericarpo (casca), que possui coloração esverdeada ou marrom-esverdeada; (b) mesocarpo externo, com coloração amarela claro; (c) mesocarpo interno, uma das porções comestíveis do fruto (polpa), tendo coloração amarelada, e facilmente se separa do mesocarpo externo quando amadurece; (d) endocarpo, que tem coloração vermelha, é espinhoso e protege a semente (ou amêndoa) e (e) a amêndoa que possui coloração branca e também é uma porção comestível, sendo revestida por um tegumento fino e marrom. A fruta contém, normalmente, entre um a quatro putâmens, popularmente chamados de caroços (DE LIMA et al., 2007). Costuma ser comercializado inteiro ou na forma de polpa conservada em lata. No processamento, a casca, composta por exocarpo e mesocarpo externo, costuma ser descartada e corresponde a aproximadamente 80% da massa total do fruto (LEÃO et al., 2017).

Figura 1. Representação fotográfica do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.).

Fonte: Autor.

Polpa

A fruta é cozida antes do consumo e é utilizado na preparação de sucos, sorvetes, licores, doces e principalmente nos pratos tradicionais famosos em todo o Brasil (arroz, feijão e frango com pequi) (MACHADO; MELLO; HUBINGER, 2013). A polpa é rica em compostos bioativos, como, carotenoides e compostos fenólicos, e, com isso, possui alta capacidade antioxidante (DO NASCIMENTO et al., 2017). Ademais, a polpa contém aproximadamente 30 % de óleo comestível, 10 % de fibra alimentar total e 3 % de proteínas (DE LIMA et al., 2007; LOPES et al., 2012). No entanto, quando a polpa passa primeiramente pelo processo de secagem, apresenta maior rendimento do óleo (52 a 59 %, base seca) (AQUINO et al., 2009). Apresenta o predomínio de ácidos graxos insaturados (61,35 %) e 37,97 % de ácidos graxos saturados. O ácido oleico (C18:1) está presente em maior concentração na polpa, com 55,87 %, sendo seguido pelo ácido palmítico (C16:0 - 35,17 %) (DE LIMA et al., 2007). Um estudo mais recente mostrou resultados semelhantes (FARIA-MACHADO et al., 2015). Também é fonte de ferro, zinco, magnésio e cálcio (ALVES et al., 2014).

Devido à presença dos ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides, está associado à prevenção de doenças cardiovasculares (OLIVEIRA et al., 2017), aterosclerose (MARINHO AGUIAR et al., 2020), câncer (OMBREDANE et al., 2020), é eficaz na contenção de crescimento tumoral e reduz os efeitos colaterais induzidos pela quimioterapia (MIRANDA-VILELA et al., 2014). Também tem efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios *in vivo*, oferecendo proteção contra anemia, inflamação e estresse oxidativo relacionados ao envelhecimento e, consequentemente, ajudando na prevenção de doenças relacionadas (ROLL et al., 2018).

O óleo da polpa de pequi pode ser utilizado em formulações cosméticas na forma de emulsão, uma vez que se mostrou livre de toxicidade. Além disso, o creme enriquecido com o óleo apresentou alta concentração de compostos fenólicos, propriedades antioxidantes e fotoprotetoras (PEGORIN et al., 2020).

Os óleos essenciais presentes na polpa do pequi conferem o forte sabor e odor característico, e a sua composição pode variar de acordo com os fatores geográficos e / ou genéticos (GEOCZE et al., 2013).

Amêndoa

A amêndoa do pequi apresenta alto teor lipídico (55,76 %), com a presença de ácidos graxos insaturados (52, 63 %) e saturados (41,34 %), e 29,24 % de proteínas. Os principais ácidos graxos que compõem esse óleo são o ácido oleico (C18:1 - 42,47 %), palmítico (C16:0 - 39,49 %) e ácido linoleico (C18:2 - 10,17 %) (LIMA et al., 2020). Também possui potássio, magnésio, zinco e ferro (ARAÚJO et al., 2018). Pode ser torrada para a produção de óleo ou pode ser consumida fresca e usada como ingrediente culinário para a preparação de bolos e condimentos (TORRES et al., 2016b).

Um estudo feito por Torres et al. (2016a) mostrou que o óleo da amêndoa do pequi apresenta propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes *in vivo*. Esses efeitos foram mais pronunciados em animais que receberam óleo prensado a frio e maior dose de óleo artesanal. Essa pesquisa também mostrou que além de conter uma maior quantidade de ácidos graxos monoinsaturados, esse óleo contém compostos fenólicos, tocoferóis e fitoesteróis. Além disso, também está relacionado à prevenção de doenças cardiovasculares (AJITH; JAYAKUMAR, 2019).

Casca - subproduto

A casca do fruto, composta pelo exocarpo e mesocarpo externo, é considerada subproduto do processamento da fruta, sendo geralmente descartada (SIQUEIRA et al., 2013). No entanto, possui alto teor de compostos bioativos e é rica em fibras alimentares. Apresenta atividade sequestradora de radicais livres e alto potencial para inibir a peroxidação lipídica. Essa alta capacidade antioxidante pode estar relacionada principalmente a presença de componentes fenólicos como ácido gálico (componente majoritário), ácido quínico, quercetina e quercetina 3- *O.*-arabinose (ROCHA et al., 2015; ROESLER et al., 2008). E, além disso, também possui atividade antimicrobiana (MOREIRA et al., 2019).

A transformação desse subproduto em farinhas promove a redução do teor de água livre e, assim, impede reações químicas e microbiológicas, aumentando a vida útil e a segurança do produto como ingrediente alimentar e aumentam a concentração dos componentes

nutricionais (SOQUETTA et al., 2016). Polifenóis totais, proantocianidinas não extraíveis e conteúdo de carotenoides das farinhas foram determinados por Leão et al. (2017). As capacidades antioxidantes das farinhas do subproduto do pequi foram consideradas maiores do que os de frutas e subprodutos de frutas relatados na literatura. Assim, a farinha feita da casca do pequi mostrou ser promissora como fonte potencial de fibra alimentar, antioxidantes naturais, carboidratos, magnésio, cálcio e baixos teores de sódio (BEMFEITO et al., 2020; SOARES JÚNIOR et al., 2010). A farinha é utilizada para fazer biscoitos (SOARES et al., 2009) e a pectina retirada da casca é utilizada para fazer geleias (LIMA et al., 2017).

A combinação de quitosana e extrato de casca de pequi na proporção 4:1 (m / m) apresentou benefícios promissores na formação de coberturas comestíveis adequadas para atuar na preservação da qualidade de tomate fresco evitando o desenvolvimento de doenças fúngicas e, assim, manter os parâmetros relacionados à qualidade durante o armazenamento pós-colheita (BREDA et al., 2017).

Extratos etanólicos do exocarpo e do mesocarpo externo do pequi têm demonstrado possível atividade terapêutica de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (MENDES et al., 2015) e mostrou ser eficiente em minimizar os efeitos da cardiotoxicidade crônica (MOURA et al., 2017).

CONCLUSÃO

O pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), uma fruta nativa brasileira, apresenta alto valor nutricional. Dependendo da parte consumida, pode conter alto teor de ácidos graxos monoinsaturados, proteínas ou fibra alimentar. Apresenta quantidades relevantes de compostos fenólicos e carotenoides. O seu consumo pode contribuir para a promoção da saúde e prevenção de doenças crônicas. Além de ser utilizado como fonte alimentar, também pode ser usado no desenvolvimento de produtos farmacêuticos e cosméticos devido ao seu potencial antibacteriano, antifúngico e antioxidante. Portanto, levando em conta todos esses fatores, o pequi pode ser considerado como uma fruta excelente para o consumo e para aplicações industriais.

REFERÊNCIAS

1. AJITH, T. A.; JAYAKUMAR, T. G. Omega-3 fatty acids in coronary heart disease: Recent updates and future perspectives. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 46, n. 1, p. 11–18, 16 jan. 2019.

2. ALVES, A. M. et al. Características físicas e nutricionais de pequis oriundos dos estados de Tocantins, Goiás e Minas Gerais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 3, p. 198–203, set. 2014.

3. AMARAL, L. F. B. et al. Caryocar brasiliense supercritical CO2 extract possesses antimicrobial and antioxidant properties useful for personal care products. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 1, p. 73, 24 fev. 2014.

4. AQUINO, L. P. et al. Influência da secagem do pequi (Caryocar brasiliense Camb.) na qualidade do óleo extraído. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 354–357, 2009.

5. ARAÚJO, A. C. M. A. et al. Bioactive compounds and chemical composition of Brazilian Cerrado fruits' wastes: Pequi almonds, murici, and sweet passionfruit seeds. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 203–214, 1 dez. 2018.

6. BAPTISTA, A. et al. **Antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts and fractions of cashew (Anacardium occidentale L.), caju (Anacardium microcarpum), and pequi (Caryocar brasiliense C.): A systematic reviewOxidative Medicine and Cellular Longevity**Hindawi Limited, , 2018.

7. BEMFEITO, C. M. et al. Nutritional and functional potential of pumpkin (Cucurbita moschata) pulp and pequi (Caryocar brasiliense Camb.) peel flours. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 10, p. 3920–3925, 1 out. 2020.

8. BORGES, M. S. et al. Evaluation of residual biomass produced in Cerrado Tocantinense as potential raw biomass for biorefinery. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1–12, 28 jul. 2020.

9. BREDA, C. A. et al. Effect of chitosan coating enriched with pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) peel extract on quality and safety of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) during storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 6, p. e13268, 1 dez. 2017.

10. DE LIMA, A. et al. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (Caryocar brasiliense, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695–698, dez. 2007.

11. DO NASCIMENTO, N. R. R. et al. Liofilização e embalagens protegidas da luz preservam a capacidade antioxidante da polpa de pequi (Caryocar brasiliense camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 1, 2017.

12. FARIA-MACHADO, A. F. et al. Discrimination of Pulp Oil and Kernel Oil from Pequi (Caryocar brasiliense) by Fatty Acid Methyl Esters Fingerprinting, Using GC-FID and Multivariate Analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 45, p. 10064–10069, 27 out. 2015.

13. GEOCZE, K. C. et al. Essential oils from pequi fruits from the Brazilian Cerrado ecosystem. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 1–8, 1 nov. 2013.

14. GUEDES, A. M. M.; ANTONIASSI, R.; DE FARIA-MACHADO, A. F. Pequi: A Brazilian fruit with potential uses for the fat industry. **OCL - Oilseeds and fats, Crops and Lipids**, v. 24, n. 5, p. D507, 1 set. 2017.

15. LEÃO, D. P. et al. Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (Caryocar brasilense Camb.) fruit by-products. **Food Chemistry**, v. 225, p. 146–153, 15 jun. 2017.

16. LEÃO, D. P. et al. Potential of pequi (Caryocar brasiliense Camb.) peels as sources of highly esterified pectins obtained by microwave assisted extraction. **LWT - Food Science and Technology**, v. 87, p. 575–580, 1 jan. 2018.

17. LIMA, C. M. G. et al. Aceitabilidade de geleia de pimenta dedo-de-moça com pectina da casca do pequi. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 3, n. 6, p. 0786–0791, 29 ago. 2017.

18. LIMA, J. R. et al. Pequi kernel oil extraction by hydraulic pressing and its characterization. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 42, n. 5, p. 1–6, 2020.

19. LISBOA, M. C. et al. **Oleochemistry potential from Brazil northeastern exotic plantsBiochimie**Elsevier B.V., , 1 nov. 2020.

20. LOPES, R. M. et al. Composição de Ácidos Graxos em Polpa de Frutas Nativas do Cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 635–640, jun. 2012.

21. MACHADO, M. T. C.; MELLO, B. C. B. S.; HUBINGER, M. D. Study of alcoholic and aqueous extraction of pequi (Caryocar brasiliense Camb.) natural antioxidants and extracts concentration by nanofiltration. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 450–457, 1 ago. 2013.

22. MACHADO, M. T. C.; MELLO, B. C. B. S.; HUBINGER, M. D. Evaluation of pequi (Caryocar Brasiliense Camb.) aqueous extract quality processed by membranes. **Food and Bioproducts Processing**, v. 95, p. 304–312, 1 jul. 2015.

23. MARINHO AGUIAR, L. et al. Non-nutrients and nutrients from Latin American fruits for the prevention of cardiovascular diseases. **Food Research International**, p. 109844, 27 out. 2020.

24. MENDES, F. F. et al. PEQUI (Caryocar brasiliense) extract alters mitogen-regulated kinase activation in brain ischaemia and reperfusion injury in rats fed a high-calorie diet. **Journal of Comparative Pathology**, v. 152, n. 1, p. 78, 1 jan. 2015.

25. MIRANDA-VILELA, A. L. et al. Oil rich in carotenoids instead of vitamins C and E as a better option to reduce doxorubicin-induced damage to normal cells of Ehrlich tumor-bearing mice: Hematological, toxicological and histopathological evaluations. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n. 11, p. 1161–1176, 1 nov. 2014.

26. MIRANDA, M. R. DA S.; VERAS, C. A. G.; GHESTI, G. F. Charcoal production from waste pequi seeds for heat and power generation. **Waste Management**, v. 103, p. 177–186, 15 fev. 2020.

27. MOREIRA, R. V. et al. Short communication: Antimicrobial activity of pequi (Caryocar brasiliense) waste extract on goat Minas Frescal cheese presenting sodium reduction. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 4, p. 2966–2972, 1 abr. 2019.

28. MOURA, L. R. et al. Ação do extrato etanólico da casca do pequi (Caryocar brasiliense) na cardiotoxicidade crônica induzida por doxorrubicina em ratos. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 37, n. 7, p. 713–724, 1 jul. 2017.

29. NASCIMENTO-SILVA, N. R. R. DO; NAVES, M. M. V. Potential of Whole Pequi (Caryocar spp.) Fruit-Pulp, Almond, Oil, and Shell-as a Medicinal Food. **Journal of Medicinal Food**, v. 22, n. 9, p. 952–962, 1 set. 2019.

30. OLIVEIRA, L. G. et al. Caryocar brasiliense oil improves cardiac function by increasing Serca2a/PLB ratio despite no significant changes in cardiovascular risk factors in rats. **Lipids in Health and Disease**, v. 16, n. 1, p. 37, 8 fev. 2017.

31. OMBREDANE, A. S. et al. Nanoemulsion-based systems as a promising approach for enhancing the antitumoral activity of pequi oil (Caryocar brasilense Cambess.) in breast cancer cells. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 58, p. 101819, 1 ago. 2020.

32. PEGORIN, G. S. A. et al. Development of a phytocosmetic enriched with pequi (Caryocar brasiliense Cambess) oil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, p. 2020, 2020.

33. RIBEIRO, T. D. et al. Description of the growth of pequi fruits by nonlinear models. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n. 4, 2018.

34. ROCHA, L. B. et al. Ácido gálico como principal antioxidante da casca do fruto do pequi (Caryocar brasiliense Camb.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, p. 592–598, 1 out. 2015.

35. ROESLER, R. et al. Antioxidant activity of Caryocar brasiliense (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 110, n. 3, p. 711–717, 1 out. 2008.

36. ROESLER, R.; LORENCINI, M.; PASTORE, G. Fontes de antioxidantes do cerrado brasileiro: Citotoxicidade e fototoxicidade in vitro. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 814–821, 2010.

37. ROLL, M. M. et al. The pequi pulp oil (Caryocar Brasiliense Camb.) provides protection against aging-related anemia, inflammation and oxidative stress in Swiss mice, especially in females. **Genetics and Molecular Biology**, v. 41, n. 4, p. 858–869, 1 out. 2018.

38. SCAPIN, E. et al. Production of Furanic Compounds and Organic Acids from Brazilian Pequi (Caryocar brasiliensis Camb.) Residues Using Green Chemistry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 7, p. 1383–1391, 1 jul. 2020.

39. SIQUEIRA, B. DOS S. et al. Effect of soaking on the nutritional quality of pequi (Caryocar brasiliense Camb.) peel flour. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 3, p. 500–506, 2013.

40. SOARES JÚNIOR, M. S. et al. Development and chemical characterization of flour obtained from the external mesocarp of “pequizeiro” fruit. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 940–948, dez. 2010.

41. SOARES, M. et al. Qualidade de biscoitos formulados com diferentes teores de farinha de casca de pequi . **Pesquisa Agropecuária Tropical**, p. 98–104, 22 maio 2009.

42. SOQUETTA, M. B. et al. Characterization of physiochemical and microbiological properties, and bioactive compounds, of flour made from the skin and bagasse of kiwi fruit (Actinidia deliciosa). **Food Chemistry**, v. 199, p. 471–478, 15 maio 2016.

43. SOUSA, E. P. D. et al. Mathematical modeling of pequi pulp drying and effective diffusivity determination. **Revista Brasileira de Engenharia Agricola e Ambiental**, v. 21, n. 7, p. 493–498, 1 jul. 2017.

44. TORRES, L. R. D. O. et al. Pequi (Caryocar brasiliense Camb.) almond oil attenuates carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in rats: Antioxidant and anti-inflammatory effects. **Food and Chemical Toxicology**, v. 97, p. 205–216, 1 nov. 2016a.

45. TORRES, L. R. O. . et al. Physicochemical and antioxidant properties of the pequi (Caryocar brasiliense Camb.) almond oil obtained by handmade and cold-pressed processes. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 4, p. 1541–1551, 2016b.

24

Potencial do processo de crioconcentração para a concentração de compostos bioativos da casca da beterraba (*Beta vulgaris* L.)

- Rafaella Tonetto **Byruchko**
  UFRGS
- Giordana Demaman **Arend**
  UFSC
- Silvani **Verruck**
  UFSC
- Katia **Rezzadori**
  UFSC

doi 10.37885/201102193

RESUMO

A beterraba é uma das principais hortaliças brasileira cujos resíduos provenientes do processamento representam mais de 60% dos resíduos dessa indústria. As aparas e cascas da beterraba são ricas em compostos fenólicos, entre esses, as betalaínas. Uma das possibilidades de processamento destes compostos é a extração e concentração através de métodos que mantenham a qualidade nutricional do produto como, por exemplo, a crioconcentração. O objetivo deste trabalho foi utilizar a crioconcentração gravitacional e assistida por centrífuga para concentrar os compostos fenólicos do extrato aquoso e verificar a eficiência de ambos os métodos. Foram obtidos fatores de concentração de até 2,8 vezes na gravitacional e 3,3 vezes na centrifugação, já o teor de fenólicos totais aumentou 2 vezes para ambos os processos. A eficiência da crioconcentração na última etapa de cada processo apresentou valores de aproximadamente 94 % para o método gravitacional e de 93 % para a centrifugação.

Palavras-chave: Resíduos de Beterraba, Compostos Bioativos, Betalaínas, Concentração por Congelamento

INTRODUÇÃO

O desperdício de alimentos no Brasil é bastante elevado, atingindo milhões de toneladas ao ano. Uma maneira de reduzir tais números alarmantes de desperdício de alimentos seria, por exemplo, a utilização de todas as partes dos vegetais oriundas dos alimentos consumidos. Esse tema ainda é bastante discutido uma vez que ainda há poucos estudos abordando tal temática, principalmente em relação ao valor nutricional, propriedades bioquímicas e aplicações que englobam a utilização de estruturas vegetais como folhas, talos e cascas (Storck et al. 2013).

A beterraba (*Beta vulgaris* L.) é uma das hortaliças mais cultivadas no Brasil e no meio industrial, é submetida a operações de seleção, lavagem, descascamento e corte. Entretanto, o grande problema dessa atividade é a geração de altas quantidades de resíduos provenientes de aparas da polpa, talos e principalmente das folhas o que corresponde a mais de 60% da geração total de resíduos da indústria de processamento de beterraba (Lemke et al. 2016). Estes resíduos de beterraba apresentam grandes quantidades de betalaínas, aplicadas na indústria como corantes naturais de alimentos, além de serem apontadas como uma nova classe de antioxidantes dietéticos por sua capacidade de sequestrar radicais livres, prevenindo assim a oxidação das células humanas.

Na indústria de alimentos, a demanda de produtos de alta qualidade impulsiona o desenvolvimento de novos processos de concentração visando a manutenção da aparência natural, frescor e sabor dos alimentos onde fatores como transporte, custos de armazenamento e vida-de-prateleira são de suma importância para manutenção da qualidade do alimento. Desse modo, uma variedade de estratégias de concentração vem sendo desenvolvidas com o objetivo de promover a remoção eficiente da água em extratos alimentícios. Ainda que o emprego do calor forneça maior eficiência na remoção de água, esse processo provoca a perda de compostos voláteis, afetando assim, as propriedades sensoriais e funcionais do produto. Assim, a crioconcentração tem se destacado como uma técnica de concentração alternativa, uma vez que apresenta a vantagem de manter os compostos voláteis e a qualidade nutricional do produto por não empregar altas temperaturas ou etapas em baixa pressão o que resulta em um método de baixo custo e de alta eficiência. Esse processo é baseado no congelamento do extrato do alimento, seguido de uma etapa de descongelamento parcial, onde a solução concentrada é separada do gelo (Aider *et al,.* 2007). Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar o processo de crioconcentração gravitacional e assistido por centrifugação para o incremento no teor de compostos fenólicos totais e de betalaínas de extratos oriundos de aparas e cascas de beterraba.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção e Preparo das Amostras

As beterrabas foram compradas orgânicas em mercado na cidade de Porto Alegre. Inicialmente, foram lavadas e deixadas de molho por 15 minutos em solução de água clorada e depois enxaguadas. Após esse processo, as beterrabas foram descascadas e tiveram suas cascas separadas para estudo. As cascas foram então branqueadas por 2 minutos em branqueador a vapor e imediatamente resfriadas em banho de gelo. Posteriormente, foram picadas em pequenos pedaços e congeladas em sacos *ziplock* contendo 30g da casca.

Preparação do extrato aquoso das cascas de beterraba

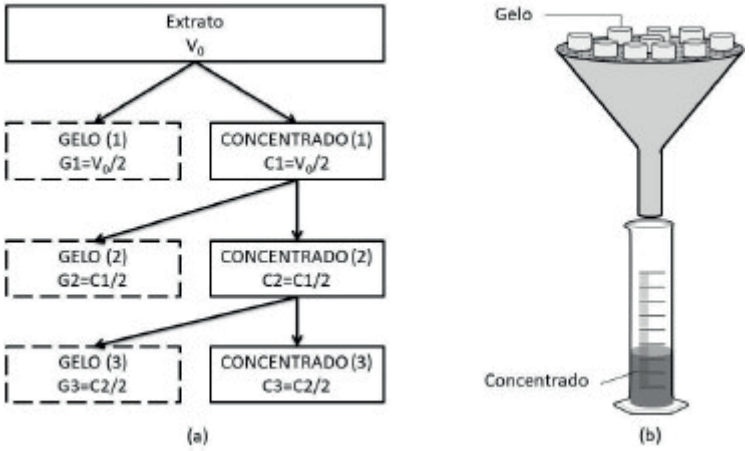
A preparação do extrato foi realizada utilizando 3g de casca de beterraba para cada 100 mL de água, com posterior trituração em processador de alimentos por 2 minutos. A temperatura e tempo de extração dos compostos bioativos foram definidos em testes prévios onde foi definida a temperatura de 55°C por 30 min. Ao fim do tempo de infusão o extrato foi filtrado em tela de nylon com tamanho de poro de 125 μm.

Crioconcentração

Foram realizados dois processos de crioconcentração. Um método utilizando a crioconcentração gravitacional, em blocos, de acordo com método sugerido por Aider e Ounis (2012) e um processo de crioconcentração assistido por centrifugação pelo método de Petzold et al. (2013).

A crioconcentração em blocos se baseia no congelamento total da solução, seguido de um descongelamento parcial, resultado em duas frações: o fluido concentrado (C) e a fração de gelo (G). Resumidamente, após o congelamento total do extrato, 50% do volume inicial é descongelado a temperatura ambiente (17 ± 2°C), sendo este processo denominado descongelamento gravitacional. A fração descongelada corresponde ao fluido concentrado, sendo que esta fração será novamente congelada a - 20 ± 2 °C durante 24 horas e então utilizada como alimentação para o segundo estágio do processo de acordo com o esquema apresentado na Figura 1. Estas etapas serão repetidas no terceiro e quarto estágios.

Figura 1. (a) Fluxograma do processo de crioconcentração onde V_0 é o volume inicial de extrato, C_1, C_2 e C_3 são as frações concentradas e G_1, G_2 e G_3 são as frações de gelo; (b) Representação esquemática do sistema de crioconcentração em blocos.



A crioconcentração assistida por centrifugação consistiu no congelamento do extrato (-20 ± 2 °C) em tubos de centrífuga (50 mL) com posterior centrifugação a 1600 GR, a 20ºC, por 14, 12, 8 minutos de forma contínua até a retirada do concentrado. Este procedimento se repetiu por 3 etapas, sendo que a cada etapa obteve-se o extrato concentrado, que foi utilizado na etapa subsequente e um resíduo denominado de fração gelo. Este método conta com a recuperação dos compostos perdidos no gelo nas duas primeiras etapas, submetendo- os a descongelamento em centrífuga também. Para a concentração do gelo é realizada a centrifugação da fração gelo, uma única vez, a 1600 GR, a 20ºC por 10 minutos.

Determinações analíticas

A determinação do teor de compostos fenólicos totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu sugerido por Singleton e Rossi (1965) que consiste na reação da amostra com carbonato de sódio 20% e o reagente de cor Folin-Ciocalteu durante 2 horas, em ambiente escuro. As absorbâncias foram lidas a 765 nm em espectrofotômetro (UV-Vis mini-1241) utilizando água destilada como branco. O mesmo procedimento foi realizado para a construção de curva padrão de ácido gálico com concentrações variando de 200 a 800 mg mL^{-1}. Os resultados foram expressos em mg GAE mL^{-1}. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Como a betalaína majoritária na beterraba vermelha é a betanina, as análises para quantificar o teor do pigmento foram realizadas em função da concentração de betanina nos extratos obtidos (mg de betanina.100 ml de $extrato^{-1}$). Para isto foram realizadas quantificações por espectrofotometria de acordo com o método de Stintzing e Carle (2008). Todas as análises serão realizadas em triplicata.

Complementarmente, a identificação e quantificação dos compostos de interesse foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-CLAE) a partir da injeção

das amostras em cromatógrafo equipado com coluna de fase reversa termostatizada e detector UV-visível DAD, de acordo com métodos previamente descritos (Boaventura *et al.*, 2015). Os compostos de interesse foram identificados e quantificados através da utilização de padrões externos.

Análise Estatística

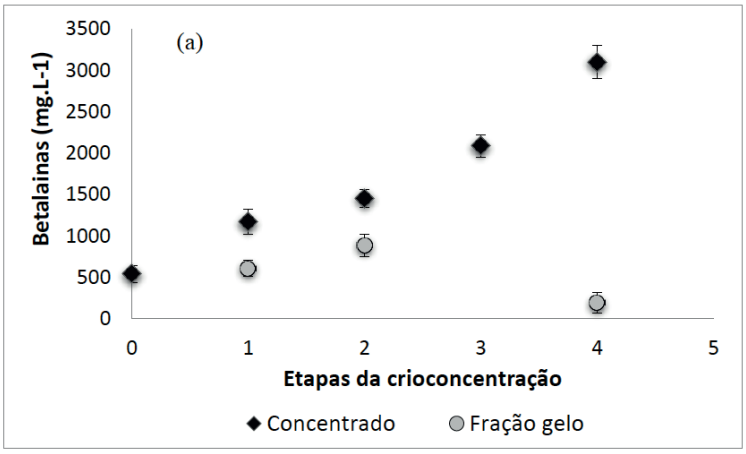
Os resultados foram avaliados em software *STATISTICA* sendo calculados os valores médios, desvio padrão e análise de variância.

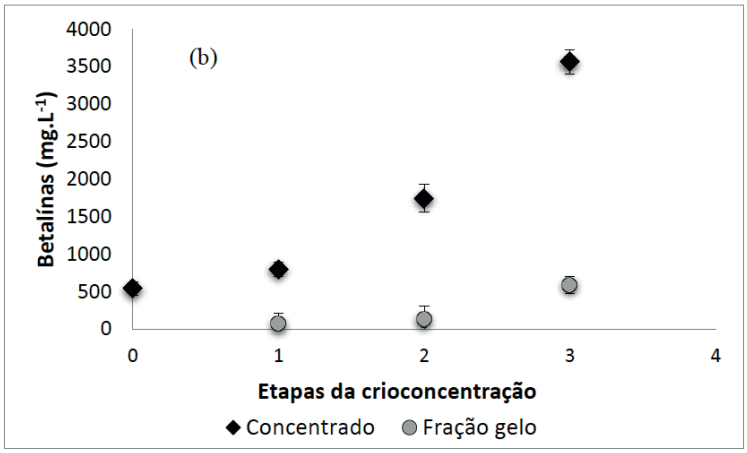
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos resultados do teor de betalaínas, a atividade antioxidante pelo método DPPH, o teor de compostos fenólicos totais e a identificação dos componentes de interesse por HPLC. Estes dados foram obtidos em cada etapa de crioconcentração, para ambos os métodos avaliados. Os resultados do teor de betalaínas foram compilados conforme a Figura 2 para crioconcentração gravitacional (a) para crioconcentração assistida por centrifugação (b).

De acordo com a Figura 2 (a) e (b) é possível observar que a crioconcentração promoveu um incremento no teor de betalaínas em todos os concentrados das etapas de crioconcentração quando comparado ao extrato inicial. Foi alcançada uma concentração de aproximadamente 3,5 vezes para o concentrado final na crioconcentração assistida por centrifugação e de 2,8 vezes para o a crioconcentração gravitacional. Em relação à concentração destes compostos nas frações de gelo, é possível observar que em todas as etapas, o teor de betalaínas ficou abaixo do valor encontrado no extrato *in natura*. Este incremento visualizado nas frações de gelo pode ser justificado pelo fato que os sólidos tendem a ficar retidos nas frações de gelo com o avanço das etapas do processo (AIDER; OUNIS, 2012). Para fenólicos totais o incremento foi de 2 vezes na última etapa de concentração para a fração de concentrado de cada processo, apresentando valores de 0,19 mgGAE.mL^{-1} e 0,20 mgGAE.mL^{-1} para a crioconcentração gravitacional e assistida por centrifugação, respectivamente.

Figura 2. Teor de betalaínas obtidos em cada etapa dos processos de crioconcentração assistido por (a) centrifugação e (b) crioconcentração gravitacional para as frações concentradas e gelo.





A identificação dos compostos de interesse por HPLC está apresentada na Tabela 1 e indicou que o composto majoritário dentre as betalaínas dos concentrados do extrato das cascas de beterraba é a betanina, seguida da isobetanina, cujas estruturas químicas estão apresentadas na Figura 3.

Tabela 1. Compostos identificados nos extrato de cascas de beterraba in natura e concentrados na última etapa do processo de crioconcentração gravitacional (C4G) e assistido por centrifugação (C3C).

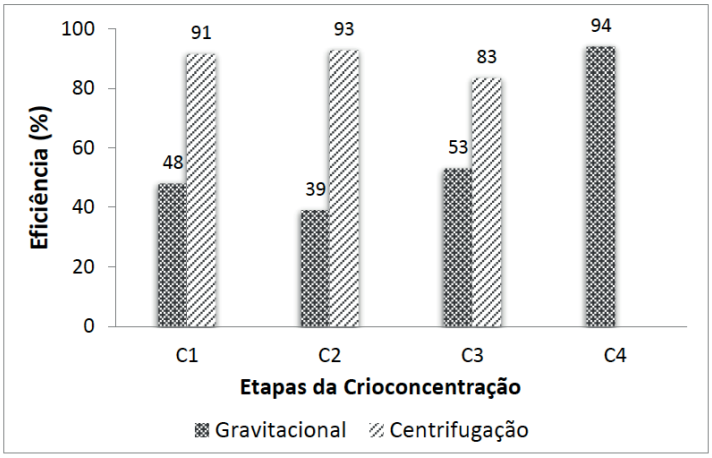
Número do pico	Nome	$[M+H]^+$	S2	Tempo de retenção (Rt) (min)	(nm)	*in natura**	G*	C*
1	Betanidin 5-*O*-β- glucoside (Betanina)	551.146	9.095	7.8	38	73	67	325
2	Isobetanidin 5-*O*-β- glucoside (Isobetanina)	551.144	9.097	10.4	38	20	28	53

* área do pico

A eficiência de cada método também foi analisada, quanto ao teor de betalaínas. Na Figura 3, abaixo, são apresentadas as eficiências para as diferentes etapas de ambos os processos estudados. Observa-se que o processo convencional que utiliza a força gravitacional para o descongelamento apresentou uma eficiência de 94% na quarta etapa do processo, enquanto que o processo assistido por centrifugação apresentou uma eficiência

de 93% já na terceira etapa. O uso da centrifugação para facilitar o descongelamento dos extratos não leva ao aumento da eficiência em si, mas reduz uma etapa de processo o que faz com que o tempo de descongelamento seja reduzido, reduzindo consequentemente o custo de processamento devido a menor demanda energética para o congelamento e descongelamento. Além da redução do tempo, o processo assistido por centrifugação por ser realizado em ambiente fechado e escuro pode levar a manutenção dos compostos que são sensíveis a exposição à luz e temperatura, reduzindo a oxidação. O decaimento da eficiência na última etapa pode se explicado pela retenção dos sólidos na fração gelo ocasionando a redução da eficiência.

Figura 3. Eficiência dos processos de crioconcentração gravitacional e assistido por centrifugação em relação ao teor de betalaínas.



CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos nesse estudo verifica-se que a crioconcentração é um processo viável quando utilizado para concentrar betalaínas a partir de um extrato aquoso. Foram obtidas eficiências maiores que 90% em ambos os processos de crioconcentração estudados e os aumentos nos teores de betalaínas foram de até 3,5 vezes para o processo assistido por centrifugação e 2,8 vezes utilizando o método gravitacional e de aproximadamente 2 vezes para teor de compostos fenólicos em ambos os métodos.

REFERÊNCIAS

1. AIDER, M., OUNIS, W.B. Skim milk freeze concentration as affected by the thawing mode: gravitational vs. microwave-assisted. *Int J Food Sci Tech*, 47, 195-202, 2012.

2. BOAVENTURA, B.C.B., AMBONI, R.D.M.C., DA SILVA, E.L., PRUDENCIO, E.S., DI

3. PIETRO, P.F., MALTA, L.G., POLINATI, LIU, R.H. Effect of in vitro diestion of yerba mate (*Ilex paraguariensis A. St. Hil.*) extract on the cellular antioxidant activity, antiproliferative activity and cytotoxicitytoward HepG2 cells. *Food Res Int*. 77, 257-263, 2015.

4. PETZOLD, G., & AGUILERA, J. M. (2013). Centrifugal freeze concentration. *Innov Food Sci Emerg,* 20, 253–258.

5. SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics withphosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. *Am J Eno Vit*, v. 16, p. 44–58, 1965.

6. STINTZING, F.C., CARLE, R. Analysis of Betalains. Em C. Socaciu (Ed.), *Food colorantes: Chemical and Functional Properties*, p. 507-520, CRC Press: Boca Raton, 2008.

7. STORCK, C.R., NUNES, G. L., OLIVEIRA, B. B. DE, BASSO, C. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais : composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. *Cienc Rural*, 43(3), 537–543, 2013.

25

Potencial nutricional e tecnológico de mucilagem de chia (*Salvia hispânica*, l.) para processamento de alimentos

- Aline Chitto **Lopes**
  UTFPR
- Maria Fernanda **Ribas**
  UTFPR
- Ana Claudia **Lopes**
  UTFPR
- Ivane Benedetti **Tonial**
  UTFPR
- Luciano **Lucchetta**
  UTFPR

10.37885/201102211

RESUMO

A mucilagem de chia é um hidrocolóide e têm sido visto como um ingrediente com potencial para utilização no segmento de alimentos. O presente estudo teve como objetivo extrair e caracterizar a mucilagem da semente de chia para obter mais informações sobre suas propriedades tecnológicas e aplicá-la em biscoito salgado isento de glúten. Para a extração da mucilagem foi aplicado o método de extração aquosa, na concentração de 1:40 semente: água (m/m) durante 90 minutos, posterior filtração simples e secagem por 20 horas a 50ºC. Foram caracterizadas a semente inteira, a mucilagem e a torta resultante do processo de extração. Os resultados obtidos mostram que todos são adequados nutricionalmente para o consumo. A mucilagem apresentou um rendimento médio de 6% e os géis de mucilagem apresentaram valores de firmeza, coesão, elasticidade e gomosidade semelhantes aos da goma xantana, apresentando pouca pigmentação, o que a caracteriza a viabilidade do seu uso como espessante, melhorador de textura e qualidade nutricional em biscoitos isentos de glúten.

Palavras-chave: Hidrocolóide, Goma, Espessante, Chia.

INTRODUÇÃO

Os termos “mucilagem” e “goma” são utilizados de forma equivocada como sinônimos. De acordo com Capitani (2013), a gomas são substâncias liberadas pelas plantas como proteção, quando sofrem algum tipo de lesão ou estão em condições climáticas adversas. As mucilagens, por sua vez, são produtos do metabolismo dos vegetais que são acumuladas dentro de células específicas, sendo destinadas a material de reserva de energia e água. Em vegetais, como as algas, as mucilagens também podem ter função estrutural, proporcionando a estas a capacidade de elasticidade.

Gomas e mucilagens apresentam similaridades, ambos são hidrocolóides e têm sido utilizadas em uma vasta gama de indústrias como espessantes, agentes gelificantes, sendo, também, utilizadas no controle de sinerese, em emulsões e dispersões, na produção de filmes comestíveis e modificação de textura dos alimentos (MUÑOZ et al., 2012; CAPITANI, 2014). Em produtos alimentícios, estes aditivos aumentam a viscosidade das massas e dos líquidos, melhoram a capacidade de retenção de gás e geram produtos com melhores características estruturais e de textura (GALLAGHER et al., 2004).

As sementes de chia (Salvia hispânica) têm sido recomendada como potencial fonte de nutrientes e estão sendo usadas como suplementos nutricionais, bem como na fabricação de barra de cereais e biscoitos (MUÑOZ et al., 2012). A mucilagem de chia, por sua vez, é considerado um hidrocolóide e tem sido considerada como um novo ingrediente capaz de atuar como aditivo em produtos alimentícios (LIN et al., 1994; MUÑOZ et al., 2012, Ramos et al., 2016). No Brasil, de acordo com o Guia para Comprovação da Segurança de Alimentos e Ingredientes (2013), a semente de chia é classificada como produto que não tem tradição de uso em alimentos. No entanto, é regido pelos regulamentos técnicos específicos contidos na seção de avaliação de novos alimentos ou novos ingredientes desde que não apresentada em forma farmacêutica. De acordo com o regulamento, a mucilagem de chia se enquadra como ingrediente, que são substâncias utilizadas no preparo ou na fabricação de alimentos e que estão presentes no produto final (BRASIL, 2013).A demanda por produtos alternativos e destinados a públicos restritos, como pessoas intolerantes ao glúten, tem apresentado um crescimento notável nos últimos anos, o que desperta a possibilidade de utilização dessas alternativas (VITALI et al., 2009), como a mucilagem de chia. O processo de obtenção da mucilagem da semente de chia (5-6%), embora simples, apresenta etapas críticas (MUÑOZ et al., 2012). Ocorre que, na fase de hidratação, que aumenta com o aumento da temperatura, máximo de 86,96% de solubilidade, a mucilagem se encontra fortemente aderida na superfície da semente (IXTAINA et al., 2011).

Chia

Salvia é o maior gênero da família Lamiaceae é representada por cerca de 1000 espécies. A chia (*Salvia hispanica L.*) é uma planta herbácea anual que produz sementes, as quais eram um dos alimentos básicos das civilizações da América Central em tempos pré-colombianos (Ayerza e Coates, 2005). A planta Salvia hispânica produz sementes tanto pretas quanto brancas, mas que não apresentam diferenças de composição, ambas têm forma oval com uma faixa de comprimento entre 2 e 2,25 mm, uma largura de 1,4 a 0,83 mm e uma espessura de 1,32 a 0,81 mm (IXTAINA, 2008). A semente, como é comumente conhecida, consiste de quatro pequenas castanhas, similar a um aquênio indeiscente, as quais contêm uma única semente (IXTAINA et al., 2010).

A chia é atualmente cultivada comercialmente na Austrália, Bolívia, Colômbia, Guatemala, México, Peru e Argentina. No Brasil, as regiões do oeste do Paraná e noroeste do Rio Grande do Sul começaram a investir no cultivo de chia, apresentando bons resultados, apesar da falta de informação a respeito das exigências nutricionais da planta (BUSILACCHI et al., 2013; MIGLIAVACCA et al., 2014).

A chia possui alto valor nutricional, com elevado teor de ácidos graxos poliinsaturados (especialmente ômega-3), além de proteínas e de minerais como cálcio, ferro e potássio, grande quantidade de fibra alimentar e presença de polifenóis (REYES-CAUDILLO, 2008). Ixtaina et al. (2011) afirmou que as sementes apresentam um teor de óleo na faixa de 25% a 38%, onde os ácidos graxos poliinsaturados estão presentes em grandes quantidades, o que torna o óleo de chia importante na prevenção de doenças cardiovasculares, porém, ainda é pouco utilizado na alimentação humana e animal (AYERZA, 1995; IXTAINA et al., 2011). As sementes também foram consideradas por Reyes-caudillo et al. (2008) como boa fonte de compostos antioxidantes pois foi detectada em sua composição os ácidos clorogênico e cafeico, miricetina, quercetina e campferol.

Mucilagem

Pelo termo “mucilagem de plantas” entende-se que são substâncias solúveis ou, pelo menos, muito perceptivelmente aumentam de volume em água e que, após a adição de álcool, precipitem uma massa mais ou menos amorfa ou granular. A mucilagem é originária da planta, quer como uma parte do conteúdo da célula, ou como uma parte da parede da mesma (SINGH et al., 2014).

Para Rocha et al. (2011), as mucilagens são secreções de natureza mista constituída principalmente por heteropolissacarídeos ácidos e/ou neutros, proteínas e substâncias fenólicas que apresentam ampla distribuição nos vegetais, formando soluções coloidais que em

contato com a água tornam-se viscosas. Essas substâncias podem desempenhar diferentes funções nas plantas, entre elas, a proteção de estruturas ou órgãos em desenvolvimento, retenção de água, reserva de carboidratos, redução da transpiração, proteção contra radiação dispersando ou refletindo a luz incidente, proteção contra herbivoria, lubrificante do ápice das raízes, captura de insetos em plantas insetívoras, como adesivo na dispersão de sementes e na regulação da germinação de sementes (ROCHA et al., 2011).

Normalmente, a mucilagem é um produto do metabolismo formado no interior da célula e pode ser produzida sem prejuízo para as plantas. A mucilagem é frequentemente encontrada em diferentes partes das plantas, como por exemplo, nas células da epiderme das folhas, em cascas de sementes e também em raízes (JANI et al., 2009). Devido à sua estrutura química esse polissacarídeo quando em solução, apresenta a capacidade de formar géis. Esse processo envolve diferentes mecanismos de associação entre cadeias, os quais dependem das características individuais do polímero aplicado. Dessa forma, os géis resultantes de diferentes polímeros irão apresentar formas estruturais e texturas diferentes, podendo ser aplicados em uma grande variedade de alimentos (TONELI et al., 2005).

A semente de chia tem tendência em aumentar seu volume quando a umidade relativa do ar aumenta ou quando imersa em solução, isso acontece devido à sua capacidade de absorção de água. De acordo com Muñoz et al. (2012) esta película é um gel transparente mucilaginoso e atinge a sua espessura máxima após 2 horas de hidratação. De acordo com o autor, a chia é formada por três camadas: uma camada exterior onde se encontra a mucilagem; uma camada intermediaria composta por fibras e o endocarpo (MUÑOZ et al., 2012). Quando a semente entra em contato com a água, começam a desenrolar-se pequenos filamentos na superfície que com o aumento da hidratação passam a se agregar e se distribuir na superfície a volta da semente.

Para Capitani (2013), o processo de obtenção da mucilagem da semente de chia parece simples, por ser solúvel em água, porém apresenta etapas críticas, como por exemplo, separar as sementes da mucilagem que se encontra fortemente aderida na superfície da semente. Jani et al. (2009) relataram características e vantagens dos materiais naturais obtidos de plantas, especialmente da mucilagem, como sendo biodegradáveis, de baixo custo quando comparado ao material sintético e de fontes comestíveis. De acordo com Ixataina et al. (2010) a solubilidade da mucilagem de chia em água aumenta com o aumento da temperatura, sendo que a solubilidade máxima relatada pelos autores é de 86,96% a 60 ºC, valor considerado mais elevado do que a solubilidade observada para as gomas guar e xantana (IXTAINA et al, 2010).

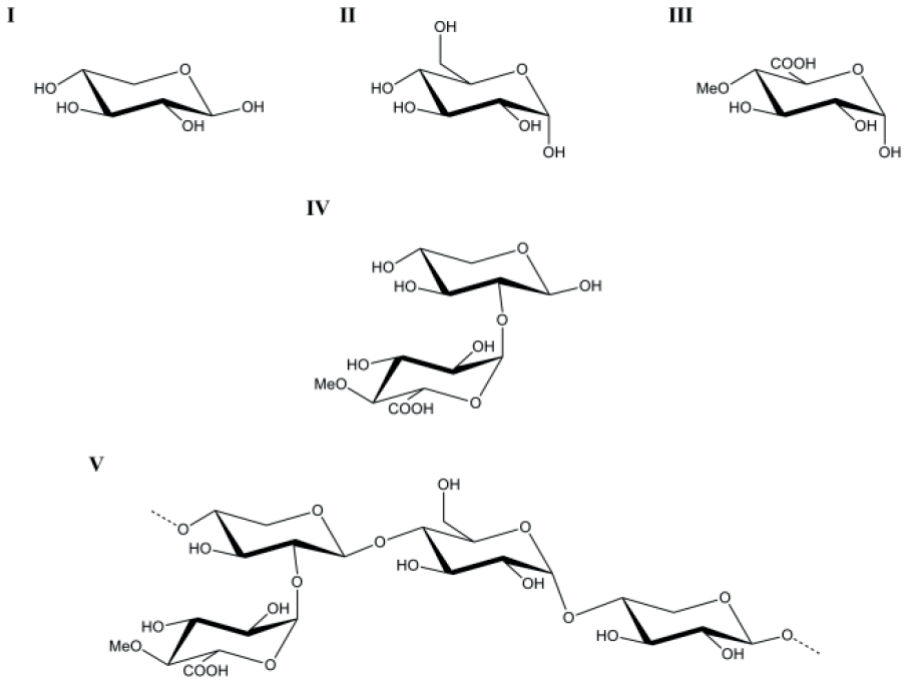
De acordo com Muñoz et al. (2012), a semente de chia apresenta em sua composição uma porcentagem pequena de mucilagem, variando de 5-6% (m/m). A mucilagem de chia é

constituída por um polissacarídeo cujo peso molecular foi determinado por filtração em gel e varia de 0,8-2,0 x 10^6daltons (LIN et al., 1994).

A partir da hidrólise completa deste polissacarídeo foram obtidos β-D-xilose, α-D-glucose e ácido 4-O-metil-α-D-glucorônico respectivamente, nas proporções de 2:1:1. Por hidrólise parcial Lin et al. (1994) obteve um ácido aldobiurônico, onde o ácido 4-O-metil-α-D-glucopiranosidourônico está ligado ao carbono 2 de D-xilose. Lin et al. (1994) propôs uma unidade estrutural para o polissacarídeo que foi interpretada e descrita por Ramos (2013), onde a mucilagem consiste num tetrassacarídeo com resíduos de 4-O-metil-α-D-10glucoronopiranosilo, com ramificações em O-2 de alguns resíduos, β-D-xilopiranosilo na cadeia principal, sendo esta formada por unidades de (1→4)-β-D-xilopiranosil-(1→4)-α-D--glucopiranosil-(1→4)-β-D-xilopiranosilo (Lin et al., 1994).

Na Figura 1 está representada a estrutura do polissacarídeo constituinte da mucilagem das sementes de chia proposta por Lin et al. (1994) e interpretada por Ramos (2013).

Figura 1. Estrutura do polissacarídeo. I β-D-xilose; II α-D-glucose; III ácido 4-O-metil-α-D-glucorônico; IV ácido aldobiurônico; V tetrassacárideo. Fonte: Ramos (2013)



Muñoz (2012) obteve para a composição dessetetrassacarídeo valores de 16,78 ± 0,59% de D-xilose + D-manose, 2,1 ± 0,18% de D-arabinose, 6,77 ± 0,30% de D-glicose, 3,9 ± 0,32% de ácido galacturônico e 12,1 ± 2,30% de ácido glucurônico, com 41,66% de açúcares totais. A mucilagem contém grupos funcionais hidroxila e carbonila semelhantes aos encontrados na goma de xantana.

A mucilagem de chia, especificamente, pode apresentar um diferencial nutricional com relação aos demais hidrocoloides por conter em sua semente e possivelmente em

sua mucilagem significativa quantidade de ácidos graxos poliinsaturado, especialmente os considerados essenciais.

Ácidos graxos

De acordo com Perini (2010) os ácidos graxos são classificados conforme a presença de duplas ligações (insaturações) entre as cadeias de carbono. Os ácidos graxos saturados (AGS) são aqueles que têm ausência de duplas ligações; os ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) são caracterizados pela presença de uma insaturação e os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) pela presença de duas ou mais insaturações (PERINI et al., 2010).

Segundo Martin et al. (2006), os ácidos graxos das famílias ômega 6 (n-6) e ômega 3 (n-3) podem ser obtidos por meio da dieta ou produzidos pelo organismo a partir dos ácidos linoléico e alfa-linolênico. Os ácidos graxos das famílias n-6 e n-3 competem pelas enzimas envolvidas nas reações de dessaturação e alongamento da cadeia. Embora essas enzimas tenham maior afinidade pelos ácidos da família n-3, a conversão do ácido alfa-linolênico em AGPI de cadeia longa é fortemente influenciada pelos níveis de ácido linoléico na dieta. Essas duas classes de ácidos graxos poliinsaturados devem ser diferenciadas, pois são metabolicamente diferentes e possuem funções fisiológicas opostas, sendo assim, o equilíbrio nutricional é importante para se conseguir o desenvolvimento e a manutenção normal do organismo (LENZI, 2007).

Com o avanço das práticas agrícolas, o perfil de lipídeos comestíveis consumido pela sociedade ocidental mudou subitamente, pois com o desenvolvimento da agricultura moderna e a industrialização, houve um aumento da oferta de gorduras refinadas, principalmente óleos vegetais. Em função disso, ocorreu um aumento progressivo da razão n-6/n-3, resultando em dietas com quantidades inadequadas de ácidos graxos da família n-3 (FENNEMA et al. 2010).

Os níveis de ácidos graxos ômega 6 e ômega 3 na dieta são importantes, pois esses lipídeos bioativos desempenham um papel vital na fluidez de membranas, sinalização celular, na expressão de genes e no metabolismo de eicosanóides. Sendo assim, o consumo de ácidos graxos ômega 3 é essencial para a promoção e manutenção da saúde nos seres humanos, especialmente para mulheres grávidas e em período de lactação, indivíduos com doenças coronarianas, diabetes, sistema imunológico debilitado e saúde mental alterada (FENNEMA et al., 2010).

A razão n-6/n-3 da dieta tem grande influência sobre a produção de AGPI- da família N-3, sendo que razões elevadas resultam na diminuição da produção do ácido eicosapentaenóico (AEP), condição que contribui para o desenvolvimento de doenças alérgicas, inflamatórias e cardiovasculares. Desta forma, segundo a razão entre a ingestão diária de alimentos, fontes de ácidos graxos N-6 e N-3 têm grande importância na nutrição humana

(MARTIN et al., 2006). Dietas ricas em ômega 3 atuam prevenindo doenças cardíacas, e o surgimento de protanóides e leucotrienos com suas ações anti-inflamatórias e inibição de citocinas. Os ácidos graxos ômega 3 desempenham papel essencial na fisiologia humana, na prevenção de doenças cardiovasculares, sendo anti-inflamatório e antitrombótico (AYERZA e COATES, 2011).

De acordo com Coelho e Sallas-Mellado (2014), é recomendado que seja diminuída a ingestão de gorduras saturadas e aumentado o consumo de fibras, proteínas e ácidos graxos ômega-3, não importando os meios de consumo, sejam eles por alimentos *in natura* ou através do consumo de alimentos enriquecidos com esses componentes.

Segundo Ixtaina et al. (2011), nos últimos anos tem surgido interesse em espécies vegetais que são pouco exploradas como fonte de óleos e que possam apresentar propriedades especiais. Muitos desses óleos contêm quantidades significativas de nutrientes, compostos de interesse medicinal e industrial.

Segundo Ayerza e Coates (2011), a semente de chia, entre as fontes vegetais, contém a maior porcentagem de ácidos graxos conhecida (68%) comparado com camelina 36% (*Camelina satila L.*), perilla 53% (*Perilla frutescens L.*) e linhaça 57% (*Linum usitatissimum L.*). Do ponto de vista nutricional, a composição dos óleos vegetais é muito importante, o óleo de chia tem alto teor de ácidos graxos poliinsaturados, sendo composto principalmente por ácido linoléico (17 a 26%) e linolênico (50-57%) (AYERZA e COATES, 2011). Sendo assim, a chia, é uma alternativa promissora para o aumento desses componentes na dieta, já que é rica em ácidos graxos poliinsaturados, proteínas e fibras. Portanto, a semente de chia e seus derivados devem ser incorporadas a dieta a fim de se obter esses efeitos benéficos já mencionados (LENZI, 2007).

Para a determinação da composição de ácidos graxos de óleos e gorduras comestíveis, tem sido utilizada com eficácia a técnica de cromatografia gasosa. A cromatografia gasosa é uma das mais importantes técnicas analíticas disponíveis, onde em pouco tempo tornou-se a principal técnica para separação e determinação de compostos voláteis e/ou volatilizáveis (PENTEADO et al., 2008). É uma técnica de separação de substâncias voláteis, onde a partir do tempo de retenção pode-se identificar os compostos comparando com os padrões pré-analisados. Nesta técnica, é possível determinar a composição de ácidos graxos de um lipídeo em um curto espaço de tempo. Para isso, os ácidos graxos são normalmente convertidos para ésteres metílicos, que são derivados mais voláteis (RAMPAZZO, 2015 apud VISENTAINER e FRANCO, 2006).

Utilização de hidrocolóides na indústria de alimentos

Hidrocolóides são polímeros de alta massa molar que tem uma grande afinidade com a água e se dispersam formando soluções coloidais de grande viscosidade. O termo ‘’hidrocolóides’’ envolve todos os polissacarídeos extraídos de plantas (celulose, pectinas, amido), sementes (goma de guar, goma de alfarroba, goma de tara), algas (ágar, carragenano, alginato) e fontes microbianas (goma de xantana, goma gelana), e também a partir de gomas exsudadas de plantas (goma arábica, goma de karaya, goma adragante) e formas quimicamente ou enzimaticamente modificadas (COLONETTI et al., 2012). O alto potencial de aplicações desses hidrocolóides, com propriedades estruturais, físico-químicas e funcionais amplas, tem estimulado a exploração e pesquisa de novos polissacarídeos (COLONETTI et al., 2012).

Esses polissacarídeos são utilizados em alimentos principalmente para espessar e/ou gelificar soluções aquosas, também utilizados para modificar e controlar a textura de produtos líquidos e as propriedades de deformação de alimentos semissólidos. De acordo com Fennema et al. (2010) normalmente são utilizados nas concentrações de 0,25-0,50% (m/m), o que indica sua capacidade de aumentar a viscosidade e formar gel.

A maioria dos polissacarídeos contem unidades de glicosil que, em média possuem três grupos hidroxila (FENNEMA et al. 2010). Cada grupo tem a possibilidade de formar ligações de hidrogênio com uma ou mais moléculas de água. Além disso, o átomo de oxigênio do anel e o átomo de oxigênio que liga um anel a outro pode formar ligações de hidrogênio com a água, portanto, eles possuem uma forte afinidade com a água e a maioria se hidrata facilmente quando ela está disponível.

Os polissacarídeos modificam e controlam a água em sistemas alimentícios, onde a água desempenha um papel importante, influenciando as propriedades físicas e funcionais dos polissacarídeos e juntos eles controlam muitas propriedades funcionais dos alimentos, incluindo a textura. Polissacarídeos solúveis em água usados em alimentos ou outras aplicações industriais são conhecidos como gomas ou hidrocolóides, sendo comercializados sob a forma de pó em tamanhos de partículas variados (FENNEMA et al., 2010).

A escolha da aplicação de um polissacarídeo específico depende de inúmeros fatores, sendo os principais: viscosidade desejada, temperatura do processamento, interações com outros ingredientes, textura desejada, do custo e da quantidade necessária para obtenção do produto desejado. Todos dependem da sua capacidade de funcionar como ligante, agente de corpo, espessante, inibidor de cristalização, elementos de recobrimento, estabilizadores de emulsões, agentes de encapsulação, substitutos de gordura, agentes de floculação, estabilizadores de espuma e suspensão, sendo que cada polissacarídeo escolhido pode ter uma ou mais propriedades de destaque, a qual costuma servir de base para a escolha em uma aplicação especifica (FENNEMA et al., 2010).

De acordo com Botelho (2012), os hidrocolóides normalmente estão presentem em concentrações inferiores a 1% e ainda assim ter influência significativa na textura e nas propriedades sensoriais dos produtos obtidos. Ainda de acordo com a autora, os estudos com hidrocolóides para se obter produtos isentos de glúten, utilizam concentrações que variam de 1 a 5% (base seca de farinha), sendo que os melhores resultados relatados foram encontrados dentro da faixa de 0,5% a 2,0% (m/m) (BOTELHO, 2012).

Tradicionalmente entre os hidrocolóides mais empregados em alimentos estão a goma xantana e a goma guar. Muitos estudos examinaram as propriedades funcionais de diferentes tipos de gomas, no entanto, não há muita informação relatada sobre a funcionalidade da mucilagem de chia em produtos alimentares (NOLASCO et al., 2013). Outros estudos já foram realizados sobre substituição de aditivos usuais na indústria de alimentos, como é o caso do trabalho de Segura-Campos et al. (2014) que avaliou o uso de sementes inteiras e trituradas de chia como fonte de gomas funcionais, constatando que a mucilagem de chia tem grande potencial como componente alimentar devido as suas propriedades emulsificantes e estabilizantes.

Na mesma linha de pesquisa, citam-se os estudos desenvolvidos por Moreira et al. (2013) que avaliaram o efeito da adição de chia e de hidrocolóides na reologia de massas sem glúten à base de farinha de castanha e verificou que a presença simultânea de chia e hidrocolóides modificou significativamente as propriedades reológicas das massas de pão; Stefollani et al. (2015) que avaliaram o efeito da pré-hidratação das sementes e farinha de chia na qualidade de pães e constataram que aumentou significativamente a absorção de água durante o amassamento, aumentando a tenacidade da massas, sendo que esses efeitos foram mais pronunciados quando houve pré-hidratação; Spada et al. (2014) que elaboraram sobremesas à base de soja com mucilagem de chia constatando que a adição da mucilagem pode ser feita sem causar grandes modificações no produto e Borneo et al. (2010) que estudaram a substituição de ovos e óleo por mucilagem de Chia em formulações de bolo e concluíram que a mucilagem de chia pode substituir ate 25% do óleo ou dos ovos em bolos, produzindo um produto mais nutritivo e com características sensoriais aceitáveis.

Neste sentido, a mucilagem de chia e os derivados da extração, apresentam diversas capacidades tecnológicas, podendo ser úteis para a indústria alimentar no desenvolvimento de novos produtos. Além disso, podem apresentar texturas e sabores diferenciados e contribuir positivamente para a saúde.

Produtos panificados isentos de glúten

A Doença Celíaca (DC) é uma doença autoimune desencadeada pela ingestão de cereais que contêm glúten por indivíduos geneticamente predispostos, cujo tratamento

consiste na exclusão do glúten (ARAUJO, 2010). Fasano e Catassi (2001) descreveram a doença celíaca (DC) como uma enteropatia autoimune que é desencadeada pela ingestão de grãos contendo glúten (trigo, cevada, centeio aveia) em indivíduos geneticamente susceptíveis. Os sintomas clássicos em crianças são diarreia, distensão abdominal e falta de crescimento (GREEN et al., 2003). Da mesma forma, adolescentes e adultos podem apresentar diarreia, constipação, fraqueza, baixa estatura, dor abdominal, flatulência e em alguns casos vômitos e perda de peso (GREEN et al., 2001; GREEN et al., 2005; FASANO et al., 2008).

Estudos realizados por Polanco (1995) relataram que o tratamento da doença celíaca é basicamente dietético, consistindo na isenção de trigo, centeio, cevada e aveia na alimentação. De acordo com Fasano et al. (2008), as mudanças dietéticas exigidas pelo paciente celíaco começam na elaboração de uma dieta rigorosa sem glúten e isso é um fator que influi consideravelmente na qualidade de vida do paciente. Desta forma, os alimentos básicos em diversas áreas do mundo, como pão e massas, contêm glúten e devem ser evitados. Em contrapartida, segundo Acelbra (2013) alimentos como: arroz, grãos, gorduras, legumes, hortaliças, frutas, ovos, e leite, são permitidos.

Glúten é o termo genérico utilizado para denominar uma proteína estrutural que está presente em cereais como o trigo, o centeio e a cevada. É uma substância elástica, aderente, insolúvel em água, responsável pela estrutura das massas alimentícias. É constituído por frações de gliadina e de glutenina, que, na farinha de trigo, totalizam 85% da fração protéica (ARAUJO, 2010).

De acordo com Araujo et al. (2009) os celíacos relatam que a oferta de alimentos sensorialmente apropriados é restrita, o que torna a dieta monótona, e que os produtos disponíveis no mercado são normalmente de alto custo (ARAUJO, 2009). Tavares (2014) informa que a maior dificuldade na alimentação dos celíacos está no acesso a produtos elaborados com substitutos da farinha de trigo que apresentem características sensoriais agradáveis ao consumidor. É possível encontrar no mercado alguns produtos sem glúten desenvolvidos a partir de cereais como o arroz e batata, entretanto a remoção do glúten em produtos panificados tem sido desafiadora (TAVARES, 2014).

Para Fasano et al. (2008), desenvolver produtos alimentícios sem glúten, promove a melhora na qualidade de vida de pessoas com doença celíaca e deve ser considerada como prioridade nas áreas de pesquisa envolvendo alimentos (FASANO et al., 2008).

Dentre os produtos panificados, o biscoito tem destaque por ser um gênero alimentício popular acessível de fácil consumo. De acordo com a ANVISA (1978), biscoito é o produto obtido pelo amassamento e cozimento de massa preparada com farinhas, amidos, féculas fermentadas ou não e outras substancias alimentícias (BRASIL, 1978). Um produto com tais características, aliadas à sua enorme diversidade, apresenta-se como um bom veículo para o

estudo de diferentes formulações, seja por razões econômicas ou nutricionais, como no caso especifico dos produtos para pessoas com doença celíaca (EL-DASH e GERMANI, 1994).

Biscoitos são um gênero alimentício consumidos por uma grande variedade de populações, devido a sua variedade de sabores, vida longa de prateleira e custo acessível (VITALI et al., 2009; RODRÍGUEZ-GARCÍA et al., 2012).

Os principais ingredientes em formulações de biscoito são as farinhas de cereais, açúcar e gorduras, que são misturados em proporções diferentes para se obter uma massa, a qual é convencionalmente cozida em temperatura elevada e em tempos curtos (até 200 °C por menos de 20 min), a fim de reduzir o teor de água e promover uma superfície dourada (RUWÁN-HENARES et al., 2008). Normalmente a farinha de trigo constitui o principal ingrediente nas formulações de biscoitos, pois fornece a matriz em torno da qual os demais ingredientes são misturados para formar a massa (GUTKOSKI et al., 2007).

Utilizar farinhas à base de mistura de trigo e de outros cereais em produtos de panificação está se tornando popular por causa das vantagens nutricionais. Vários estudos têm sido realizados com a substituição total ou parcial farinha de trigo por outras fontes de proteínas ou fibras, visando aumentar o valor nutricional de biscoitos, como, por exemplo, a substituição parcial da farinha de trigo por farinha de aveia e farinha de arroz parboilizado (ASSIS et al., 2009), farinha de banana (FAZOLIN et. al., 2007), entre outros.

Objetivo

Considerando as propriedades nutricionais e suas potenciais propriedades tecnológicas da mucilagem de chia, este estudo objetivou obter e caracterizar a mucilagem de chia, como potencial utilização tecnológico no processamento de alimentos.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e rendimento da mucilagem de chia

Para a obtenção da mucilagem foram utilizados 8 Kg de semente de chia (*Salvia hispânica*), que foram previamente homogeneizadas para extração de mucilagem. Para isso, as sementes de foram submersas em água destilada 1:40 (peso:volume) e agitadas em agitador magnético por 90 minutos a temperatura ambiente (24 °C). A mucilagem foi separada da semente em mixer 500W por 30 segundos. Em seguida, a mucilagem foi separada da semente por filtração em peneira simples, seguida de secagem em estufa de circulação de ar a 50 °C durante 20 horas. A torta resultante da filtração também foi secada em estufa de circulação nas mesmas condições da mucilagem (MUÑOZ, 2012).

O rendimento da mucilagem foi calculado pela equação 1.

$$R(\%) = \frac{peso\ mucilagem}{peso\ sementes} x100$$ Equação 1

Para efeito de avaliação das perdas nutricionais na obtenção da mucilagem de chia, foram avaliados a semente de chia inteira, a torta (Resíduo da preparação) e a mucilagem.

Composição centesimal proximal da mucilagem, semente de chia e torta

As análises de umidade e cinzas foram realizadas de acordo com os procedimentos analíticos de AOAC (2010); a avaliação lipídica foi realizada de acordo com Bligh e Dyer (1959). Os carboidratos foram calculados pela diferença dos outros componentes. Os resultados foram expressos em base úmida. O método enzimático gravimétrico foi utilizado para determinar o teor de fibra alimentar solúvel e insolúvel (PROSKY et al., 1984).

Determinação do perfil de ácidos graxos da mucilagem, semenente of chia e torta

Os ácidos graxos foram determinados por cromatógrafo a gás (modelo Varian 3900) com o detector de ionização de chama (FID), estação de trabalho com o software STAR, injetor dividido, com uma razão de divisão da amostra de 75: 1. Coluna capilar ZB-WAX de 60 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, com espessura de filme de 0,25 µm. O hidrogênio foi o gás de arraste na vazão de 2 mL min-1 e o nitrogênio, em 25 mL min-1, com injetor a 270 ºC, detector a 300 ºC e volume de 1 mL de injeção (AOAC, 2010). A identificação dos ácidos graxos foi realizada por meio da comparação dos tempos de retenção dos ácidos graxos das amostras e padrões. Foram utilizados no total trinta e sete padrões de metil de ácidos graxos (Supelco IM 37 Component FAME Mix da Sigma-Aldrich) para identificação dos ácidos graxos, sendo considerada a normalização da área dos picos dos ácidos graxos (em porcentagem), para apresentação dos respectivos resultados.

Perfil de textura da mucilagem em forma de gel

A mucilagem obtida foi reconstituída em água destilada para formação de gel em diferentes concentrações (0,2%; 0,4%; 0,5% e 1,5%), em temperatura ambiente (24 °C). A análise de textura dos géis foi realizada por teste de compressão em texturômetro Stable Micro System TA.XT/Plus/50, utilizando probe cilíndrico de aço inoxidável de fundo chato de 40 mm de diâmetro. As condições de medidas foram padronizadas em: velocidade de pré-teste 2,0 mm/s; velocidade de teste 1,0 mm/s; velocidade de pós-teste de 10,0 mm/s, distância de compressão de 5,0 mm e tempo entre duas compressões de 5 s (STABLE MICRO SYSTEMS, 2000). As análises dos géis foram realizadas dentro dos recipientes que acompanham o

aparelho com capacidade de 50 mL. Para a avaliação do TPA a 24°C as amostras foram estabilizadas em sala com temperatura ambiente controlada, para 8°C as amostras foram mantidas em geladeira durante 12 horas antes do teste para estabilização da temperatura.

Tratamento dos dados

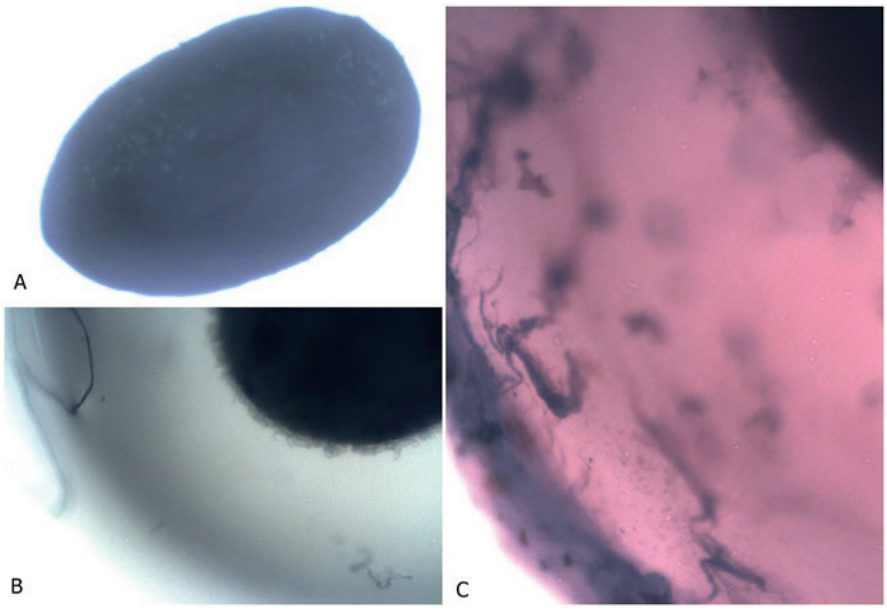
Os resultados obtidos foram comparados por meio de análise de variância (ANOVA), teste de Tukey e teste t student com nível de 5% de significância. Para as análises estatísticas foram utilizados o software R(R CORE TEAM, 2016) e o software XLSTAT version Trial (ADDINSOFT, 2014). Além disso, para a análise sensorial foi utilizado o método multivariado de Análise de Componentes Principais (ACP) para descrever o comportamento global de todos os atributos avaliados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Obtenção da mucilagem e rendimento

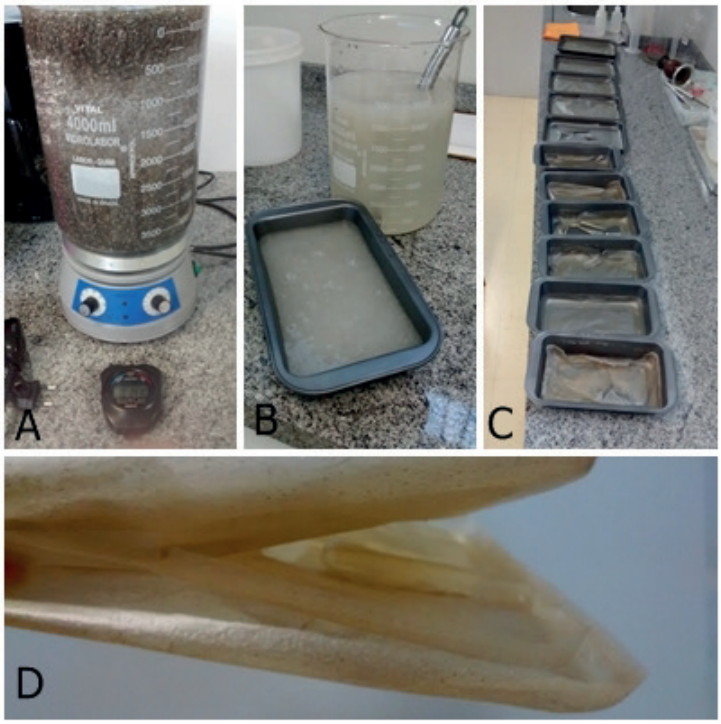
Durante o processo de hidratação, fez-se acompanhamento por microscopia óptica (Figura 1). A mucilagem característica aparece quando a semente entra em contato com a água e pequenos filamentos surgem na sua superfície (Figura 1 -B). Quando as sementes ficam totalmente hidratadas (90 minutos), estes filamentos se agregam e se distribuem uniformemente sobre à volta da semente produzindo uma solução de alta viscosidade (MUÑOZ et al., 2012), (Figura 1- C).

Figura 2. Processo de hidratação da semente de chia (aumento de 400 vezes): (A) Semente de chia antes da hidratação, (B) formação dos filamentos de mucilagem na superfície da semente de chia, (C) mucilagem formada na superfície da semente depois de 90 minutos (tingimento com fucsinia 1%).



A Figura 2 mostra como se deu as etapas do processo até a obtenção da mucilagem final para aplicação em produtos alimentícios. Esta mucilagem “bruta” passou pelo processo de secagem (Figura 2-C) e o produto final (Figura 2-D).

Figura 3. Etapas do processo de obtenção da mucilagem: (A) agitação das sementes em água, (B) Mucilagem extraída, (C) Mucilagem depois do processo de secagem, (D) Mucilagem seca.



O valor médio de rendimento obtido para o método de extração utilizado foi de 6,16%. O rendimento obtido assemelha-se aos descritos por Muñoz et al. (2012), que obteve um rendimento de 6,9%. Rendimentos menores (3,7 - 3,8%) foram relatados por Capitani et al. (2013). No entanto, os rendimentos de obtenção da mucilagem são afetados pelas técnicas de extração aplicadas, assim, diferentes técnicas promovem diferentes rendimentos e diferentes qualidades de mucilagens.

Composição proximal

O processo de extração da mucilagem utilizado no presente estudo, promoveram o arraste de importantes componentes da semente para a mucilagem, garantindo as características de boa qualidade nutricional. No entanto, parte significativa dos componentes permaneceram na torta de chia (resíduo da mucilagem). Esta característica é aceitável, uma vez que o método aplicado na obtenção da mucilagem, bem como, o meio de extração de alguns compostos (lipídeos) é limitante, em função de sua solubilidade em água. Os resultados referentes a composição da semente chia, da mucilagem e da torta são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição proximal da semente de chia, torta e mucilagem.

	Chia inteira (semente)	Torta de chia	Mucilagem de chia
Cinzas (%)	4,89 ± 0,02[a]	4,75 ±0,02[b]	4,77 ±0,04[b]
Umidade (%)	7,05 ±0,10[a]	3,82 ±0,09[b]	4,30 ±0,01[c]
F I (%)	30,46 ±1,34[a]	27,10 ±0,28[a]	1,48 ±0,30[b]
FAT (%)	31,70 ±0,82[a]	28,10 ±0,36[a]	64,09 ±1,22[b]
FAS (%)	1,24 ±0,05[a]	1,00 ±0,08[a]	62,61 ±1,32[b]
Lipídios (%)	28,78 ±0,36[a]	28,10 ±0,15[a]	1,16 ±0,09[b]
Proteína (%)	18,39 ±0,23[a]	21,80 ±0,08[b]	7,14 ±0,37[c]
Carboidratos (%)	9,19 ±0,64[a]	13,43 ±0,41[b]	18,54 ±0,03[c]

FI: fibra insolúvel; FAT: fibra alimentar total; FAS: fibra alimentar solúvel. Resultados em massa seca. *Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (p>0.05)

O percentual de umidade diferiu estatisticamente entre a da semente de chia, torta e mucilagem, o que revela que a semente inteira apresenta higroscópicidade e pode absorver parte da umidade relativa do ar (referência). No entanto, observa-se ampla variação no percentual de umidade para sementes de chia em outros estudos (IXTAINA et al., 2008; SEGURA-CAMPOS et al., 2014; COELHO et al., 2014; ECKERT e ALMEIRA, 2014; CAPITANI et al., 2013). É conveniente considerar nesta avaliação as condições de execução do experimento, assim como os diferentes métodos de extrações aplicados

A semente de chia apresenta maior quantidade de proteínas quando comparados a outras culturas tradicionais como trigo, milho, arroz e aveia (AYERZA e COATES, 2011). Os percentuais de proteínas para a semente de chia, torta e mucilagem apresentaram diferença ($p<0,05$), sendo que destes, a mucilagem foi a que apresentou o menor percentual. O percentual de proteínas, assim como de outro componentes, presentes na mucilagem e na torta de chia, podem variar de acordo com a técnica de extração aplicada (CAPITANI et al., 2013; SARGI et al. 2013; COELHO et al., 2014; SEGURA-CAMPOS et al., 2014; AYERZA e COATES, 2011). Além disso, o processo de extração da mucilagem, aplicado neste estudo, não mostrou quantidades significativas ($p<0,05$) de lipídeos, talvez pelo fato de não haver submetido a semente ao processo de trituração, o que de acordo com Segura-Campos et al. (2014) pode resultar em menor translocação de lídios para a mucilagem. No entanto, sob ponto de vista energético o baixo percentual de lipídeos na mucilagem pode ser considerado favorável, uma vez que se pode aplicar em produtos alimentícios destinados a uma dieta de baixa calorias.

Contrariamente aos baixos percentuais de lipídeos, o processo de extração da mucilagem a partir da semente de chia, resultou em altos percentuais de fibra solúvel ($p<0,05$). No entanto, a fração de fibras insolúveis foi mínima ($p<0,05$), porém, contabilizando com a fibra solúvel perfaz um total de aproximadamente 64% da fibra total da mucilagem. A chia possui elevada quantidade de pectinas insolúveis representada pela fração de fibra insolúvel, celulose, hemicelulose e lignina, (CAPITANI et al., 2013).

Perfil de ácidos graxos da semente de chia, torta e mucilagem

O consumo de lipídeos bioativos desempenha um papel vital na fluidez de membranas, sinalização celular, na expressão de genes e no metabolismo de eicosanoides, sendo essenciais para a promoção e manutenção da saúde nos seres humanos (referência).

O perfil de ácidos graxos, bem como os somatórios de ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos monoinsaturados (AGMI), ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), ômega-6 (n-6) e ômega 3 (n-3), assim como as razões entre ácidos graxos poli-insaturados/saturados (AGPI/AGS) e ômega 6/ômega 3 (n-6/n3) e os índices de qualidade lipídica: índice de aterogenicidade (IA), trombogenicidade (IT) e as razões entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) da semente, torta e mucilagem de chia podem ser observados na Tabela 2.

O perfil de ácidos graxos para a semente, torta e mucilagem de chia, mostra que os ácidos insaturados foram majoritários, com destaque para os que compõe a série ômega – 3 (n-3). Dos n-3 encontrados, o que apresentou maior percentual foi ácido α-linolênico (18:3n-3) não apresentando diferença ($p>0,05$) entre a semente e a torta. Para a mucilagem, o percentual do ácido alfa-linolênico apresentou percentual aproximado 50% menor quando comparado aos valores obtido para a semente e torta de chia.

Tabela 2. Perfil, somatórios e razões de ácidos graxos da chia, torta e mucilagem.

Ácidos Graxos*	Semente de Chia	Torta	Mucilagem
16:0	6,64 ±0,015^{b}	6,61 ±0,032^{b}	7,13 ±0,190^{a}
18:0	2,68 ±0,003^{b}	2,73 ±0,009^{b}	3,35 ±0,589^{a}
18:1n9c	6,16 ±0,008^{a}	5,92 ±0,430^{a}	5,64 ±0,320^{a}
18:2n6c	19,37 ±0,028^{a}	19,35 ±0,067^{a}	11,35 ±0,182^{b}
18:3n3	62,77 ±0,09^{a}	62,85 ±0,206^{a}	30,72 ±0,724^{b}
22:6n3	0,10 ±0,012^{b}	0,15 ±0,001^{b}	3,60 ±1,250^{a}
outros	2,28 ±0,140^{b}	2,40 ±0,115^{b}	38,21 ±1,052^{a}
Somatórios e Razões			
Ácidos Graxos*	Semente de Chia	Torta	Mucilagem
AGS	9,32 ±0,018^{b}	9,33 ±0,041^{b}	10,48 ±0,008^{a}
AGM	6,16 ±0,008^{a}	5,92 ±0,430^{a}	5,64 ±0,002^{a}
AGPI	82,25 ±0,117^{b}	82,35 ±0,274^{b}	45,67 ±0,001^{a}
OUTROS	2,28 ±0,144^{b}	2,40 ±0,115^{b}	38,21 ±0,001^{a}
n-6	19,37 ±0,028^{a}	19,35 ±0,067^{a}	11,35 ±0,002^{b}
n-3	62,88 ±0,090^{a}	62,99 ±0,206^{a}	34,33 ±0,056^{b}
AGPI/AGS	8,83 ±0,004^{a}	8,82 ±0,009^{a}	4,36 ±0,008^{b}
n-6/n-3	3,26 ±0,001^{a}	3,25 ±0,001^{a}	3,02 ±0,002^{b}

Ácidos Graxos*	Semente de Chia	Torta	Mucilagem
Índices de Qualidade lipídica			
Índices	**Semente de Chia**	**Torta**	**Mucilagem**
IA	0,08 ±0,001[b]	0,07 ±0,001[b]	0,14 ±0,001[a]
IT	0,05 ±0,001[b]	0,05 ±0,001[b]	0,09 ±0,001[a]
HH	13,31 ±0,010[a]	13,36 ±0,088[a]	7,19 ±0,056[b]

*Os resultados são apresentados em forma de somatórios e razões das porcentagens de área dos picos ± o desvio padrão. 16:0: ácido palmítico; 18:0: ácido esteárico; 18:1: ácido oleico; 18:2: ácido linoleico; 18:3: ácido α-linolénico; 22:6: ácido docosaexaenoico. AGS: ácidos graxos saturados; AGM: ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: ácidos graxos polinsaturados; n-6: ácidos graxos ômega-6; n-3:ácidos graxos ômega-3; AGPI/AGS: razões entre ácidos graxos polinsaturados/ saturados; n-6/n-3: razões entre ácidos graxos ômega-6/ômega-3. IA: índice de aterogenicidade - [(C12:0 + 4xC14:0+C16:0)]/ΣAGMI+ Σn-6+Σn-3;IT: Índice de trombogenicidade - (C14:0 + C16:0 +C18:0)/[(0,5xΣAGMI)+(0,5xΣn-6)+(3xΣn-3)+(Σn-3/n-6)]HH: razões entre ácidos graxos hipocolesterolêmicose hipercolesterolêmicos - (C18:1n-9+C18:2n-6+C20:4n-6+C18:3n-3+C20:5n-3+C22:5n-3+C22:6n-3)/(C14:0+C16:0) *Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (p>0,05)

O perfil de ácidos graxos obtidos para semente de chia corroboram com o perfil encontrados por Ali et al. (2012), que identificaram no perfil que os ácidos graxos da série ômega – 6 (n-6) perfazem 20% do total de óleo e os da série ômega – 3 (n-3) perfaz aproximadamente 60% do total de óleo da semente de chia.

Para a mucilagem, o total de n-3 somam aproximadamente 23% a mais em relação ao total de n-6. A menor proporção de n-3 em ralação ao n-6 na mucilagem, comparados à semente e a torta de chia, deve-se, possivelmente ao método de extração utilizado na preparação da mucilagem, o qual pode limitar a extração de compostos insolúveis em água, como é o caso dos lipídeos (CASTEJON et al., 2017).

A razão de n-6/n-3 na mucilagem de chia foi menor ($p<0,05$) que nas respectivas sementes e torta. Para a semente de chia o valor encontrado foi de foi de 3,26, sendo próximo (3,18) ao encontrado por Ixtaina et al. (2011) na mesma semente, e maior que as razões encontradas do óleo de soja (0,15) e óleo de canola (0,45) (IXTAINA et al., 2011). De acordo com Tonial et al. (2010) e Menezes et al. (2009) as razões de n-6/n-3 têm sido utilizadas para analisar o perfil nutricional de óleos e gorduras, cujo valores abaixo de 4,0 sugerem uma relação desejável de ácidos graxos das séries n-6 e n-3 para uma dieta benéfica com relação à prevenção de riscos cardiovasculares. Desta forma, os ácidos graxos na semente de chia, torta e mucilagem são benéficos para o consumo em dietas humanas.

Com base no perfil de ácidos graxos é possível calcular os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT), os quais auxiliam na avaliação nutricional dos lipídeos que compõem os alimentos.

Os Índices de qualidade lipídica, aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) podem indicar o potencial de estímulo à agregação plaquetária, portanto quanto menores seus valores , maior é quantidade de ácidos graxos anti-aterogênicos presentes no alimento , o que sugere um maior potencial de prevenção ao aparecimento de doenças coronarianas (TURAN et al., 2007). Desta forma, os valores encontrados de IA e IT neste estudo para a semente de chia, torta e mucilagem sugerem que os lipídeos encontrados são adequados para o consumo e a saúde humana.

O índice HH mostra a relação entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos e, segundo Turan et al. (2007) quanto maior for esta relação, mais adequado nutricionalmente é o óleo ou a gordura, o que mais uma vez sugere a boa qualidade dos lipídeos presentes na chia.

De modo geral e com base nos resultados obtidos para a semente de chia, torta e mucilagem, evidencia-se que sua incorporação destes, em produtos alimentícios constituirá em benefícios nutricionais para o alimento.

Análise de textura da Mucilagem de Chia

Para caracterização física da mucilagem de chia, avaliou-se os parâmetros de textura, nas diferentes concentrações de mucilagem de chia, cujo resultados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros de textura para a mucilagem de chia em diferentes concentrações.

Concentração do gel (%)	Firmeza (N)	Adesividade (N.s)	Elasticidade (%)	Coesividade	Gomosidade (N)
0,2	0,242±0,03ª	0,016±0,02ª	171,7±0,02^{ab}	0,955±0,06^{a}	0,237±0,03ª
0,4	0,278±0,09ª	0,014±0,01^{b}	143,5±0,01^{a}	0,928±0,14^{a}	0,270±0,03^{a}
0,5	0,306±0,14ª	|-0,051|±0,02ª	98,7±0,02^{bc}	0,891±0,05ª	0,281±0,02^{a}
1,5	0,861±0,45^{b}	|-0,781|±0,02^{c}	96,4±0,02^{c}	0,770±0,06^{b}	0,727±0,10^{b}

Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (p>0,05).

Os resultados da análise de firmeza, mostraram que a concentração de 1,5% apresentou maios firmeza (p<0,05) quando comparada as demais concentrações do gel. Por outro lado, o grau de adesividade foi baixo, indicando a baixa força necessária remoção da sonda (probe) das amostras. A concentração da mucilagem influenciou inversamente a elasticidade do gel na temperatura de estudo (24 °C) a qual pode aumentar com a temperatura do gel (RAMOS et al., 2016). O mesmo fato se repetiu para a coesividade dos géis, indicando que quanto maior a concentração do gel, menor a taxa de desintegração dos géis de mucilagem de chia.

A gomosidade, por sua vez, é um parâmetro relacionado à energia requerida no processo de mastigação, o que indicou que quanto maior a concentração do gel, maior também é a energia de mastigação necessária. **conclusão**

Considerando as condições propostas para obtenção da mucilagem, houve uma melhora em relação aos métodos de extração já descritos na literatura, visto que foi possível diminuir o gasto de energia para a extração da mucilagem, pois utilizou-se temperatura ambiente. O rendimento médio de 6 % de mucilagem foi satisfatório. A semente, a torta e a mucilagem possuem qualidade nutricional significativo, podendo ser utilizadas como aditivos em produtos alimentícios. Os géis de mucilagem apresentaram valores de firmeza, coesão, elasticidade e gomosidade semelhantes aos da goma xantana, o que indicou a potencialidade de sua adição em produtos alimentícios em substituição parcial ou total da goma xantana.

REFERÊNCIAS

1. Addinsoft (2014). XLSTAT 2014 (trial version). France: Addinsoft. http://http://www.xlstat.com/en/download.html//. Download em maio de 2015.

2. AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 18th ed, 3th Review, Washington: AOAC, 2010.

3. AYERZA, R.; COATES, W. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica L.*)**Industrial Cropsand-dProducts**, v. 34, p. 1366-1371, 2011. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.12.007

4. Bligh, E. G. & Dyer, W. J. A rapid method for total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37, 911-917, 1959. https://doi.org/10.1139/o59-099.

5. BORNEO, R.; AGUIRRE, A., LÉON, A.E. Chia (*Salvia hispanica*L) Gel can be used as egg or oil replacer in cake formulation. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 110, n 6, p. 946-949, 2010.

6. BOTELHO, F. Efeito das gomas xantana e/ou guar na textura de pães isentos de glúten elaborados comfarinhas de arroz e de milho. 2012. 102p. Dissertação (Mestrado em Ciências Gastronômicas) - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2012.

7. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para Comprovação da Segurança de Alimentos e Ingredientes. Gerência de Produtos Especiais Gerência Geral de Alimentos. Brasília-DF Fevereiro de 2013. Disponível em http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/395734/Guia+para+Comprova%C3%A7%C3%A3o+da+Seguran%C3%A7a+de+Alimentos+e+Ingredientes/f3429948-03db-4c02-ae9c-ee60a593ad9c

8. BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução n. 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília, Diário Oficial da União, 12 dez. 2012. Acesso 04 de novembro de 2019.

9. BUSILACCHI, H.; QUIROGA, M.; BUENO, M.; DI SAPIO, O.; FLORES, V.; SEVERIN, C. Evaluacion de Salviahispanica L. cultiva da enelsur de Santa Fe.CultivosTropicales. v. 34, n. 4, p.55–59, 2013.

10. CAPITANI, M. I. **Caracterização e funcionalidade de subprodutos de chia (salvia hispânica L.) Aplicação em tecnologia de alimentos**. 2013. 204f. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências exatas da Universidad Nacional de LaPlata.La Plata, 2013. https://doi.org/10.5772/53171.

11. CAPITANI, M. I.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C.; Effect of Mucilage Extraction on the Functional Properties of Chia Meals. **Journal of Food Engineering,** v. 149, p. 70–77, 2015.

12. CAPRILES, V. D.; AREAS, J. A. G.; Avanços na produção de pães sem glúten: aspectos tecnológicos e nutricionais. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos,** Curitiba: V. 29, n. 1, p. 129-136. 2011

13. COELHO, M. S. & SALAS-MELLADO M. L. M. Revisão: Composição química, propriedades funcionais e aplicações tecnológicas da semente de chia (Salvia hispanica L.) em alimentos. Brazilian Journal of Food Technology, 17(4), 259-268. 2014. http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.1814.

14. COLONETTI, V. **Caracterização da mucilagem do fruto e cladódio de Cereus hildmannianus K. Schum.** 2012. 83f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2012.

15. Eckert, R. G., & de Oliveira Almeira, P. G. (2014). Análise centesimal e dosagem de ômega3 em semente de chia (Salvia Hispanica) e semente de linhaça (Linum Usitatissimum). Varia Scientia Agrárias, 4(1), 49-64.

16. FASANO, A.; ARAYA, M.; BHATNAGAR, S.; CAMERON. D.; CATASSI, C.; DIRKS M.; 2008. **Celiac Disease Working Group.Federation of International Societies of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Consensus Report on Celiac Disease**.Journal of Pediatric GastroenterololyNutricion.v 47.p 214-219.

17. FASANO.A, CATASSI. C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: An evolving spectrum. **Gastroenterology.** 2001;120: 636-651

18. FENNEMA, O.; PARKIN, K.; DAMODARAN, S.; Química de alimentos de Fennema, Porto Alegre: Artmed, 2010.

19. GALLAGHER, E.; GORMLEY, T.R.; ARENDT, E.K. **Recent advances in the formulation of gluten-free cereal based products.** Trends in Food Science & Technology, v.15, n.3, p.143-152, 2004.

20. GREEN, P.H.R, JABRI, B. **Coeliac disease**. Lancet.2003; 362:383-391.

21. GREEN, P.H.R., STAVROPOULOS, S.N., PANAGI, S.G., GOLDSTEIN, S.L., MCMAHON, D.J., ABSAN, H., NEUGUT, A.I. Characteristics of adult celiac disease in the USA: Results of a national survey. **Am Journal Gastroenterol.**2001; 96: 126-131.

22. GUTKOSKI, L. C.; BONAMIGO, J. M. D. A.; TEXEIRA, D. M. D. F.; PEDÓ, I. **Desenvolvimento de barras de cereais à base de aveia com alto teor de fibra alimentar.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, n. 2, p. 355-363, 2007.

23. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4ª Edição (digital). São Paulo,1020p, 2005.

24. IXTAINA, V. Y,; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Characterization of chia (Salvia hispanica L.) white and dark seeds and oils. In: TOMÁS, M. C. (Ed.). Advances in fats and oils research. Kerala: **Trans world Research Network**, 2010. p. 135-147. 2008.

25. IXTAINA, V. Y.; MARTÍNEZ, M. L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C. M.; MAESTRI, D. M.; DIEHL, B. W. K. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**. 24. 166-174. 2011. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.08.006.

26. IXTAINA, V. Y.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Physical properties of chia (Salvia hispanica L.) seeds. **Industrial Crops and Products**, Amsterdã, v. 28, n. 3, p. 286–293, 2008. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.03.009

27. JANI, G. K.; SHAH, D. P.; PRAJAPATI, V. D.; JAIN, V. C. Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 5, 2009

28. LiN, K.-Y.; DANIEL, J.R.; WHISTLES, R. L.Structure of chia seed polysaccharide exudate**. Carbohydrate Polymers.** Department of Foods and Nutrition, Purdue University, v. 23, p. 13-18. EstadosUnidos da America, 1994.

29. MARTIN, C. A, ALMEIDA, V. V., RUIZ, M. R., VISENTAINER, J. E. MATSHUSHITA, M., SOUZA, N. E, & VISENTAINER, J.V.(Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**,19(6), 761-770, 2006.

30. MIGLIAVACCA, R. A.; VASCONCELOS, A. L. S.; SANTOS, C. L.; BAPTISTELLA, JOÃO L. C. Uso da cultura da chia como opção de rotação no sistema de plantio direto. In: ENCONTRO NACIONAL DE PLANTIO DIRETO NA PALHA, 14, , Bonito. Anais. Brasília: Embrapa, 118p, 2014.

31. Moreira, R.; Chenlo, F.; Torres, M.D..Effect of chia (Sativa hispanica L.) and hydrocolloids on the rheology of gluten-free doughs based on chestnut flour, **Food Science and Technology,** v. 50, p. 160-166, 2013.

32. MUÑOZ, L. A., Cobos, A., Diaz, O.; Aguilera, J. M. Chia seeds: microstructure,mucilage extraction and hydration. **Journal of Food Engineering**, v. 108, p.216 – 224, 2012.

33. MUÑOZ, L.A.; Aguilera, J.M.; Rodriguez-Turienzoa L.; Cobos A.; Diaz, O. Characterization and microstructure of films made from mucilage of Salvia hispanica and whey protein concentrate. **Journal of Food Engineering**, v.111, p.511-518, 2012. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.02.031.

34. PENTEADO, J. P.; MAGALHAES, D.; MASINI, J.C.. Experimento didático sobre cromatografia gasosa: uma abordagem analítica e ambiental. **Quím. Nova**, São Paulo , v. 31, n. 8, p. 2190-2193, 2008 .

35. PEREZ, P.M.P; GERMANI, R. Elaboração de biscoitos tipo salgado, com alto teor de fibra alimentar, utilizando farinha de berinjela (Solanummelongena, L.). **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 186-192, 2007.

36. PERINI, J. A. D. L.,STEVANATO, F.B., SARGI, S.C., VISENTAINER, J. E. L., DALALIO, M. M. O.,MATSHUSHITA, M., SOUZA, N. E., JESUÍ, V. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 23, n. 6, p. 1075-1086, 2010.

37. POLANCO I. Enfermedad celíaca.**Pediatria Integral**, v. 1, n. 2, p.124, 1995.

38. PROSKY, L., ASP, N. G., SCHWEIZER, T. F., DEVRIES, J. W., & FURDA, I. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. **Journal-Association of Official Analytical Chemists**, 71(5), 1017-1023, 1988.

39. RAMOS S., FRADINHO P., MATA P., RAYMUNDO A. Assessing gelling properties of chia (Salvia Hispanica L.) flour through rheological characterization. **Journal of the Science of Food and Agriculture**.;97(6):1753-1760, 2017. https://dx.doi.org/10.1002/jsfa.7971.

40. RAMPAZZO, V. **Avaliação da degradação térmica de óleos vegetais por termogravimetria, cromatografia gasosa e espectroscopia de infravermelho médio**. Curitiba, 2015. 93f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2015.

41. REYES-CAUDILLO E, TECANTE A, VALDIVIA-LÓPEZ M.A. Dietary fiber content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (Salvia hispanica L.) seeds. **Food Chemistry**.;107:656-63, 2008.

42. ROCHA, J. F.; PIMENTEL, R. R.; MACHADO, S. R. Estruturas secretoras de mucilagem em Hibiscuspernambucensis Arruda (Malvaceae): distribuição, caracterização morfoanatômica e histoquímica. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 4, 751-763, 2011.

43. SARGI, S.C.; SILVA, B. C.; SANTOS, H. M. C.; MONTANHER, P.F. ; BOEING J.S. ; SANTOS O.O.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J.V. Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla. **Food Science and Technology**, 33(3), 541-548, 2013. http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612013005000057.

44. SEGURA–CAMPOS, M.; CHI, Z.A.; RUBIO, R.G.; GUERRERO, L.C.; ANCONA, D.B. Whole and crushed nutlets of chia (Salvia hispanica) from Mexico as a source of functional gums. **Food Science and Technology**, 34(4), 701-709, 2014. https://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.6439.

45. Segura–Campos, M.; Chi, Z.A.; Rubio, R.G.; Guerrero, L.C.; Ancona, D.B. Whole and crushed nutlets of chia (Salvia hispanica) from Mexico as a source of functional gums. **Food Science Technology**, v. 34,n. 4, p. 701-709, 2014.

46. SINGH, S.; BOTHARA, S.B. Physico-chemical and structural characterization of mucilage isolated from seeds of Diospyros melon oxylon Roxb. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 4, 2014.

47. SPADA, J. C.; DICK, M.; PAGNO, C. H.; VIEIRA, A. C.; BERNSTEIN, A.; COGHETTO, C. C.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C.; CARDOZO, N. S. M.; FLORES, S. H. Caracterização física, química e sensorial de sobremesas à base de soja, elaboradas com mucilagem de chia. **Ciencia Rural**, v. 44, n. 2, p. 374-379, 2014.

48. STABLE MICRO SYSTEMS. BIS2/KB - TA-XT2 **Application Study. Biscuits/Cookies**, Surrey, p.1-3, 2000.

49. SZCZESNIAK, A.S. Texture is a sensory property**. Food Quality and Preference**, vol. 13, no. 1, p. 215-225, 2002.

50. TONELI, J. T. de C. L.; MURR, F. E. X.; PARK, K. J. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.7, n.2, p.181-204, 2005.

51. TONIAL, I. B., OLIVEIRA, D. F. D., BRAVO, C. E. C., SOUZA, N. E. D., MATSUSHITA, M., & VISENTAINER, J. V. Caracterização físico-química e perfil lipídico do salmão (Salmo salar L.) Physical chemical characterization and lipid profile of salmon (Salmo salar L.). Alimentos e Nutrição, 21(1), 93-98, 2010.

52. TURAN, H.; SÖNMEZ, G.; KAYA, Y. Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray from the Sinop coast in the Black Sea. Journal of Fisheries Sciences, (1), 97-103. 2007). https://doi.org/10.3153/jfscom.2007012.

53. VITALI ČEPO, D; DRAGOJEVIĆ, I. & ŠEBEČIĆ, B. (Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. **Food Chemistry**. 114. 1462-1469. 2009. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.032.

26

Produção de fermentado alcoólico de mandiocaba com pré tratamento enzimático

- Julyana Laura Medeiros **Vaughan**
  UFPA
- Josyani dos Santos **Gonçalves**
  UFPA
- Nadia Cristina Fernandes **Corrêa**
  UFPA
- Vanessa Albres **Botelho**
  UFPA

10.37885/201102240

RESUMO

Objetivo: Produzir um fermentado alcoólico através de duas vertentes para hidrólise do amido: por meio da inoculação direta de fungos do gênero *Aspergillus* sobre a mandiocaba e outra com aplicação de enzimas amilolíticas produzidas por fermentação em estado sólido. **Métodos:** Determinou-se as melhores condições para a produção do extrato enzimático bruto por fermentação em estado sólido avaliando a atividade de água do substrato e o tempo de fermentação. Posteriormente, foram definidos os valores de pH e temperatura ótima. A partir das condições ótimas da enzima, procedeu-se um ensaio empregando o extrato enzimático na hidrólise do amido na mandiocaba *in natura* e outro na mandiocaba com pré tratamento térmico. Um terceiro ensaio foi realizado ao inocular o fungo *Aspergillus* sp. durante 5 dias para quebra do amido. Os mostos hidrolisados foram ajustados em 13 ºBrix e pH igual a 4,5 para a fermentação alcoólica com S. Cerevisae. **Resultados:** Os fermentados apresentaram teor alcoólico entre 3,21 e 4,81% v/v classificando-se como bebidas fermentadas de acordo com a legislação vigente. O destilado da amostra que utilizou a hidrólise do amido com pré-tratamento térmico e aplicação do extrato enzimático apresentou maior teor alcoólico com 69,9% v/v dentre os três métodos utilizados. **Considerações finais:** A mandiocaba apresenta potencial uso para fabricação de bebida fermentada ou para a produção de etanol, tendo em vista que os destilados obtidos no presente trabalho apresentaram alto teor alcoólico.

Palavras-chave: Mandioca, Enzimas Amilolíticas, Fermentação Alcoólica, Hidrólise do Amido.

INTRODUÇÃO

A mandioca é muito utilizada na culinária brasileira tanto na forma *in natura* quanto através de produtos industrializados como: a farinha de mandioca, fécula, polvilho doce e polvilho azedo. Outros produtos à base desta raiz também são significativamente consumidos de acordo com a região ou Estado como, por exemplo, a goma de mandioca, oriunda do Norte e Nordeste e a aguardente de mandioca, denominada de tiquira, um produto tradicional do Estado do Maranhão (AMARAL et al., 2007).

A produção de álcool a partir de mandioca, de acordo com Santana (2007), apresenta algumas dificuldades técnicas e econômicas. A necessidade de hidrólise do amido gera elevação dos custos aliada à baixa produtividade agrícola, não tornando esse processo viável economicamente. Diante disso, o estudo de melhorias no processo tecnológico de produção e melhorias agronômicas da cultura são pontos cruciais para utilização dessa cultura como fonte de carboidratos para produção de etanol.

Para produzir álcool a partir do amido da mandioca, são necessárias as etapas de gelificação do amido, com a posterior liquefação e sacarificação em açúcares simples, fermentação alcoólica e destilação (CEREDA, 2005). Atualmente, existe uma forte tendência em utilizar fermentação em estado sólido para produção de enzimas industriais. Este processo é vantajoso, pois além de simular o hábitat natural de microrganismos (principalmente fungos filamentosos), apresenta maior produtividade, menor susceptibilidade à inibição e maior estabilidade das enzimas (RODRIGUEZ-ZÚNIGA et al., 2011).

Dentre as variedades de mandioca encontradas, a mandioca doce ou mandiocaba, como é popularmente conhecida, vem recebendo especial interesse (SOUZA et al., 2014). Isto porque devido a uma mutação genética, armazena uma quantidade menor de amido em sua raiz e acumula mais glicose diferentemente do que ocorre com as outras variedades (AGUIAR et al., 2014). As possíveis utilizações alimentícias da mandiocaba são: a produção de concentrado rico em glicose e a fécula com “amido naturalmente modificado”. O emprego de fontes amiláceas, como complemento e/ou alternativa à sacarose da cana-de-açúcar, pode levar o desenvolvimento agroindustrial à várias regiões brasileiras que têm tradição no cultivo de tubérculos, principalmente a mandioca (Manihot spp).

OBJETIVO

Avaliar a viabilidade da mandiocaba para produção de fermentado alcoólico utilizando enzimas fúngicas.

Objetivos específicos:

- Isolar e identificar o fungo filamentoso e avaliar o seu potencial de produção de enzimas amilolíticas;
- Determinar o pH e temperatura ótimos da atividade enzimática do extrato bruto;
- Aplicar o extrato enzimático bruto na hidrólise do amido da mandiocaba;
- Produzir fermentado alcoólico de mandiocaba;
- Produzir etanol a partir da fermentação sólida de mandiocaba hidrolisada.

MÉTODOS

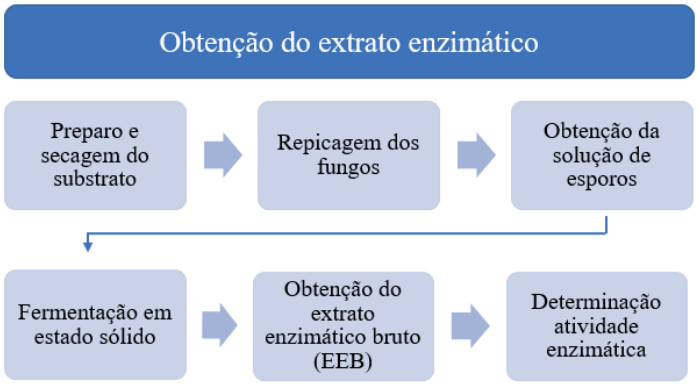
Preparo do substrato

As raízes de mandioca utilizada foram obtidas em um mercado na cidade de Belém do Pará. As raízes foram higienizadas em água clorada a 200 ppm e trituradas em moinho de facas tipo Willey. Duas amostras foram levadas à secagem em estufa de convecção de ar forçado a 55º C por 55 e 90 minutos, enquanto a terceira amostra não passou pelo tratamento de secagem. A atividade de água das amostras foi determinada por meio de um higrômetro (Aqualab).

Produção do extrato enzimático bruto

A metodologia empregada para a produção do extrato enzimático bruto pode ser observada de forma geral na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma para obtenção do extrato enzimático



Inóculo, identificação do microrganismo e obtenção de esporos

Os microrganismos obtidos a partir do ambiente foram inoculados em Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) e incubados a 25ºC. Após 7 dias de crescimento das

colônias foram verificadas as características morfológicas tanto macroscópicas quanto microscópicas. Foram analisadas a coloração das colônias e do reverso, textura das colônias, disposição das métulas sobre a vesícula, forma das vesículas e forma dos conídios (THOM; RAPER, 1945; ABARCA, 2000)

Após o período de incubação, os esporos foram recuperados com adição de água destilada estéril e o auxílio de uma micropipeta. A suspensão foi recolhida em tubos de ensaio e a contagem realizada em Câmara de Neubauer como descrito por Spier (2005).

Fermentação em estado sólido

A fermentação foi realizada em estufa bacteriológica (30ºC/9 dias). Utilizou-se erlenmeyers de 250 mL como biorreatores e 10 g de substrato em diferentes atividades de água (0,99, 0,98 e 0,92). Todos erlenmeyers foram esterilizados (121ºC/15 min), após o resfriamento, 1 mL da solução de esporos contendo uma concentração de 10^8/mL foi inoculada.

Fermentação em estado sólido em condições determinadas

A partir da definição da melhor condição de atividade de água no substrato, as fermentações foram realizadas em diferentes períodos de incubação (6, 18, 24, 46 e 66 horas), onde inoculou-se uma solução de 10^8 esporos/g de substrato em 10 g de mandioca, previamente autoclavados e levados a estufa bacteriológica a 30ºC.

Obtenção do extrato enzimático bruto

Após a fermentação, foram adicionadas 100 mL de água destilada estéril nos erlenmeyers que foram levados para uma mesa agitadora por 30 min. O conteúdo dos frascos foi posteriormente centrifugado (3000 rpm/15 min), o sobrenadante foi filtrado (papel filtro Whatman nº1) e o líquido recolhido foi mantido refrigerado por no máximo 2 dias.

Determinação da atividade do complexo enzimático

A atividade enzimática foi estimada através da sua capacidade de hidrolisar o amido em açúcares redutores, os quais foram quantificados através do método ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959). Os ensaios foram conduzidos em tubos de ensaio contendo 1 mL do extrato enzimático e 1 mL de solução de amido solúvel 1% em tampão fosfato 0,05M e pH 7,0, onde foram incubados a (37ºC/30 min). Os açúcares produzidos foram quantificados pela adição de 1 mL do ácido dinitrosalicílico em 1 mL do extrato anterior em banho maria (100ºC/5 min). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 570 nm. Uma

unidade de atividade enzimática corresponde a capacidade de a enzima liberar 1 μmol de açúcares redutores por minuto, nas condições dadas pelo ensaio (ALVA et al., 2007).

Efeito da temperatura e do pH sobre a atividade enzimática

O efeito da temperatura sobre a atividade enzimática foi avaliado através da incubação de 1 mL da enzima em 1mL de tampão fosfato 0.05M e pH 7.0 contendo 1% de amido, nas temperaturas: 35, 45, 55, 65 e 75ºC. Para os ensaios do pH ótimo, utilizou-se a solução tampão McIlvaine (MCILVAINE, 1921) nos pHs 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 e 8.0 e procedeu-se a dosagem enzimática conforme a metodologia descrita no item "Determinação da atividade do complexo enzimático".

Produção do fermentado alcoólico

A produção do fermentado alcoólico foi baseada em três diferentes processos de hidrólise do amido, um com o fungo *Aspergillus* sp. e dois com o extrato enzimático bruto, diferenciados pelo tratamento da mandiocaba antes da hidrólise de acordo com a figura 2.

Mandiocaba

As raízes procedentes de um produtor rural de Cametá - PA foram lavadas, descascadas, higienizadas em água clorada a 200 ppm e armazenadas a -18ºC até o momento de seu uso. Para a realização dos experimentos, a raiz foi descongelada, cortada e triturada em processador de alimentos. Realizou-se análises de açúcares totais, amido, pH e umidade (IAL, 2008) na mandiocaba triturada.

Fungos filamentosos

Os fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* sp. foram cultivados em meio Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) durante 7 dias em estufa bacteriológica a 25ºC. As colônias foram retiradas com adição de água destilada e auxílio de alça de drigalski. A solução de esporos foi armazenada em estufa a 25°C.

Extrato enzimático bruto

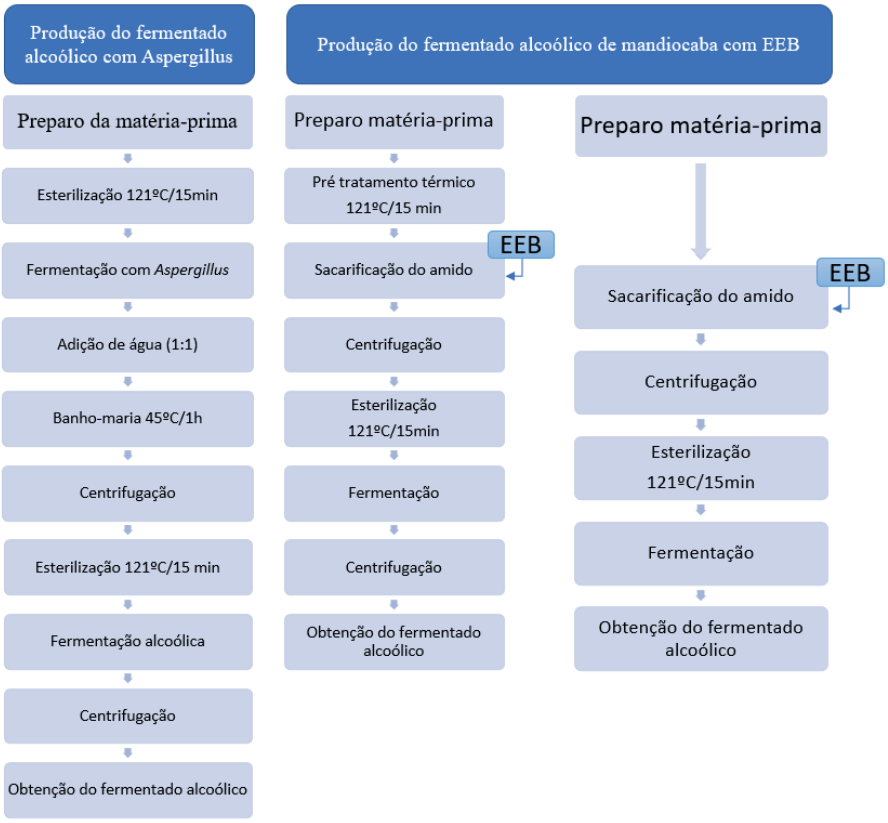
Foram pesados 10 g de mandioca com a_w de 0,98 em cinco erlenmeyers de 250 mL, que em seguida foram autoclavados. Adicionou-se 10 mL da solução de esporos em cada erlenmeyer com concentração de 10^8 esp/mL, e estes foram incubados em estufa bacteriológica

(30°C/18 horas). Após a fermentação, o extrato enzimático bruto foi extraído de acordo com o item “Obtenção do extrato enzimático bruto”.

Hidrólise da mandiocaba com fungos filamentosos

Em erlenmeyers de 250 mL com 100 g de mandiocada triturada e autoclavada forma adicionados 4 mL da solução de esporos do fungo *Aspergillus* sp. Os erlenmeyers foram incubados em estufa DBO a 25°C por aproximadamente 5 dias e meio (132 horas). Após a fermentação foram adicionados 100 mL de água destilada estéril em cada amostra, as soluções foram homogeneizadas e incubadas em banho maria de (45°C/1 hora) para intensificar a hidrólise enzimática do amido. Para total separação das fases líquida e sólida, as soluções foram centrifugadas (3000 rpm/15 min). O mosto foi autoclavado e armazenado sob refrigeração para as análises posteriores e fermentação alcóolica, adaptado de acordo com Souza (2014).

Figura 2. Fluxograma da produção de fermentado alcoólico utilizando *Aspergillus* sp. e extrato enzimático para sacarificação do amido.



Hidrólise da mandiocaba com fungos filamentosos

Em erlenmeyers de 250 mL com 100 g de mandiocada triturada e autoclavada forma adicionados 4 mL da solução de esporos do fungo *Aspergillus* sp. Os erlenmeyers foram incubados em estufa DBO a 25°C por aproximadamente 5 dias e meio (132 horas). Após

a fermentação foram adicionados 100 mL de água destilada estéril em cada amostra, as soluções foram homogeneizadas e incubadas em banho maria de (45°C/1 hora) para intensificar a hidrólise enzimática do amido. Para total separação das fases líquida e sólida, as soluções foram centrifugadas (3000 rpm/15 min). O mosto foi autoclavado e armazenado sob refrigeração para as análises posteriores e fermentação alcóolica, adaptado de acordo com Souza (2014).

Hidrólise da mandiocaba com extrato enzimático bruto

Inicialmente foram adicionados 100 g de mandiocaba triturada em erlenmeyers de 250 mL, onde um destes foi esterilizado em autoclave e o outro não. O extrato enzimático bruto foi adicionado na mandiocaba na proporção 1:2; as soluções foram incubadas em banho-maria (65 °C/60 min), temperatura ótima encontrada para a enzima utilizada, adaptado segundo Zurita (2010). As amostras foram submetidas a um processo de centrifugação a (3000 rpm/15 min) e o hidrolisado resultante foi submetido as análises físico-químicas e autoclavado para ser utilizado na fermentação alcóolica.

Análises físico-químicas dos hidrolisados de mandiocaba

Todos os hidrolisados de mandiocaba, foram submetidos às análises de pH, sólidos solúveis e açúcares redutores. O pH foi medido em potenciômetro digital, de acordo com o método 017/IV IAL (2008); a concentração de sólidos solúveis das amostras foi determinada em refratômetro ABBE de bancada a 20°C, conforme método 932.12 AOAC (1977); e as análises de açúcares redutores foram determinadas pelo método do ácido 3,5 dinitrosalicilico (DNS), conforme metodologia descrita por Miller (1959).

Fermentação alcoólica

Para diminuição do pH foi utilizada solução de ácido cítrico 0,1M e para aumentá-lo foi utilizado bicarbonato de sódio. A correção de sólidos solúveis foi efetuada através de chaptalização com sacarose. Foram realizadas fermentações com 3 ensaios diferentes, um hidrolisado com *Aspergillus* sp.; um hidrolisado de mandiocaba esterilizada para adição do complexo enzimático; e um hidrolisado de mandiocaba crua com complexo enzimático. Os três mostos foram fermentados com levedura S. cerevisae comercial da marca Fleishmann, na proporção de 20 g/L citada por Zurita (2010). A fermentação alcoólica foi realizada por 24 horas a 30 °C.

Análises físico-químicas do fermentado alcoólico de mandiocaba

As análises realizadas nos fermentados alcoólicos, previamente centrifugadas (3000 rpm/15 min) foram pH, sólidos solúveis, acidez total, de acordo com os métodos citados anteriormente. A acidez total foi determinada por método titulométrico com NaOH 0,1M, de acordo com o método 235/IV IAL (2008). Para determinação da porcentagem de álcool, as amostras foram destialadas e no destilado resultante foi medida a densidade relativa a 20°C/20°C com picnômetro conforme o método 215/IV IAL (2008). A massa de etanol da fração destilada e o percentual alcoólico do mosto foram calculados através das equações 1 e 2, respectivamente.

Massa de Etanol= (MD×TAD)/100 Equação 1

Onde: MD representa a massa do destilado e TAD o teor alcoólico do destilado

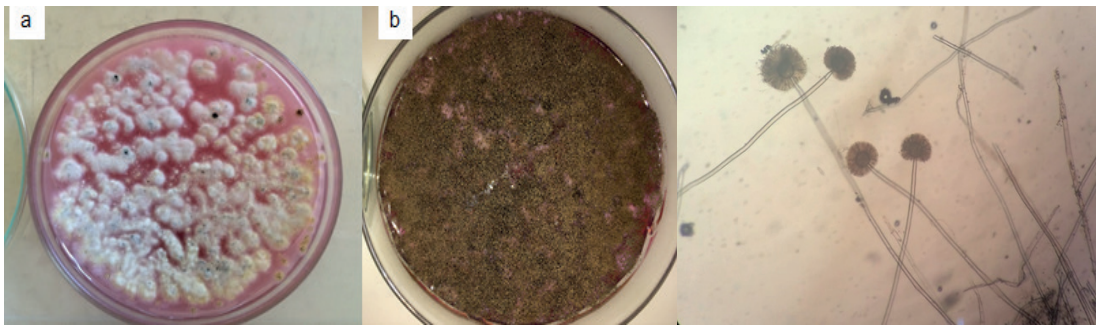
$$\frac{(\text{Massa de etanol} \times 100)}{\text{Massa a destilar}}$$ Equação 2

RESULTADOS

Identificação do gênero *Aspergillus* sp

Durante os primeiros dias de incubação as colônias apresentaram coloração branca com textura veludosa (Figura 3a). Após 7 dias a coloração passou à marrom escuro com textura igualmente veludosa e presença de esporulação (Figura 3b).

Figura 3. Colônia do *Aspergillus* (a) após 2 dias de incubação (b) após 7 dias de incubação (c) Fotomicrografia das estruturas microscópicas.



A partir da morfologia da colônia observada microscopicamente (Figura 3c), verificou-se a presença de estruturas típicas do gênero *Aspergillus* sp.

Quantificação preliminar da produção de amilase

De acordo com os resultados prepostos na Tabela 1, foi verificado que o fungo apresentou potencial para a produção de enzimas amilolíticas, sendo o tempo de secagem durante 50 minutos o melhor tratamento dado ao substrato e a atividade de água de 0,98 a melhor condição para a atividade enzimática que alcançou 156,61 U.

Tabela 1. Atividade do complexo enzimático em diferentes atividades de água.

Tempo de secagem (min)	Aw	Atividade enzimática (U)
0	0,99	56,46
50	0,98	156,61
90	0,92	48,45

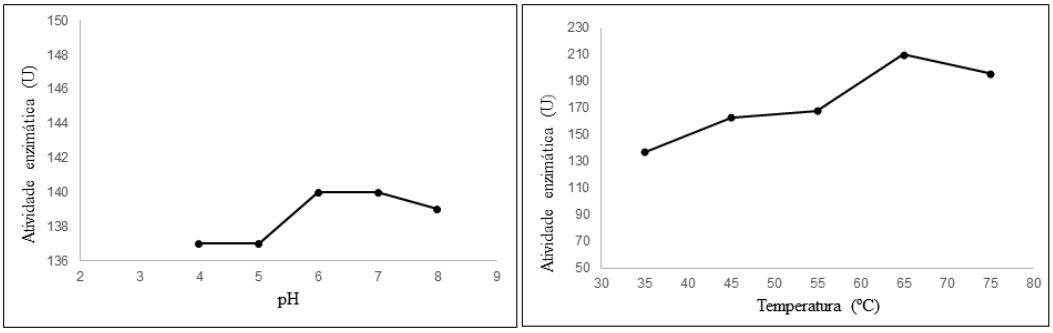
Efeito do tempo de cultivo sobre a produção das amilases<S>

O tempo influenciou de forma significativa a produção enzimática onde a maior atividade amilolítica obtida foi de 165,34 U em 18 horas de fermentação.

Determinação do pH e temperatura ótimo na atividade amilolítica

O estudo da atividade amilolítica nos valores de pH 4,0 a 8,0, indicou que enzima é ativa em toda a extensão desta faixa de pH. De acordo com os dados obtidos é possível observar que a atividade no pH 4,0 e 5,0 apresentaram o mesmo valor, com um aumento no pH 6,0 e uma posterior redução da atividade no pH 8,0 (Figura 4a). No presente trabalho, o pH 6 foi estabelecido como a condição de trabalho para determinação da temperatura ótima enzimática e sua aplicação na hidrólise da mandiocaba. A temperatura ótima para a enzima do extrato bruto em pH 6 foi de 65°C, onde a atividade enzimática alcançou 200 U (Figura 4b).

Figura 4. Atividade enzimática (a) influenciada pelo pH do meio (b) sob diferentes temperaturas.



Análises físico-químicas da mandiocaba

A Tabela 2 apresenta alguns parâmetros físico-químicos após a trituração da raiz da mandiocaba.

Tabela 2. Parâmetros físico-químicos da mandiocaba[1]

Variáveis	Valor
pH	6,17 ± 0,01
Umidade (%)	54,3 ± 0,14
Amido (%)	5,91 ± 0,80
Açúcares totais (%)	3,19 ± 0,38

[1]Em base úmida. Os resultados dispostos foram expressos como a média ± o desvio padrão.

Mosto obtido após hidrólise do amido com fungo *Aspergillus* sp.

Após a fermentação do mosto o pH diminuiu consideravelmente após o processo em relação ao pH inicial da mandiocaba, de 6,17 para 2,12. O mosto hidrolisado com *Aspergillus* sp apresentou um teor de sólidos solúveis de 6,9°Brix e 19,54 $g.L^{-1}$ de açúcares redutores. Devido ao baixo teor de sólidos solúveis foi feita uma chaptalização com sacarose para 13°Brix.

Mosto obtido após hidrólise do amido com extrato enzimático bruto (EEB)

A mandiocaba triturada apresentou um valor de açúcares redutores de 10,28 $g.L^{-1}$. Após o pré-tratamento (121ºC/15 min), esta concentração aumentou para 19, 86 $g.L^{-1}$ e depois da hidrólise com o extrato enzimático bruto, os açúcares passaram para 27,60 $g.L^{-1}$. Quando a mandiocaba triturada foi submetida diretamente a hidrólise enzimática, sem o pré-tratamento, a concentração de açúcares permaneceu quase constante a um valor final de 10, 59 $g.L^{-1}$, indicando que não houve a hidrólise do amido e formação de açúcares redutores durante este processo.

Ao final da hidrólise, o mosto que foi submetido ao pré-tratamento, apresentou pH igual a 6,06 e 5,75 ºBrix, enquanto o mosto submetido diretamente à hidrólise com o extrato enzimático, exibiu um hidrolisado com pH igual a 6,12 e 3,25 ºBrix. Para dar início a fermentação alcoólica o pH foi ajustado para 4,5 com solução de ácido cítrico a 0,1M.

Fermentados alcoólicos

As fermentações dos ensaios foram conduzidas nas mesmas condições de temperatura e tempo para avaliação dos parâmetros físico-químicos do fermentado após o término do processo. A Tabela 3 mostra os parâmetros analisados de cada fermentado.

Tabela 3. Análises físico-químicas dos fermentados alcoólicos.

Amostra	ºBrix	pH	Acidez total (meq/L)	Teor alcoólico do mosto fermentado (% v/v)	Teor alcoólico do destilado (% v/v)
(A) Hidrólise do amido pelo fungo *Aspergillus sp*.	8,25	4,30	64,4	4,81	53,5
(B) Hidrólise com extrato enzimático bruto	5,25	4,0	55,12	3,21	68,9
(C) Hidrólise com pré-tratamento e EEB	5,00	4,0	55,12	3,27	69,9

DISCUSSÃO

Identificação do gênero *Aspergillus* sp

Em estudo da taxonomia de espécies de Aspergillus, Abarca (2000) observou a coloração marrom escura a negra em colônias de A. niger. e sinalou que colônias mais flocosas e esbranquiçadas ocorrem devido a uma menor esporulação. Este gênero é caracterizado pela formação de hifas, denominadas conidióforos, onde encontram-se células conidiogênicas responsáveis pela produção de esporos assexuais, os conídios. Apesar do conidióforo ser considerado apenas uma única estrutura, este apresenta três partes bem detalhadas: vesícula, estipe e a célula pé (ABARCA, 2000).

Efeito do tempo de cultivo sobre a produção das amilases

A expressiva atividade enzimática no início da fermentação pode ser explicada pela necessidade do microrganismo em produzir enzimas que convertam o amido da matéria prima em açúcares redutores, permitindo assim o desenvolvimento celular dos fungos (FERREIRA, 2011). A posterior redução da atividade pode ser provocada pelo esgotamento de nutrientes ou pela síntese de subprodutos que inibem o crescimento celular e, portanto, a produção de enzimas (CRUZ et al. 2011).

Determinação do pH ótimo na atividade amilolítica

O pH ótimo para a atuação das enzimas amilolíticas diferem dentre alguns estudos. Cruz et al. (2011) relatam um valor ótimo de pH para amilases de *A. niger* em pH 6,0. Um estudo realizado por Minafra (2007) indicou maior atividade da α-amilase na faixa de pH entre 3,0 a 9,0 e uma faixa ótima para pH de 5,0 a 8,0. Alva et al. (2007) obtiveram resultados semelhantes, indicando que a amilase é ativa na faixa de pH entre 5,8 e 9,0, isto sugere que a enzima amilolítica pode ser utilizada tanto em processos que requerem pH levemente ácido quanto àqueles que o requerem alcalino.

Determinação da temperatura ótima na atividade amilolítica

Em estudo realizado por Escaramboni (2014) a faixa de temperatura ótima encontrada para ação da amilase foi de 60 a 65°C. O aumento da atividade enzimática se deve a ativação pela temperatura na qual os átomos adquirem muita energia e grande tendência a se moverem. Após este período ocorre a desnaturação ou desativação térmica causada pelo rompimento das fracas interações que mantém unida a estrutura globular da proteína (BAILEY e OLLIS, 1986).

Análises físico-químicas da mandiocaba

O valor de pH igual a 6,17 encontrado para mandiocaba triturada apresentou concordância com alguns autores que avaliaram o pH da variedade convencional de mandioca. Souza (2014) obteve pH igual a 6,50 para a massa de mandioca, cujo valor concorda com o pH 6,69 encontrado por Agustini e Emilio Junior (2007). Ao determinar o pH do caldo da mandiocaba para a produção de etanol, Souza et al. (2014) verificou um valor igual a 6,70.

Para a avaliação da hidrólise do amido através da inoculação do fungo *Aspergillus* sp, o pH da mandiocaba apresentou-se satisfatório para a fermentação sem haver a necessidade de ajustes, já que geralmente os fungos filamentosos preferem pH entre 4,0 e 6,0 (PANDEY, 2003).

O teor de umidade encontrado no presente trabalho apresentou-se abaixo dos valores dispostos nos trabalhos de Souza (2010) e Souza et al. (2014) onde a raiz contou com 90% e 81,88% de umidade, respectivamente. Este baixo teor de umidade pode estar relacionado ao processo de congelamento e descongelamento realizado mais de uma vez da matéria-prima antes da análise desta variável.

Em estudo realizado por Couto (2013) o amido nas raízes de mandioca variou de 28,25% a 36,3% em diferentes épocas de colheita, já Agustini e Emilio Junior (2007) encontraram um valor intermediário de 31,9% de amido em base úmida. Em contrapartida, os valores de amido encontrados por Souza (2010) nas raízes de mandiocaba variaram de 1,95% a 4,40% (em base úmida) dependendo da localização de cultivo. Embora o teor de amido estabelecido neste estudo esteja acima dos valores encontrados na literatura, ainda se encontra bem abaixo do teor de amido nas variedades de mandioca convencionais.

Os açúcares totais (3,19%) encontrado no presente trabalho está próximo ao obtido por Souza (2010). Ao avaliar três acessos diferentes das raízes, o autor encontrou teores de 3,92%, 4,76% e 5,84% em base úmida de açúcar total.

Mosto obtido após hidrólise do amido com fungo *Aspergillus* sp.

Durante a fermentação o pH tende a diminuir, pois ocorre a formação de íons de hidrogênio característicos do crescimento e multiplicação dos microrganismos. O pH possui grande influência sob diversos fatores durante a fermentação, tais como: solubilidade de proteínas, crescimento de bactérias indesejáveis, efetividade do dióxido de enxofre, além de reações de escurecimento (STARZAK et al., 1994).

O teor de sólidos solúveis de 6,9°Brix, encontrado o presente estudo, é considerado um valor baixo para o processo fermentativo, porém semelhante ao valor de 6,46°Brix encontrado por Souza (2013), em estudo de avaliação da produção de etanol pela fermentação do caldo de mandiocaba.

Neste trabalho, foi obtido um valor de 19,54 $g.L^{-1}$ para os açúcares redutores. Um conteúdo de açúcares em torno de 16% é considerado adequado para o processo fermentativo, muito acima disto a fermentação torna-se lenta e incompleta, enquanto que valores menores diminuem o rendimento do destilado e facilitam a contaminação do mosto com bactérias produtoras de ácido acético (CANTÃO, 2006).

Mosto obtido após hidrólise do amido com extrato enzimático bruto (EEB)

O aumento da concentração de açúcares no mosto após o tratamento térmico, pode se dar devido a alteração das propriedades físico-químicas da cadeia do amido, onde a extensão dessas mudanças é influenciada pelo teor de umidade e temperatura durante o tratamento, tal processo tem caráter fundamental para promover a gelificação do amido e facilitar a ação das amilases (SANTANA, 2007).

A atividade enzimática dos maltes de cereais encontrados por Santana (2007) (111 UA para cevada e 95,5 UA para trigo) apresentaram valores semelhantes aos valores do extrato enzimático bruto utilizado durante esta pesquisa, porém o autor conduz a hidrólise do amido durante 24 horas enquanto que esta etapa é realizada, no presente estudo, durante 1 hora. Este fator pode ter sido determinante para a obtenção de mostos com uma pequena concentração de açúcares redutores.

Fermentados alcoólicos

O pH dos fermentados apresentaram um decréscimo de 4,5, valor fixado antes da fermentação alcoólica, para aproximadamente 4,0 após o término da fermentação. Ao avaliar alguns fatores que afetam a fermentação, Lin et al. (2012), concluíram que a faixa ótima de pH para a produção de etanol está entre 4,0 e 5,0, quando este parâmetro estava acima de

5 a quantidade de etanol produzida diminuía substancialmente e na faixa entre 3,0 e 4,0 o tempo de incubação para iniciar a produção de etanol era muito maior.

A acidez de todos os fermentados apresentou valores muito elevados quando comparados a dados encontrados na literatura. Ao produzir fermentado de mandioca, Souza (2014) obteve um mosto com acidez total de 9,60 meq.L^{-1}.

A hidrólise do amido no presente trabalho se deu a partir da fermentação do fungo *Aspergillus* sp. e pela utilização de suas enzimas produzidas durante a FES, além de uma posterior fermentação alcoólica para a conversão dos açúcares em álcool. Estas duas fermentações podem ter contribuído para uma elevada acidez no fermentado alcoólico, contudo uma acidez muito elevada pode indicar contaminação do meio (BARBOSA, 2014).

A elevada acidez pode ter interferido na fermentação alcoólica e consequentemente o consumo de açúcar por parte da *S. cereviseae*. O mosto que utilizou o fungo na etapa de hidrólise do amido apresentou maior acidez e 8,25 ºBrix ao final da fermentação, enquanto que os mostos que utilizaram o extrato enzimático apresentaram menor acidez e a fermentação proporcionou a redução de teor de sólidos solúveis de 13ºBrix para 5,25ºBrix, indicando que houve maior consumo de açúcar.

Os fermentados obtidos nas três condições estudadas apresentam grande potencial para a produção de bebida, pois de acordo com a legislação vigente, as bebidas alcoólicas devem possuir graduação alcoólica acima de 0,5% v/v até 54% v/v, a 20ºC (BRASIL, 2009). Se a acidez for comparada com a legislação para fermentados de frutas, estes encontram-se dentro dos valores estabelecidos que informa um mínimo de 50 meq.L^{-1} e máximo de 130 meq.L^{-1}. Tal comparação foi realizada visto que não há uma legislação especifica para fermentado de tubérculos (BRASIL, 2008).

CONCLUSÃO

Os três processos utilizados forneceram produtos finais com teor alcoólico maior do que 0,5% v/v, o que indica a viabilidade de utilizar estes processos para a produção de bebidas.

Dentre as três metodologias utilizadas para a hidrólise do amido, a que utilizou o pré-tratamento térmico em conjunto com o extrato enzimático apresentou-se mais eficiente na quebra do amido e formação de açúcares redutores do que as demais testadas. No entanto, esta etapa necessita ser melhorada para obtenção de maior concentração de açúcares fermentescíveis, a fim de não necessitar de ajustes do ºBrix para a fermentação alcoólica.

Outra alternativa é a utilização dos mostos fermentados para a produção de etanol já que os destilados obtidos apresentaram elevado teor alcoólico, chegando a 69,9% v/v no processo que utilizou duas etapas associadas para a hidrólise do amido (pré-tratamento térmico e extrato bruto de enzimas amilolíticas).

REFERÊNCIAS

1. ABARCA, M., L.; Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. **Revista Ibero-americana de Micologia**; 17: S79-S84, 2000. Disponível em: < http://reviberoammicol.com/2000-17/S79S84.pdf>.

2. AGUSTINI, D; EMILIO JUNIOR, H. Produção de álcool de mandioca a partir de hidrólise enzimática natural. **Synergismus Scyentifica**, PatoBranco, v. 2, p. 1-4, 2007. Disponível em: < http://revistas.utfpr.edu.br/pb/index.php/SysScy/article/view/191>.

3. AGUIAR. R.; CUNHA. R. L.; CUNHA. E. F. M.; SOUZA. K. M. B. S. **Obtenção de etanol utilizando-se de mandiocaba (Manihot Esculenta Crantz)**. 18º Seminário de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 12 a 14 de agosto de 2014, Belém. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/994655>.

4. ALVA, S. et al. Production and characterization of fungal amylase enzyme isolated from *Aspergillus* sp. JGI 12 in solid state culture. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n.5, p. 576-581, 2007. Disponível em: < https://academicjournals.org/journal/AJB/article-full-text-pdf/5D6AC156359>.

5. AMARAL. L.; JAIGOBIND. A. G. A.; JAISINGH. S. **Processamento da mandioca**. SBRT – Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas, Instituto de Tecnologia do Paraná. Março, 2007. Disponível em: < http://respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/NjY=>. AOAC. **The Association of Official Analytical Chemists**. 1977.

6. BAILEY, J. M.; OLLIS, D. F. **Biochemical Engineering Fundamentals**. Mc Graw- Hill Itnl Editions, 2 ed., p.928, 1986.

7. BARBOSA, C. D. **Obtenção e caracterização de vinho e vinagre de manga (Mangifera indica L.): parâmetros cinéticos das fermentações alcoólica e acética**. Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais, 2014. Disponível em:< https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUBD9JNJBN/1/disserta__o_vers_o_final.pdf>.

8. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria Nº 64, de 23 de abril de 2008 Aprova o Regulamento técnico para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para fermentado de fruta, 2008.

9. BRASIL. Decreto Nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, dispõe sobre a Padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Brasília, DF, 2009.

10. CANTÃO, F. O. **Análises físico-químicas e avaliação da presença do cobre em aguardentes de cana por alumino silicatos**. Dissertação. Universidade Federal de Lavras, 2006. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/1950>.

11. CEREDA, M.P. Tiquira e outras bebidas de mandioca. In: VENTURINI FILHO, W. **Tecnologia de bebidas**. São Paulo, Ed. Edgard Blücher, cap.21, p.525-550, 2005.

12. COUTO, E. M.; **Caracterização de cultivares de mandioca do semi-árido mineiro em quatro épocas de colheita**. Tese. Universidade Federal de Lavras, 2013. Disponível em: < http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/1083>.

13. CRUZ, E. A.; MELO, M. C.; SANTANA. N. B.; FRANCO, M.; SANTANA, R. S. M.; SANTOS, L. S.; GONÇALVES, Z. S. Produção de Alfa-Amilase por *Aspergillus niger* em Resíduo de Cascas de Mandioca. **Revista UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, p. 245-249, 2011. Disponível em: < https://revista.pgsskroton.com/index.php/JHealthSci/article/view/1120#:~:text=Resumo,com%20diferentes%20teores%20de%20umidade>.

14. ESCARAMBONI, B. **Produção de amilases pelo cultivo em estado sólido de rhizopus microsporus var. Oligosporus e sua utilização na obtenção de xarope de glicose**. Dissertação. Universidade Estadual Paulista, 2014. 62 p. Disponível em: < https://repositorio.unesp.br/handle/11449/134177?locale-attribute=es>.

15. FERREIRA, O. E. **Aproveitamento de subprodutos agroindustriais para a produção de amilases fúngicas: estudo de parâmetros fermentativos e caracterização das enzimas**. Dissertação. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São Paulo, 2011. Disponível em: < https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UNSP_3b579bc197a7c499e5a82f0f8c1d255c>.

16. IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de Alimentos. 4ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1020p., 2008.

17. LIN, Y.; Zhang, W.; Li, C.; Sakakibara, K.; Tanaka, S.; Kong, H. Factors affecting ethanol fermentation using Saccharomyces cerevisiae BY4742. **Biomass and Bioenergy**. v. 47, p. 395-401, 2012. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953412003595>.

18. MCILVAINE. T. A. Buffer solution for colorimetric comparison. **Journal of Biological Chemistry**, v. 49, n. 1, p. 183-186 1921. Disponível em: < https://www.jbc.org/content/49/1/183.full.pdf-issue=1>.

19. MILLER, G. L.; Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v.31, n.3, p 426-428, 1959. Disponível em: < https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac60147a030>.

20. MINAFRA, C. S. **Produção e suplementação com α-amilase de Cryptococcus flavus e *Aspergillus niger* HM2003 na dieta de frangos de corte de um a 21 dias de idade**. Tese. Universidade Federal de Viçosa, MG, 2007. Disponível em: < https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/284>.

21. PANDEY, A. Solid state fermentation. Biochemical. **Engineering Journal**, v.13, n. 2/3, p.81-84, 2003. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369703X02001213>.

22. RODRIGUEZ - ZÚNIGA, U. F.; FARINAS, C. S.; NETO, V. B.; COURI, S.; CRESTANA, S. Produção de Celulases por Arpergillus níger por fermentação em estado sólido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.8, p.912 919, ago. 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2011000800018>.

23. SANTANA, N. B.; **Eficiência da hidrólise de amido de mandioca por diferentes fontes de enzimas e rendimento da fermentação alcoólica para produção de etanol**. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, 2007. Disponível em: < https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/2828>.

24. SOUZA, H. A. L. **Caracterização e estudo da viabilidade tecnológica do aproveitamento da mandiocaba**. Dissertação. Universidade Federal do Pará, 2010. Disponível em: <http://ppgcta.propesp.ufpa.br/index.php/br/teses-e-dissertacoes/dissertacoes/43-2010>.

25. SOUZA, I. A. S. **Produção de aguardente de mandioca utilizando o fungo *Aspergillus Oryzae* para liquefação e sacarificação do amido**. Monografia de Conclusão de Curso, Universidade Federal de Brasília, 2014. Disponível em: < https://bdm.unb.br/handle/10483/10345>.

26. SOUZA. L. S. S. **Avaliação do processo de produção de etanol pela fermentação do caldo de mandiocaba (Manihot esculenta Crantz)**. Dissertação. Universidade Federal do Pará, 2013. Disponível em: < http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/4647>.

27. SOUZA. L. S. S.; PEREIRA. A. M.; FRANÇA, L. F.; CORRÊA. N. C. F. Otimização dos parâmetros operacionais da fermentação alcoólica da mandioca doce (Manihot Esculenta Crantz). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande. v.16, n.2, p.147-154, 2014. Disponível em: < http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev162/Art1623.pdf>.

28. SPIER, M R. **Produção de enzimas amilolíticas fúngicas α-amilase e amiloglucosidase por fermentação no estado sólido**. Dissertação. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005. Disponível em: < https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/4684/disser;jsessionid=98C994E539B49F565DF9FD6E97A70F53?sequence=1>.

29. STARZAK, M. et al. Macroapproach kinetics of ethanol fermentation by Saccharomyces cerevisiae: experimental studies and mathematical modelling. **The Chemical Engineering Journal**, v. 54, p. 221-240, 1994. Disponível em: < https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/092304679400210X>.

30. THOM, C.; RAPER, K. B. **A manual of the Aspergilli**. Baltimore, MD, U.S.A, 1945. Disponível em: < https://doi.org/10.5962/bhl.title.5694>.

31. ZURITA, E. **Efeito de enzimas comerciais e naturais utilizadas na hidrólise da mandioca sobre a qualidade sensorial da tiquira.** Dissertação. Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2010. Disponível em: < https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/102?show=full>.

27

Quantificação de proteínas em cevada para malteação: comparação de métodos

- Isabella de Oliveira **Cenci**
  UnB
- Bernardo Pontes **Guimarães**
  UnB
- Renato Fernando **Amabile**
  UnB
- Grace Ferreira **Ghesti**
  UnB

10.37885/201102203

RESUMO

O Brasil importa cerca de 60% de todo malte empregado para a produção de cerveja, a qual é realizada em o território nacional. Mesmo sendo um país agrícola, apenas uma pequena fração da produção de cevada apresenta as características desejadas para a produção de malte cervejeiro. Visando suprir a crescente demanda, reduzir a dependência do país em relação ao malte estrangeiro, e ainda reduzir os custos de logística, as indústrias malteiras e as empresas de melhoramento genético passaram a concentrar-se na adaptação da cevada ao Cerrado brasileiro. Para a aplicação dessas cevadas no processo de malteação, são necessários estudos para o desenvolvimento de cultivares com qualidade adequada, que sejam adaptadas à região e que ainda possuam potencial produtivo. Dada a importância da proteína ao processo cervejeiro, quatro métodos de quantificação de proteínas foram comparados, sendo eles: métodos de combustão – elementar de CHN e Dumas – e por digestão – Kjeldahl, e análise por injeção em fluxo (FIA). As metodologias testadas mostraram bons resultados de correlação entre si (maiores que 0,881), uma vez que as variações apresentadas foram associadas à complexidade da matriz e a erros sistemáticos (amostragem e preparo de amostra). Sendo assim, afirma-se que para a quantificação de proteínas de cevada, todas as metodologias apresentadas são válidas, do ponto de vista agronômico. No entanto, recomenda-se o uso dos métodos de combustão, por gerarem menos resíduos nocivos à saúde e ao meio ambiente, além de gerar resultados em até 6 minutos.

Palavras-chave: Quantificação de Proteínas, Proteínas de Cevada, Kjeldahl, Dumas.

INTRODUÇÃO

No Brasil, o consumo atual de cerveja chega a 60,7 litros por pessoa. Desde 2007, o Brasil ocupa o posto de terceiro maior produtor – e, consequentemente, consumidor de cerveja – do mundo (DIAS; FALCONI, 2018). Na sua produção, a utilização de matérias-primas de qualidade é indispensável, uma vez que seus componentes são transferidos para o mosto e, consequentemente, para o produto final (PORTO, 2011; EDNEY, 2012; BRASIL, 2013). O insumo de maior proporção utilizado no processamento é o malte de cevada – a Intrução Normativa nº 54 de novembro de 2001 deixa claro que, para ser denominado cerveja, até 45% do extrato primitivo de malte pode ser substituído por adjuntos (BRASIL, 2001). A cevada para ser considerada cervejeira necessita ter propriedades específicas para a cerveja, sendo elas, por exemplo, tamanho de grãos, teor de cascas e, principalmente, conteúdo de amido e proteínas. Sabe-se que quanto maior o teor de proteínas, menor o teor de amido do grão (FOX, 2008). Sendo assim, conforme a legislação brasileira – Portaria 691 de 1996 –, a cevada cervejeira deve conter baixo teor de proteínas, cujo limite de tolerância máximo é de 12% (BRASIL, 1996).

O alto conteúdo proteico em cevadas cervejeiras prolonga o processo de malteação e afeta negativamente as propriedades da cerveja. Grãos com essa característica são normalmente mais rígidos, pois as proteínas da cevada estão fortemente ligadas aos grânulos de amido e às paredes celulares do endosperma, o que causa a sua compactação (CENCI *et al.*, 2020; BRENNAN *et al.,* 1996). A alta dureza desses grãos impede a distribuição de água e de enzimas através do endosperma, ou seja, prolonga o processo de malteação, pois retarda as degradações e modificação do endosperma (PSOTA *et al.,* 2007; PIACENTINI, 2015). Na produção de cerveja, por outro lado, são causadoras de elevada viscosidade e turbidez, tempo de prateleira reduzido, e, principalmente, baixo rendimento de processo (MOLINA-CANO *et al.*, 1997; ZHANG *et al.*, 2001; SA; PALMER, 2004; FOX, 2008; SCOBIE; JONES, 2010; JAMAR *et al.,* 2011; FANG *et al.,* 2019). Portanto, determinar com precisão o conteúdo proteico da cevada e, posteriormente, do malte é muito importante para prever e propor soluções a fim de reduzir perdas econômicas (CENCI *et al.*, 2020).

Diversas metodologias são utilizadas para determinar o teor de proteínas, sendo baseadas em diferentes procedimentos analíticos para a quantificação, de forma direta ou indireta. A determinação direta é feita por meio da metodologia de resíduos de aminoácidos, que são obtidos pela hidrólise das ligações peptídicas que os unem (CENCI *et al.*, 2020). No entanto, como desvantagens, o método demanda alto investimento, além de os procedimentos de hidrólises poderem destruir completamente alguns aminoácidos, tornando o método indisponível na maioria dos laboratórios (MÆHRE *et al.,* 2018).

Por outro lado, as determinações indiretas são baseadas em procedimentos que promovem reações com os grupos funcionais das proteínas, ou no conteúdo de nitrogênio da amostra. Todavia, alguns desses métodos dependem da extração das proteínas antes da realização da análise, como os procedimentos espectrofotométricos; entre eles, Lowry e Bradford (CENCI *et al.*, 2020). Ou seja, a eficiência da extração é um fator determinante para o sucesso desses métodos. Os tecidos celulares são expostos a solventes que promovem a liberação das proteínas intracelulares, mas sabe-se que esses protocolos são eficientes para as células sem parede celular (animais). Quando se trata de células vegetais (com parede celular), o rendimento é reduzido. Portanto, o uso desses procedimentos para fins alimentícios não é recomendado (SIMONNE, *et al.,* 1997; MÆHRE *et al.,* 2018).

As metodologias oficiais mais utilizadas para a quantificação de proteínas em alimentos são Kjeldahl e Dumas (JUNG *et al.,* 2003; CHANG; ZHANG, 2017). Ambos os procedimentos são baseados na quantificação de nitrogênio das amostras. O método Dumas, ou método de combustão de nitrogênio, foi proposto em 1831, e proporciona a conversão de todas as formas do elemento em NO_x pelo uso de temperaturas entre 800 °C e 1.000 °C, com posterior redução desses compostos em gás N_2 e detecção por condutividade térmica. Esse processo ocorre em menos de 5-6 minutos e evita o uso de produtos químicos corrosivos, mas todas as fontes de nitrogênio são medidas, incluindo as suas formas inorgânicas, como os nitrito e nitratos, além dos ácidos nucléicos, ocasionando superestimação do conteúdo proteico (JUNG *et al.,* 2003; GARCIA *et al.,* 2015; KRAUSOVÁ *et al.,* 2018).

O método Kjeldahl, por sua vez, foi proposto em 1833 e foi projetado originalmente para a indústria cervejeira, justamente para acompanhar as mudanças nas proteínas do grão durante a malteação e o conteúdo proteico durante a fermentação (KJELDAHL, 1833; SÁEZ-PLAZA *et al.,* 2013a). O método atualmente possui diversas adaptações, visando melhorar a eficiência do processo e ainda reduzir os riscos e resíduos gerados, pois é dependente de múltiplas etapas. Inicialmente, a amostra é submetida à digestão com H_2SO_4 concentrado em presença de um catalisador, normalmente $CuSO_4$, na qual o nitrogênio orgânico é convertido em $(NH_4)_2SO_4$. Depois, realiza-se a etapa de destilação, na qual o $(NH_4)_2SO_4$ é tratado com NaOH, proporcionando a liberação de NH_3, que é coletada em uma solução de H_3BO_3, formando íons boratos que posteriormente são titulados com uma solução padrão de HCl. Portanto, o uso dessa metodologia abre muitas oportunidades para erros, devido às inúmeras etapas, além de ser um procedimento demorado e de gerar resíduos que causam danos à saúde humana e que contribuem com a poluição ambiental (BUCKEE, 1994; JUNG *et al.,* 2003; SÁEZ-PLAZA *et al.,* 2013a; GARCIA *et al.,* 2015).

Após a obtenção do teor de nitrogênio na amostra, o conteúdo de proteínas é estimado multiplicando o resultado por um fator padrão de 6,25, que não está relacionado a nenhum

alimento específico (BRIGGS, 1998; THOMPSON *et al.,* 2002). O valor de 6,25 é um fator de conversão de nitrogênio/proteína (N:P) que assume que 1 kg de proteína animal ou vegetal contém 160 g de nitrogênio (SRIPERM, 2011). No entanto, mesmo sendo amplamente aceito, alguns autores condenam esse número, pois o conteúdo de nitrogênio nos diversos aminoácidos existentes pode variar consideravelmente, o que ocasiona um erro de até 20% no conteúdo de proteínas (MARIOTTI *et al.,* 2008). Portanto, além dos erros associados aos próprios métodos, ainda há variação devido ao uso do fator de conversão.

Alternativamente, outras metodologias têm sido testadas para reduzir a variação na quantificação de proteínas. Por exemplo, Krausová *et al.* (2018) obtiveram resultados condizentes com os métodos clássicos utilizando análise por ativação neutrônica instrumental em amostras de cevada e malte. Mæhre *et al.* (2018), no entanto, ainda recomendam o uso da determinação do conteúdo proteico de alimentos através da análise de resíduos de aminoácidos, quando possível. Por outro lado, alguns autores sugerem a adaptação das metodologias clássicas. Garcia *et al.* (2015) utilizaram um analisador elementar que determina conjuntamente o conteúdo de C, N, H e até mesmo S, através da combustão das amostras, atuando de modo similar ao método Dumas. Outras literaturas afirmam que a análise por injeção em fluxo (FIA) é uma excelente ferramenta para a automação da metodologia Kjeldahl (WATSON; GALLIHER, 2001; SÁEZ-PLAZA *et al.,* 2013b).

OBJETIVO

Comparar o uso dos métodos Kjeldahl e Dumas em amostras de cevada cultivadas em diversas localidades. Os procedimentos foram realizados em suas formas clássicas, e também em suas adaptações, utilizando a análise FIA e o analisador elementar de CHN.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram estudadas quatro amostras de dois genótipos diferentes, as quais foram semeadas nos anos de 2016 e 2017. O genótipo BRS Brau foi cultivado na região Centro-Oeste do País, em propriedades diferentes no Distrito Federal (CFN) e também no estado de Goiás (CFI); o outro, BRS Cauê, foi cultivado no Distrito Federal (CFE) e também na região Sudeste do país (CP). As amostras foram fornecidas pelos proprietários das fazendas de cultivo e a cevada controle (cevada padrão, CP) foi doada pela Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária (FAPA), localizada em Guarapuava. Sendo assim, 50g de cada amostra foram moídas e homogeneizadas para a realização das análises posteriormente.

Métodos por combustão

Para os métodos por combustão, 0,2000 g de amostra foram usadas no Dumas (EBC 4.3.2) e 0,2000 g na análise elementar de CHN a 925 °C. Em ambos os métodos, a abertura da amostra foi feita durante o procedimento. Os gases liberados foram, então, coletados, separados por cromatografia e detectados por um condutor de condutividade térmica.

Métodos por digestão

As metodolgias realizadas que utilizam abertura de amostras por digestão foram a Kjeldahl e a análise por injeção em fluxo (FIA). A digestão realizada foi a mesma para ambos os métodos, e utilizou 0,2000 g de amostra, 2 mL de ácido sulfúrico concentrado e 0,2000 g do catalisadorde Kjeldahl. Todos os reagentes foram comprados da Sigma-Aldrich. A condução do Kjeldahl foi o padrão realizado nos laboratórios da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e para o FIA utilizou-se a metodologia QuickChem® Method 13-107-06-2-G (Sáez-Plaza *et al.,* 2013b).

Análises Estatísticas

Visando estimar a precisão experimental e validar os resultados obtidos, determinou-se inicialmente o desvio-padrão (s), o coeficiente de variação (CV%), e o intervalo de confiança (IC) entre as replicatas de cada análise. Posteriormente, realizou-se a análise de variância dos dados e o agrupamento das médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância, através do programa Genes (SCOTT; KNOTT, 1974; CRUZ, C. D., 2013). A análise de variância foi feita individualmente para cada método levando em consideração todas as fontes de variação (Delineamento de Blocos ao Acaso).

RESULTADOS

As amostras, em sua maioria, foram cultivadas na região do Cerrado brasileiro. Portanto, esperavam-se resultados acima do valor estipulado na instrução normativa 691/96, que é de 12% (BRASIL, 1996). A amostra CP foi utilizada como padrão, por ser cultivada na região sudeste do país e possuir caráter comercial. Sendo assim, foi a única que se enquadrou na exigência proposta (12%), com valores entre 9,19% e 10,65%. Os outros três materiais obtiveram resultados maiores que o exigido pela legislação, como esperado, variando de 12,31% a 17,43% dependendo do local de produção e do método de quantificação. Os resultados obtidos da quantificação de proteínas para as quatro amostras, empregando os quatro métodos, foram dispostos na Tabela 1.

Tabela 1. Quantificação de proteínas pelos métodos por digestão, Kjeldahl e análise de injeção em fluxo (FIA), e dos métodos de combustão, análise elementar de CHN e Dumas.

Amostras		Kjeldhal	FIA	CHN	Dumas
CCP	Média (%)	9,19 ± 0,23 a	10,65 ± 0,50 a	9,80 ± 1,49 a	10,42 a
	s	0,09	0,20	0,60	-
	CV (%)	1,02	1,88	6,11	-
CCFE	Média (%)	12,31 ± 0,17 b	13,76 ± 0,76 a	13,84 ± 1,51 a	14,27 a
	s	0,07	0,31	0,61	-
	CV (%)	0,55	2,22	4,40	-
CCFI	Média (%)	15,36 ± 0,16 b	16,58 ± 0,50 a	15,70 ± 3,19 b	17,43 a
	s	0,06	0,20	1,28	-
	CV (%)	0,42	1,21	8,17	-
CCFN	Média (%)	15,60 ± 0,36 b	17,03 ± 0,41 a	17,22 ± 2,32 a	17,11 a
	s	0,15	0,16	0,93	-
	CV (%)	0,93	0,96	5,43	-

Nota: * as letras dos agrupamentos referem-se apenas às médias e não aos desvios-padrão (s). As amostras são CP para BRS Cauê, cultivar comercial cultivado no Sul do Brasil; CFE para BRS Cauê cultivado no Distrito Federal; CFI para BRS Brau cultivado no Distrito Federal; e CFN para BRS Brau cultivado no estado de Goiás.

Com o intuito de avaliar a variação entre os métodos, realizou-se análise estatística dos resultados obtidos para uma mesma amostra, que foi reportada na Tabela 2. Também foi realizada análise de regressão e correlação (R^2) entre os valores através de um gráfico de dispersão, uma vez que foram obtidos resultados entre 9,19% 17,43%, apresentados na Figura 1.

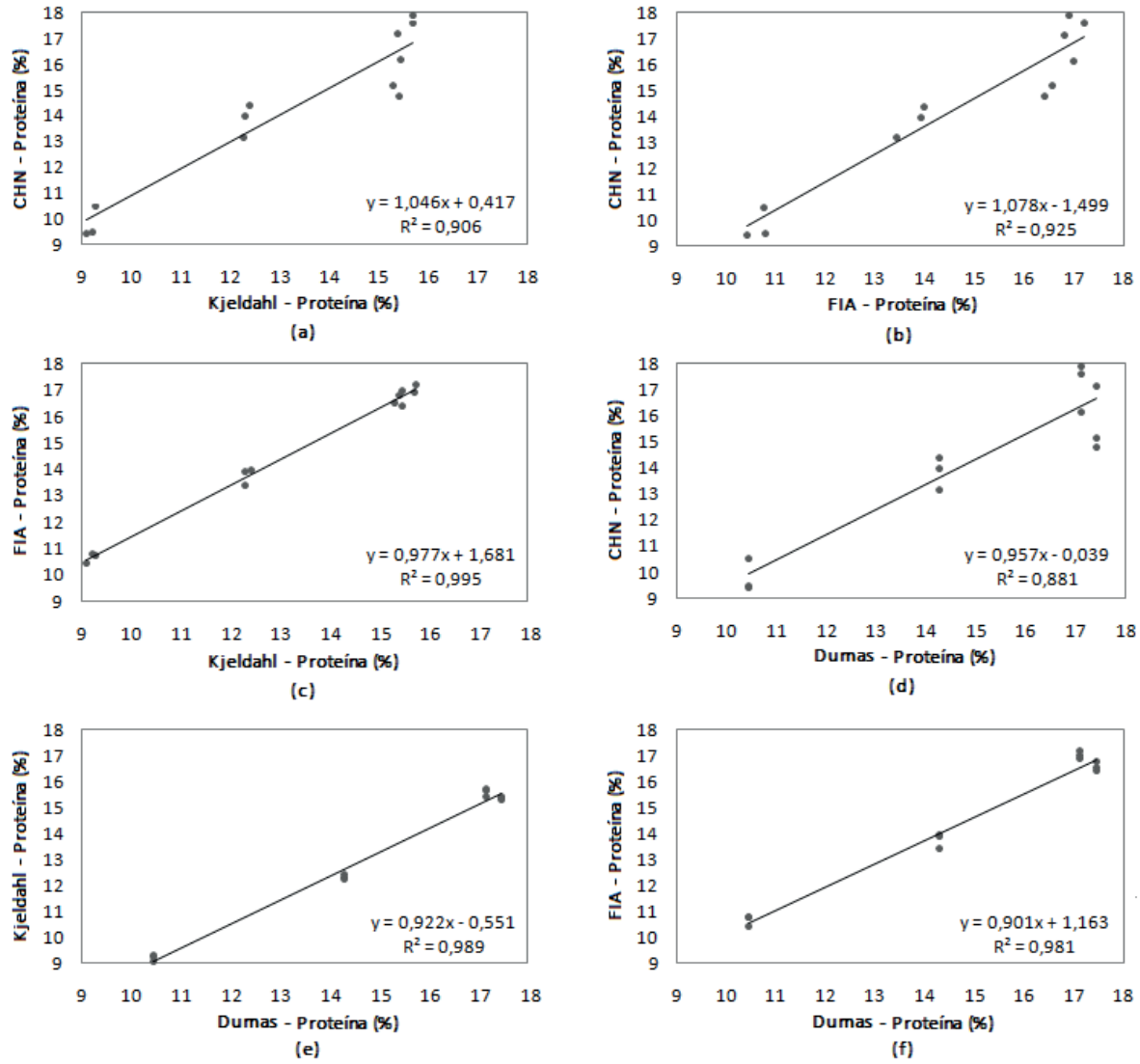
Tabela 2. Comparação entre os métodos de quantificação de proteína quanto as suas médias globais, desvio-padrão (s) e coeficiente de variação (CV).

	Média dos métodos (%)	s	CV (%)
CP	10,01 ± 0,82	0,65	6,53
CFE	13,54 ± 1,04	0,82	6,08
CFI	16,27 ± 1,27	1,01	6,20
CFN	16,74 ± 1,01	0,80	4,79

Nota: As amostras são CP para BRS Cauê, cultivar comercial cultivado no Sul do Brasil; CFE para BRS Cauê cultivado no Distrito Federal; CFI para BRS Brau cultivado no Distrito Federal; e CFN para BRS Brau cultivado no estado de Goiás.

Na figura 1 foi, é observada uma correlação positiva entre os métodos, ainda que a maior discrepância na correlação tenha sido percebida entre a análise elementar CHN e o Dumas, com R^2 de 0,881, enquanto a maior correspondência, R^2 de 0,995, foi entre FIA e Kjeldahl.

Figura 1. Análise de regressão e correlação entre os valores de proteínas obtidos pelos métodos (a) Kjeldahl e análise elementar (CHN); (b) análise por injeção em fluxo (FIA) e CHN; (c) Kjeldahl e FIA; (d) Dumas e CHN; (e) Dumas e Kjeldahl; e (f) Dumas e FIA.



DISCUSSÃO

Através da Tabela 1 foi possível observar a oscilação dos resultados entre as diferentes metodologias. Percebe-se que FIA, Kjeldahl e Dumas obtiveram variações menores entre os valores, sendo até mesmo estatisticamente semelhantes se considerada a incerteza da medição e o teste de Scott-Knott a 5% de significância. As três metodologias para as amostras CP, CFE e CFN não apresentaram formação de mais de um agrupamento pelo teste de Scott-Knott. A CFI, por sua vez, teve a formação de um agrupamento diferente, no qual se encontra o resultado do CHN de 15,70%, enquanto os outros dois valores foram de 16,58% e 17,43% para os procedimentos FIA e Dumas, respectivamente. Ainda sobre esse resultado, o seu coeficiente de variação (CV) foi o maior obtido no estudo, com 8,17%.

Percebe-se que os coeficientes de variação mais elevados foram apresentados pela análise elementar de CHN, revelando uma imprecisão da metodologia. Atribui-se tal variação ao tamanho das partículas, à amostragem e à variação no peso da amostra utilizada em cada equipamento. A composição da cevada é extremamente heterogênea, variando entre os próprios grãos, o que torna a amostragem e o tamanho das partículas fatores determinantes para a obtenção de resultados mais precisos (BRIGGS, 1998; SMITH; TABATABAI, 2004; RUTHERFORD *et al.*, 2008; CENCI *et al.*, 2020). No entanto, para as análises por digestão, a precisão foi elevada, uma vez que os resultados de desvio-padrão foram relativamente baixos (0,06-0,31). Por outro lado, obteveram-se desvios mais elevados para o CHN. Sendo assim, essa variação não foi atribuída aos erros de preparo de amostra, uma vez que o procedimento foi realizado para todas as metodologias pelo uso de um quarteador do tipo Jones e, posteriormente, as amostras foram moídas, visando maior homogenização. Levou-se em consideração o tamanho das partículas utilizadas para a realização dos procedimentos.

Para a execução dos procedimentos, a moagem realizada dependeu do triturador disponível, obtendo-se partículas de até 2 mm. Tabatabai e Bremner (1970) conseguiram verificar o efeito da moagem na obtenção do percentual de carbono em solos, de modo que a precisão dos resultados aumentou com a redução do tamanho das partículas (apud SMITH; TABATABAI, 2004). Devido à recomendação do manual EBC, método 1.1, ser de partículas inferiores a 0,2 mm, conclui-se que uma moagem mais fina é necessária para obter resultados mais precisos. Observa-se também que os métodos Kjeldahl, FIA e Dumas, requerem pesos de aproximadamente 0,2 g de amostra para a sua realização, enquanto o CHN opera com pesos entre 0,002 g e 0,003 g, sendo uma possível fonte da variação. Em virtude do tamanho reduzido da amostra na análise elementar de CHN, quanto mais homogêneo o material, maior o grau de precisão nos resultados analíticos. Sendo assim, a redução do tamanho das partículas para uso dessa metodologia é essencial para evitar elevada heterogeneidade. Considera-se também que a temperatura de realização do CHN foi de 925 °C, enquanto recomenda-se 1.050 °C para compostos vegetais, de modo que haja algum resíduo de nitrogênio não decomposto (SMITH; TABATABAI, 2004; RUTHERFORD *et al.*, 2008).

Considerando o Kjeldahl junto com as demais análises, os resultados, no geral, foram menores, chegando até 2% de variação para uma mesma amostra. Analisando os agrupamentos pelo teste de Scott-Knott, para a amostra de cevada CFI, a média foi agrupada juntamente com a obtida por análise elementar, com os valores de 15,36% e 15,70%, respectivamente. Para os materiais CFN e CFE, a metodologia Kjeldahl gerou um novo grupo de resultados, menores que os demais. Apenas a CP obteve todas as médias no mesmo grupo, ainda que o resultado de Kjeldahl tenha sido inferior (9,19%). A explicação para essa inferioridade deve-se à forma de apresentação do nitrogênio na amostra (CENCI *et al.*, 2020).

Como mencionado anteriormente, o método Dumas também mede as formas inorgânicas de nitrogênio, o que causa a superestimação do valor de conteúdo proteico (GARCIA *et al.,* 2015). O mesmo ocorre para a análise elementar de CHN. Por outro lado, as formas inorgânicas do nitrogênio não são usualmente medidas por Kjeldahl, de modo que os resultados são inferiores aos métodos de combustão (KRAUSOVÁ *et al.,* 2018). Concluiu-se, então, que no Kjeldahl clássico a inferioridade nas quantificações deve-se, à minimização da detecção de nitrogênio inorgânico. No entanto, esses compostos podem vir a ser quantificados caso não sejam adequadamente reduzidos na etapa de digestão, que pode ser o caso dos resultados da análise por injeção em fluxo (JUNG *et al.,* 2003). Considera-se também que o procedimento de FIA e Kjeldahl não empregam os mesmos reagentes nem as mesmas fontes de erro.

Compreende-se, então, que há variação entre as metodologias, explicada pelas peculiaridades de execução de cada análise. As mudanças operacionais e as exigências específicas de cada um dos métodos promovem a variação entre os resultados, assim como os próprios erros associado a eles (erros aleatórios). No entanto, a maior fonte de variação, como já informado, deve-se principalmente ao preparo de amostras e à amostragem (erros sistemáticos), resultando em baixa homogeneidade operacional. Sendo assim, observa-se que a CFI obteve a maior divergência entre os valores, atingindo um desvio-padrão de 1,01, devido à variação do resultado do CHN (15,70, com s de 1,28), como esperado.

Saha *et al.* (2012), obteve R^2 de 0,9985 para a dispersão dos resultados entre Kjeldahl manual e automatizado, ou seja, pouco acima do valor obtido neste estudo (0,995). Garcia *et al.* (2015), por sua vez, comparou Kjeldahl e Dumas, obtendo R^2 de 0,85, ou seja, inferior ao obtido, de 0,989. Sendo assim, mesmo com as variações apresentadas, devido à complexidade da matriz, os resultados foram avaliados como adequados, uma vez que as correlações foram elevadas, e os CVs foram inferiores a 10%. Mesmo que as incertezas associadas às análises tenham sido altas, considerando os CVs, a avaliação da qualidade experimental, para fins agronômicos, aceita como bons resultados (precisão) valores de coeficiente de variação de até 10% de acordo com Pimentel-Gomes (1990).

Desse modo, é possível adotar qualquer uma das metodologias, desde que suprida a sua necessidade e tomados os devidos cuidados, visando minimizar os erros operacionais. No entanto, recomenda-se o uso dos métodos de combustão quando possível, devido às suas vantagens. O custo desses equipamentos é elevado – superior a R$ 190.000,00 (GARCIA *et al.,* 2015) –, mas o tempo de operação é inferior a 6 minutos, o preparo da amostra depende apenas da moagem da amostra, e não sao utilizados produtos químicos corrosivos que causam danos à saúde humana e ao meio ambiente.

CONCLUSÃO / CONSIDERAÇÕES FINAIS

A quantificação de proteínas é de extrema importância nas amostra de cevada, uma vez que o seu impacto na cadeia produtiva da cerveja é bastante relevante para o produto final. As metodologias testadas mostraram bons resultados de correlação entre si (maiores que 0,881), uma vez que as variações apresentadas foram associadas à complexidade da matriz. O método de CNH exige pouca amostra, mas pela heterogeneidade inerente ao malte, essa redução da amostra pode fazer com que os dados sejam menos representativos do todo.. Sendo assim, afirma-se que para a quantificação de proteínas de cevada, todas as metodologias apresentadas são válidas, do ponto de vista agronômico. No entanto, recomenda-se o uso dos métodos de combustão, por gerarem menos resíduos nocivos à saúde e ao meio ambiente, além de gerar resultados em até 6 minutos. Portanto, são os mais viáveis para a realização de análises de cevada e malte, tomando como base a rotina laboratorial de análise.

REFERÊNCIAS

1. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 11, de 13 de março de 2013. Estabelece o Regulamento Técnico do Malte de cevada. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, n. 50, p. 5, 14 mar. 2013.

2. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 54, de 5 de novembro de 2001. Estabelece a identidade e qualidade dos produtos de cervejaria destinados ao consumo humano. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF, 6 nov. 2001.

3. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 691 de 22 de novembro de 1996. Aprova a anexa Norma de Identidade e Qualidade da Cevada. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, p. 24.751-24.752, 25 de nov. 1996.

4. BRENNAN, C. S. *et al.* Structural Differences in the Mature Endosperms of Good and Poor Malting Barley Cultivars. **Journal of Cereal Science**, v. 24, n. 2, p. 171-177, 1996. Disponível em: https://doi.org/10.1006/jcrs.1996.0050. Acesso em: 19 nov. 2020.

5. BRIGGS, D. E. **Malts and Malting**. 1st ed. London: Black Academic & Professional, 1998.

6. BUCKEE, G. K. Determination of Total Nitrogen in Barley, Malt and Beer by Kjeldahl Procedures and the Dumas combustion method: Collaborative Trial. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 100, n. 2, p. 57-64, 1994. Disponível em: https://doi.org/10.1002/jib.1994.100.2.57. Acesso em: 19 nov. 2020.

7. CENCI, I.O.; GUIMARÃES, B.P.; AMABILE, R.F.; GHESTI, G.F. Comparison between barley malt protein quantification methods. **Food Science and Technology**, ahead of print, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1590/fst.13920. Acesso em 20 nov 2020.

8. CHANG, S. K. C.; ZHANG, Y. Protein Analysis. *In*: NIELSEN, S. S. (ed.). **Food Analysis**, Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 315-331. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_18. Acesso em: 19 nov. 2020.

9. CRUZ, C. D. GENES: A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum.** Agronomy, v. 35, p. 271-276, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251. Acesso em: 19 nov. 2020.

10. DIAS, M. O.; FALCONI, D. The Evolution of Craft Beer Industry in Brazil. Journal of Economics and Business. Disponível em: http://dx.doi.org/10.31014/aior.1992.01.04.55. Acesso em: 19 nov. 2020.

11. EDNEY, M. J. Barley. *In*: HENRY, R.; KETTLEWELL, P. (eds). **Cereal grain quality**. London: Springer Science & Business Media, 2012.

12. FANG, Y.; ZHANG, X.; XUE, D. Genetic Analysis and Molecular Breeding Applications of Malting Quality QTLs in Barley. **Frontiers in Genetics**, v. 10, n. 352, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00352. Acesso em: 19 nov. 2020.

13. FOX, G. P. **Biochemical and molecular evaluation of quality for malt and feed barley**. Tese (Doutor em Fisiologia) – Southern Cross University, Lismore, 2008.

14. GARCIA, L. *et al.* **Comparação entre dois métodos para determinação de nitrogênio em forragem tropical**. *In*: Congresso Brasileiro de Zootecnia, 25., 2015. Fortaleza, 2015. Disponível em: https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1040376. Acesso em 19 nov. 2020.

15. JAMAR, C.; JARDIN, P. D.; FAUCONNIER, M. L. Cell wall polysaccharides hydrolysis of malting barley (*Hordeum vulgare L.*): a review. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**, v. 15, n. 2, p. 301-313, 2011. Disponível em: https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/98098/1/Jamar%20et%20al.%202011.pdf. Acesso em 19 nov. 2020.

16. JUNG, S. *et al.* Comparison of kjeldahl and dumas methods for determining protein contents of soybean products. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, n. 12, p. 1.169, 2003. Disponível em: ps://doi.org/10.1007/s11746-003-0837-3. Acesso em: 19 nov. 2020.

17. KJELDAHL, J. Neue methode zur bestimmung des stickstoffs in organischen körpern. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 366-382, 1883. Disponível em: https://doi.org/10.1007/BF01338151. Acesso em: 19 nov. 2020.

18. KRAUSOVÁ, I. *et al.* Non-destructive determination of nitrogen in malting barleys by instrumental photon activation analysis and its comparison with the Dumas method. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 124, n. 1, p. 4-8, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1002/jib.477. Acesso em: 19 nov. 2020.

19. MÆHRE, H. K. *et al.* Protein Determination - Method Matters. **Foods**, v. 7, n. 1, p. 5, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.3390/foods7010005. Acesso em: 19 nov. 2020.

20. MARIOTTI, F.; TOMÉ, D.; MIRAND, P. P. Converting Nitrogen into Protein - Beyond 6.25 and Jones' Factors. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 2, p. 177-184, 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1080/10408390701279749. Acesso em: 19 nov. 2020.

21. MOLINA-CANO, J. L. *et al.* Genetic and Environmental Variation in Malting and Feed Quality of Barley. **Journal of Cereal Science**, v. 25, n. 1, p. 37-47, 1997. Disponível em: https://doi.org/10.1006/jcrs.1996.0067. Acesso em: 19 nov. 2020.

22. PIACENTINI, K. C. **Fungos e micotoxinas em grãos de cevada (*Hordeum vulgare L.*) cervejeira, descontaminação pelo gás ozônio e segurança de cervejas artesanais**. 2015. Dissertação (Mestre em Ciências de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

23. PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba: Nobel, 1990.

24. PORTO, P. D. D. **Tecnologia de fabricação de malte:** uma revisão. 2011. Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Algre, 2011.

25. PSOTA, V. *et al.* Relationship Between Grain Hardness and Malting Quality of Barley (*Hordeum vulgare L.*). **Journal of the Institute of Brewing**, v. 113, n. 1, p. 80-86, 2007. Disponível em: https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2007.tb00260.x. Acesso em: 19 nov. 2020

26. RUTHERFORD, P. *et al.* Total nitrogen. *In*: CARTER, M. R.; GREGORICH, E. G. (Eds). **Soil sampling and methods of analysis**. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 239-250.

27. SÁ, R. M.; PALMER, G. H. Assessment of Enzymatic Endosperm Modification of Malting Barley Using Individual Grain Analyses. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 110, n. 1, p. 43-50, 2004. Disponível em: https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2004.tb00179.x. Acesso em: 19 nov. 2020.

28. SÁEZ-PLAZA, P. *et al.* An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part I. Early History, Chemistry of the Procedure, and Titrimetric Finish. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 43, n. 4, p. 178-223, 2013a. Disponível em: https://doi.org/10.1080/10408347.2012.751786. Acesso em: 19 nov. 2020.

29. SÁEZ-PLAZA, P. *et al.* An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part II. Sample Preparation, Working Scale, Instrumental Finish, and Quality Control. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 43, n. 4, p. 224-272, 2013b. Disponível em: https://doi.org/10.1080/10408347.2012.751787. Acesso em: 19 nov. 2020.

30. SAHA, U. K.; SONON, L.; KISSEL, D. E. Comparison of Conductimetric and Colorimetric Methods with Distillation - Titration Method of Analyzing Ammonium Nitrogen in Total Kjeldahl Digests. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 43, n. 18, p. 2323-2341, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.1080/00103624.2012.708081. Acesso em: 19 nov. 2020.

31. SCOBIE, M. N.; JONES, M. G. K. Identification of Barley Varieties by Protein Profiling. *In*: ZHANG, G.; LI, C. (eds). **Genetics and Improvement of Barley Malt Quality**: Springer, 2010. p. 99-112. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-642-01279-2_4. Acesso em: 19 nov. 2020.

32. SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A Cluster Analysis Method for Grouping Means in the Analysis of Variance. **Biometrics**, v. 30, n. 3, p. 507-512, 1974. Disponível em: https://doi.org/10.2307/2529204. Acesso em: 19 nov. 2020.

33. SIMONNE, A. H. *et al.* Could the Dumas Method Replace the Kjeldahl Digestion for Nitrogen and Crude Protein Determinations in Foods? **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 73, n. 1, p. 39-45, 1997. Disponível em: https://doi.org/10.1002/(SICI)-1097-0010(199701)73:1<39::AID-JSFA717>3.0.CO;2-4. Acesso em: 19 nov. 2020.

34. SMITH, K. A.; TABATABAI, M. A. Automated instruments for the determination of total carbon, hydrogen, nitrogen, sulfur, and oxygen. *In*: SMITH, K. A.; CRESSER, M. S. (eds). **Soil and Environmental Analysis: Modern Instrumental Techniques.** New York: Marcel Dekker, 2004. p. 235-282. Disponível em: https://doi.org/10.1201/9780203913024. Acesso em: 19 nov. 2020.

35. SRIPERM, N.; PESTI, G. M.; TILLMAN, P. B. Evaluation of the fixed nitrogen-to-protein (N:P) conversion factor (6.25) versus ingredient specific N:P conversion factors in feedstuffs. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 7, p. 1.182-1.186, 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1002/jsfa.4292. Acesso em: 19 nov. 2020

36. THOMPSON, M. *et al.* A comparison of the Kjeldahl and Dumas methods for the determination of protein in foods, using data from a proficiency testing scheme. **Analyst**, v. 127, n. 12, p. 1.666-1.668, 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1039/B208973B. Acesso em: 19 nov. 2020.

37. WATSON, M. E.; GALLIHER, T. L. Comparison of Dumas and Kjeldahl methods with automatic analyzers on agricultural samples under routine rapid analysis conditions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 32, n. 13-14, p. 2007-2019, 2001. Disponível em: https://doi.org/10.1081/CSS-120000265. Acesso em: 19 nov. 2020.

38. ZHANG, G. *et al.* Cultivar and Environmental Effects on (1□3,1□4)-β-D-Glucan and Protein Content in Malting Barley. **Journal of Cereal Science**, v. 34, n. 3, p. 295-301, 2001. Disponível em: https://doi.org/10.1006/jcrs.2001.0414. Acesso em: 19 nov. 2020.

28

Rheology and texture applied to goat and sheep milk cheeses: principles, applications and future trends

- Vanessa Bonfim da **Silva**
  UFBA
- Luana Sipaúba Moreno Barreto **Bezerra**
  UFBA
- Beatriz Pinheiro de Oliveira **Alves**
  UFBA
- Bruna Cerqueira dos **Santos**
  UFBA
- Alessandra **Estrela-Lima**
  UFBA
- Marion Pereira da **Costa**
  UFBA

10.37885/201102262

ABSTRACT

Background: There are several types of goat and sheep cheeses around the world, with a relative emphasis on Europe and Asia. The cheese diversity is possible by many factors, including the type of milk, different ingredients and technological process, which can influence the texture and rheology characteristics of these dairy products. Instrumental measures of rheology and texture can be carried out to understand and characterize this variety of cheeses. However there is a lack of a compilation that brings texture and rheology information about goats and sheep cheeses. **Scope and Approach:** This review tackles the most relevant aspects and concerns of instrumental rheology and texture of goat and sheep milk cheese. Moreover, the main factors that influence cheese rheology and texture, as well as the comparison between these two species (goat and sheep). Key **Findings and Conclusions:** The texture is the most critical characteristics of cheese, which determines its acceptability by consumers. The differences in the rheological properties of cheeses made with different types of milk may be due to different casein structures or their concentrations in milk. Rheology deals with the relationship between three variables: strain, stress and time. One of the most popular tests to evaluate the mechanical and rheological properties of cheeses is the uniaxial test and the rheological behavior of the cheese is viscoelastic. All stages of technological processing cheese can influence the rheological and textural characteristics of the cheeses, either improving or damaging them. Studies with sheep cheeses are scarcer than in goat cheese.

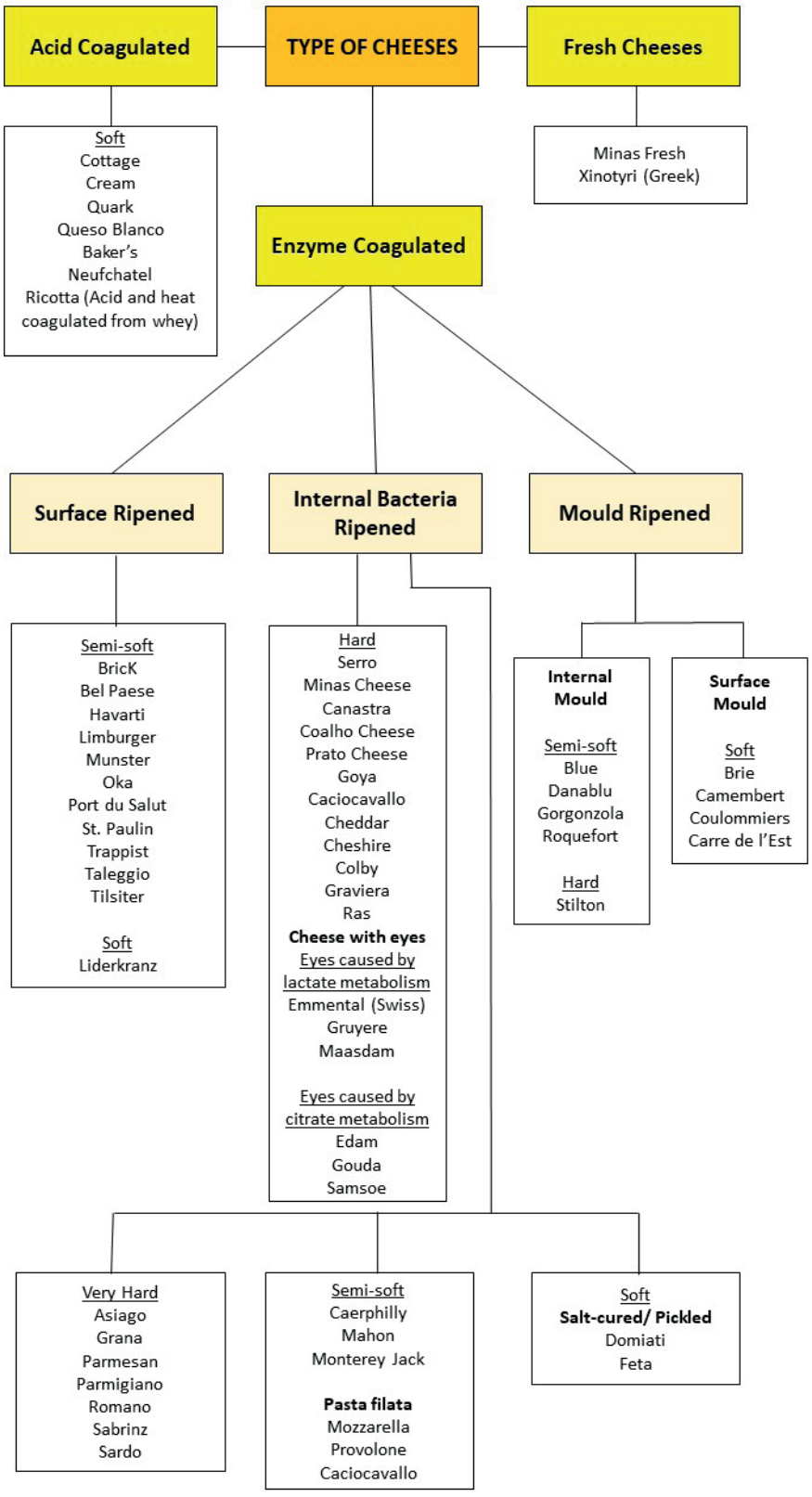
Keywords: Caprine Cheeses, Ewe Cheese, Hardness, Spreadability, Viscoelastic Behavior, Viscous Modulus.

GOAT AND SHEEP CHEESES (BACKGROUND)

Goat and sheep milk has been prominent in the cheeses elaboration since the beginning of humanity (Pulina et al., 2018). There are several types of goat and sheep cheeses around the world, with a relative emphasis on Europe and Asia. In Europe the main cheese is Teleme, followed by Greek cheese and Feta cheese. Probably, this distribution is because goat and sheep cheeses are original from the Mediterranean region, spreading to Asia and reaching countries such as Turkey, Lebanon, Iraq, Syria, Iran and Jordan (Hilali et al. 2011; Pulina et al., 2018).

The wide variety of cheeses can be classified according to the native country, the manufacturing process or some end-use property (Koppel and Chambers, 2012). However, in this work, we classified the cheeses based on reports from the literature by goat milk, sheep or the mixture of both (Figure 1).

Figure 1. Types of cheeses classified according to the type of coagulation, the maturation agent used and the firmness (Adapted from Gunasekaran and Ak, 2002; Gobbetti, Neviani and Fox, 2018).



The cheeses can be consumed fresh or cured. Fresh cheeses are those that can be consumed right after the process of elaboration, without undergoing any process of maturation. As an example of this variety of cheese, there are the cheeses of acid coagulation.

However, there are cured ones that can mature for periods ranging from a few hours to years. The unique characteristics of cheeses are developed during maturation. The duration of this maturation directly influences the moisture content of the cheeses, presenting an inverse relation between both (Gobbetti, Neviani and Fox, 2018).

Maturation is a step in the processing of cheese made by bacteria or fungi, intentionally added to the process to allow biochemical changes that determine the existing cheese varieties. For example, the use of *Propionibacterium* in Swiss cheese processing, *Penicillium roqueforti* in blue cheese varieties (Stilton, Danablau and Roquefort), *Penicillium camemberti* in Camembert or Brie (Gobbetti, Neviani and Fox, 2018; Fox et al., 2017). Often, the final characteristics of the cheeses will be determined by the metabolites generated by these microorganisms, making them essential in the maturation stage.

Cheeses that are matured by bacteria have as main process the metabolization of residual lactose, lactate and citrate, since the starter culture has already metabolized most of the lactose. In the case of Swiss cheeses, for example, *Propionibacterium freudenreichii* metabolizes lactate to propionate, acetate and CO_2. This CO_2 formed is responsible for the eyes present in Swiss cheeses. Type-Dutch cheeses use bacteria such as *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* and *Leuconostoc* spp., which metabolize the citrate to diacetyl and once again the CO_2 produced is responsible for the small eyes of the Type-Dutch cheeses. The cheeses that are matured by fungi have as main metabolite NH_3, coming from the lactate metabolism present in cheeses by these microorganisms. With the production of NH_3, it tends to increase the pH of these cheeses. However, this function is not clear (Fox et al., 2017).

Currently, goat and sheep cheeses are widespread throughout the world, with reports and intensive research in the Europe (Attaie, 2005; Massouras et al., 1998; Van Haekken et al., 2013), Asia (Aminifar et al., 2012, Chen et al., 2010, Farahani et al., 2014), USA (Milani & Wendorff, 2011), Colombia (González-Morelo et al., 2018; Tirado et al., 2018), Africa (Kiiru et al., 2018), Brazil (Moreira et al., 2019; Queiroga et al., 2013; Silva et al., 2017; Silva et al., 2020a; 2020b), and Argentina (Paz et al., 2017). In the literature, the following cheeses of goat and sheep milk are described (Table 1).

Table 1. Cheeses made with goat or sheep milk or mixture reported in the literature and respective native country.

Milk source	Type of cheese	Native country	Reference
Goat	Creamy ricotta	Italy	Borba et al., 2013.
	Graviera (Greek cheese)	Greece	Samelis et al., 2017; Vandera et al., 2019.
	Colombian Queso Costeño	Colombia	González-Morelo et al., 2018.
	Colombian Caribbean coastal cheese	Colombia	Tirado et al., 2018.
	Mozzarella	Italy	Kiiru et al., 2018; Paz et al., 2017; Singh et al., 2017.
	Caciocavallo cheeses	Italy	Niro et al., 2014.
	Minas fresh cheese	Brazil	Moreira et al., 2019.
	Coalho cheese (Brazilian traditional cheese)	Brazil	Silva et al., 2020a; 2020b; Silva et al., 2017; Queiroga et al., 2013; Bezerra et al., 2017a; 2017b.
	Cheddar-like caprine milk cheese	England	Van Hekken et al., 2013.
	Cheddar-like Hard Goat Cheese	England	Attaie and Richter, 1996.
	Jack Cheese	USA	Attaie, 2005.
	Calenzana (an artisanal Corsican cheese)	Corsiga	Casalta et al., 2009.
	Colby-like cheese (semisoft cheese)		Chen et al., 2010.
	Feta Cheese	Greece	Alexandraki and Moatsou, 2018; Bozoudi et al., 2018, Papadopoulou et al., 2018.
	Spanish cheeses	Spain	Martínez et al., 2011.
	Teleme cheese	Greece	Massouras et al., 2006; Pappa et al., 2007.
	Homemade North-Morocco fresh goat cheese	Morocco	Galiou et al., 2015.
	Cacioricotta	Italy	Ioanna et al., 2018.
	Bouhezza (Algerian traditional cheese)	Algeria	Medjoudj et al., 2016.
	Xinotyri	Greece	Pappa et al., 2017.
	Semihard artisanal goat cheeses	Mediterranean countries	Meng et al., 2018.
Sheep	Graviera (Greek cheese)	Greece	Tsafrakidou et al., 2016; Vandera et al., 2019.
	Siahmazgi cheese (an Iranian ewe's milk variety)	Iran	Farahani et al., 2014.
	'Torta del Casar' cheese	Spain	Ordiales et al., 2014.
	Lighvan cheese (Iranian traditional cheeses)	Iran	Aminifar et al., 2012.
	Calenzana (an artisanal Corsican cheese)	Corsiga	Casalta et al., 2009.
	Feta Cheese	Greece	Alexandraki and Moatsou, 2018; Bozoudi et al., 2018, Papadopoulou et al., 2018.
	Spanish cheeses	Spain	Martínez et al., 2011.
	Teleme cheese	Greece	Massouras et al., 2006; Pappa et al., 2007.

The cheese diversity is possible by many factors, including type of milk, different ingredients and technological process, which can influence the texture and rheology characteristics of these dairy products (Gunasekaran and Ak, 2002).

The texture is the most important characteristics of cheese (Gunasekaran and Ak, 2002), which determines its acceptability. With this property, the consumer can identify the specific variety of cheese. The textures of the various types of cheese being distinct, but the factors that determine and influence the changes in texture in all types of cheeses are basically the same, since in the processing of cheeses, few are the variable components (Pappa et al., 2007; Tidona et al., 2019)

The rheological properties of the cheese play a significant role in determining the texture characteristics. It is believed that the cheese has a viscoelastic nature that shows elastic and viscous behavior (Gunasekaran and Ak, 2002). Therefore, the instrumental measures of rheology and texture can be carried out to obtain different information about the different types of cheeses. When one talks about cheeses of goat and sheep milk, there are reports on the traditional and characteristic cheeses of each part of the world, with information of the isolated product (Alexandraki and Moatsou, 2018; Borba et al., 2013; González-Morelo et al., 2018; Kiiru et al., 2018; Silva et al., 2017; Tirado et al., 2018; Vandera et al., 2019).

Thus, due to the lack of a compilation that brings texture and rheology information about goats and sheep cheeses, this review aims to address the main rheology and texture characteristics of several goat and sheep cheeses reported in the literature, in addition to between the two species and bring the influence of the technological processing of cheese on these characteristics.

THE TEXTURE IN GOAT AND SHEEP CHEESES

The texture is defined as all the rheological and structural attributes of products that are perceptible by mechanical means. The textural attributes of food play an important role in consumer appeal, purchasing decisions and occasional consumption (Gunasekaran and Ak, 2002). There are various terms used in describing food texture. Many of the terms used in the literature to describe cheese texture are summarized in Table 2.

Table 2. Different terms used in the literature to describe cheese texture.

Sensory term	Definition	Reference
Adhesiveness	"Force required to remove material adhering to a specific surface."	Guiné et al., 2015.
Creaminess	"The extent to which the texture has broken down to a creamy semiliquid texture, assessed between tongue and palate during mastication."	Foegeding and Drake, 2007.
Chewiness	"The effort required to chew the sample to a suitable consistency to swallow."	Guiné et al., 2015.
Cohesiveness	"Degree at which the sample deforms before breaking, biting with the molars."	Guiné et al., 2015.
Elasticity	"The rate of resistance with which the sample returns to its original form after removal of the force that caused the partial compression."	Guiné et al., 2015.
Firmness	"The extent of resistance offered by the cheese, assessed during the first 5 chews using the front teeth; ranging from soft to firm."	Foegeding and Drake, 2007.
Fraturability	"Force required to fracture the cheese."	Attaie, 2005.
Gumminess	"The energy required to disintegrate a semi-solid food into a ready-to-swallow condition."	Guiné et al., 2015.
Hardness	"Force needed to deform the product at a certain distance."	Guiné et al., 2015.
Resilience	"Is how well a product 'struggles to regain its original position'."	Guiné et al., 2015.

Sensory term	Definition	Reference
Spreadability	"Force required to flow the cheese between two surfaces."	Almanza-Rubio et al., 2016.
Springiness	"The amount of time necessary for the sample to recover. The faster the sample returns. The greater springiness it possesses (no compression = no springiness)."	Bramesco and Setser, 1990.
Stickiness	"The stickiness of the cheese against the palate and around the teeth during mastication."	Foegeding and Drake, 2007.

Queiroga et al. (2013), evaluating isolated goat and cow Coalho cheese and its mixture, observed that the texture in the parameters of chewiness and cohesiveness did not present a significant difference in relation to the type of cheese and the time of storage. However, the hardness parameter presented higher values for goat cheese than cow cheese, and was not affected by storage time.

The differences in rheological properties of cheeses made with different types of milk may be due to different casein structures or their concentrations in milk (Queiroga et al, 2013), since bovine milk contains higher levels of casein-α-s1 than goat milk (Ceballos et al., 2009). The Coalho cheese is a traditional Brazilian cheese, whose main raw material is bovine milk. However, when made with goat's milk, it is the main cheese produced with this milk source. It is a cheese generally consumed after cooking and therefore the fact of obtaining higher values in the texture parameters, when compared to the cheese of bovine milk, does not have significant relevance in its acceptability. The pre-consumption heating provides increased softening and increased product extensibility, being features desirable to its usual consumers.

It is reported in the literature that the increase in the acidity of cheeses during storage causes changes in the characteristics of the protein aggregates, resulting in cheeses with a softer and easily fragmented texture (Queiroga et al., 2013). Moisture is a parameter that also influences cheese texture, since high moisture weakens the protein network, making the cheese softer (Buriti, Rocha, and Saad, 2005). In Queiroga et al. (2013), the highest values of moisture and lower values of hardness were found for cow Coalho cheese in the majority of storage periods evaluated. This fact is possible because the higher moisture content causes the weakening of the protein network and thus making it softer.

In the study by Fang et al. (2016), evaluating the digestion of different Commercial cheeses, varying in texture, exhibited different cheese disintegration and protein digestion patterns during gastric digestion. They further concluded that both cheese and cheese composition affected cheese digestibility and that Cheese disintegration at the end of gastric digestion was higher when initial cheese hardness, cohesiveness, and chewiness were lower. Soft cheese, such as Camembert, needed less force to break apart the cheese matrix.

Almanza-Rubio et al. (2016) report the probable interference of fat content in the spreadability of cream cheeses. In their study with cream cheese, they observed lower values of

spreadability of cream cheeses produced with sonicated milk, which has a decrease in the size of fat globules when compared to cream cheese manufactured with milk without sonication. In fact, the cheeses subjected to heating and with a higher fat content will have greater spreadability because the cheese's fat will tend to melt with heating, making it more extensible.

Rheology in goat and sheep cheeses

Food rheology consists in the science that studies the solids deformation and the liquids fluidity by the influence of applied mechanical forces (Barnes, 1989).

Rheology deals with the relationship between three variables: strain, stress and time. Strain and stress are related to deformation and force, respectively. The deformation explains the effect of size on the deformation of the material due to the difference in length (or height) of the samples, while stress is responsible for the size effect on applied force due to the difference in the cross-sectional area of the samples. Using strain and stress, it can get real properties of the material. The deformation is the measure of the change in size and shape of a material subjected to an external force and the measurement of its rate introduces the third rheological variable, time. Knowledge of the deformation rate concept is necessary to describe the behavior of the material flow and it is simply the time derivative of the deformation (Gunasekaran and Ak, 2002).

One of the most popular tests to evaluate the mechanical and rheological properties of cheeses is the uniaxial test. The mechanical properties commonly determined from this cheese test include E_D deformability modulus, fracture stress σ_f, fracture strain ε_f and work for fracture W_f (Gunasekaran and Ak, 2002).

The rheological behavior of the cheese is viscoelastic. A viscoelastic material exhibits both a solid elastic behavior and a viscous liquid under a wide range of conditions. Among the most used rheological tests for cheeses is the uniaxial test, which evaluates the modulus of deformability (E_D), stress (σ_f), fracture stress (ε_f) and fracture work (W_f). For cheese evaluation, the following Power-Law equation is required: $\sigma = C\varepsilon n$ ou $\ln\sigma = \ln C + n \ln\varepsilon$, where, C is a constant and *n* is the exponent meaning the relative contributions of viscous and elastic components. The value *n* is zero for an ideally elastic material (i.e., without a viscous part) and increases with the extent of the viscous contribution. (Gunasekaran and Ak, 2002).

In cheese rheology, as the behavior of the cheese is viscoelastic, it presents both elastic and viscous behavior. Therefore it is necessary to study the elastic (G') and viscous modulus (G") to better understand the rheological behavior of cheeses. Almanza-Rubio et al. (2016) observed that the elastic modulus (G') has an association with the fat content, due to the fact of the fat decrease in the cheeses results in lower G' values (Brighenti et al., 2008).

In contrast, the viscous modulus (G") presents a probable association with the protein and moisture content of creamy cheeses (Brighenti et al., 2008), because with the use of sonicated milks, which have a reduction of fat globule size, G" is the least altered property when cream cheese is produced with this type of milk. In addition, the milk protein content of the sonicated milk does not change significantly (Almanza-Rubio et al., 2016). The viscosity is also influenced by the temperature, usually decreasing with increasing of the temperature (Silva and Costa, 2019).

The rheological data of cheeses are few described in articles, probably due to the complexity of the theme and the need for further studies to better understand rheological behavior in cheeses.

Table 3. Values of modulus G' and G" from uniaxial testing of several cheeses.

Source milk	Cheese Variety	G'	G"	Equipament	Reference
Bovine	White cheese	41,8 Pa	10,4 Pa	Rheometer (Kinexus Pro+, Malvern Inst., Worcestershire, UK)	Alihonuglu et al., 2018.
	Requeijão cremoso	-	-	Paar Physica MCR 300 strain gage (Anton Paar GmbH, Graz, Austria)	Belsito et al., 2017.
	Cream cheese	458,50 KPa	79,33 KPa	Rheometer (AR-2000, TA Instruments, New Castle, DE)	Almanza-Rubio et al., 2016.
	Mozzarella	-	-	Rheometer Ares-G2 (TA instruments, Waters LLC, New Castle, DE, USA)	Berta et al., 2016.
	Block-type and spreadable-type processed cheeses	-	-	Viscometer (TR−1 Rheometer, A.T.E.I., Thessaloniki, Greece)	Dimitreli and Thomareis, 2009.
	Spreadable-type processed cheese	4,62 KPa	2,61 KPa	Rheometer Bohlin C-VOR 150 (Bohlin Instruments, Inc., USA)	Dimitreli and Thomareis, 2008.
	Block-type processed cheese	-	-	Instron Universal Testing Machine model 1140 (Instron Ltd., UK)	Dimitreli and Thomareis, 2007.
	Mozzarella	43 to 150 KPa	14 to 41 KPa	Rheometrics Dynamic Analyser, model RDA-700 (Rheometrics Scientific, Piscataway, NJ, USA)	Van Hekken et al., 2007.
	Cheddar cheese	-	-	Instron Universal Testing Machine (model 1140) integrated with Instron Series IX Materials Testing software package (Instron Ltd., High Wycombe, UK)	Hort and Le Guys, 2001.
	Mozzarella	-	-	Instron Universal Testing Machine Model 4201 (Instron, Inc., Canton, MA, USA)	Tunick et al., 1993.
Bovine and Buffalo	Mozzarella-type curd	Bovine:19 Pa Buffalo: 94 Pa		Rheometer (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK).	Hussain et al., 2011.
Goat	Cheddar-like cheese			AR2000 rheometer (TA Instruments, New Castle, DE, USA)	Van Hekken et al., 2013.
	Monterey Jack cheese			Instron Universal Testing Machine (model 1011, Instron Corporation, Canton, MA)	Attaie, 2005.
Sheep	Semi-hard cheese	-		Rheometer ThermoHaake RS1 (ThermoHaake GmbH, Karlshure, Germany)	Juan et al., 2007.
	La Serena cheese	0,098 N/mm^2		Instron Compression Tester 1122 (Instron Ltd, High Wycombe, Bucks, UK)	Del Pozo et al., 1988.

Source milk	Cheese Variety	G'	G"	Equipament	Reference
Mixture	Váldeon cheese	37,93 MPa	9,57 MPa	AR2000ex Rheometer (TA Instruments Company, New Castle, DE, USA)	Diezhandino et al., 2016.

Effect of milk composition on textural and rheological characteristics of goat and sheep cheeses

Protein

About the milk composition, the greater influence of the milk composition in the texture and rheology of cheeses is due to the casein content, followed by fat content. Thus, when fat and casein content are altered, they significantly affect the rheological characteristics of the cheeses (McCarthy, 2011). However, in the study by Van Hekken et al. (2013), they observed that high-moisture Cheddar cheeses from goat's milk containing different amounts of fat have been shown to be influenced by the protein matrix which consisted mainly of β-casein. Although β-casein has been degraded during 6 months of maturation, the level of fat in the matrix had a greater influence on the rheological properties than the protein levels. This behavior can be explained by the fact that the fat content is directly related to spreadability. Its influence becomes greater mainly for rheological parameters that evaluate in cheese the elasticity and the viscosity because the cheese has a viscoelastic behavior.

The texture of goat milk cheeses is influenced by compositional factors such as moisture, salt, fat, pH and degree of proteolysis. The moisture content causes a weakening of the protein network, making the cheese softer. Therefore, moist cheeses tend to be softer. Still, according to Attaie (2005), the conversion of the curd Monterey Jack cheese to matured is influenced by factors such as lipolysis, acid production during fermentation and storage temperature, leading to variations in its characteristics.

There are reports in the literature that the use of skim milk in cheese production may promote increased hardness, gumminess and elasticity due to reduced fat content in dry matter, thus increasing the proportion of casein in the cheese produced when compared to use of milk integral (Tirado et al., 2018; Van Hekken et al., 2013). Borba et al. (2014) reports that the use of whole milk in creamy ricotta production made with the mixture of goat and cow whey may have improved texture parameters over 14 days of storage. The mixture of bovine milk and goat milk is an excellent alternative for the improvement of cheese texture and, in addition, it allows a greater yield and profitability to the producer of goat milk, since the production of this one is smaller than the one of bovine source.

In the Milewski et al., 2018 study, evaluating the season effect on milk and cheese production, they observed that the total biogenic amines content in cheese during the winter

feeding period was almost twice as high as in summer (1056,4 vs. 567,6 mg/kg). Moreover, the cadaverine value was the highest in winter cheese, whereas putrescine was the highest in cheese during the summer feeding period. This variable possibly influences the pH of the cheeses during processing, since the biogenic amines tend to raise the pH because they have a more alkaline profile. Thus, the increase of pH allows the insolubilization of calcium in the casein micelles, and therefore altering the internal structure and the rheological properties of the cheeses.

Fat

Van Hekken et al. (2013) studied cheeses with different fat content (integral fat, low fat and non-fat) and they found that cheeses with full fat and reduced fat (28% fat reduction) had the softest and most flexible textures. Although full fat cheeses tended to have the lowest values of hardness, chewiness, shear stress and shear rigidity, cheeses with reduced fat were not significantly different from full fat cheeses, and were considered very similar in texture. However, reducing the fat content below 19% resulted in harder and less flexible cheese. By the same line of the moisture content, the fat causes a pronounced softness in the cheeses that when they undergo reduction of this present greater hardness and less flexibility.

Tirado et al. (2018), evaluating the rheological properties of Colombian-Caribbean-coast sour cream from goat's milk, observed that the initial fat content of goat's milk influenced the rheological properties of Colombian-Caribbean sour cream, presenting the product prepared from goat's milk with fat content of 4.00% the largest elastic modulus and angle of relaxation times. This fact confirmed the elastic predominance and the creation of more complex structures by caseins and other proteins, giving the sample greater firmness and better adhesion when it was dispersed.

In addition, the season of the year in which goat milk and cheese are produced, influences the fatty acid profile of both products. In the summer, there is an increase in vitamin A and E content in grazing milk, such as fodder, which is a good source of these vitamins, vitamin E being responsible for inhibiting lipid peroxidation, including unsaturation of fatty acids, especially during technological processing and storage of milk and cheese (Milewski et al., 2018). The results observed during the studies of Milewski et al. (2018) suggested that the quality of milk obtained during summer feeding has a higher content of vitamin A and E and a more beneficial profile of fatty acids: a higher proportion of conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA), consequently reflecting the quality of the cheese. When produced in the winter, both products, milk and cheese, presented a higher proportion of monounsaturated fatty acids (MUFA), which resulted in a reduction in the PUFA content and the PUFA / MUFA ratio. Thus, milk production in the summer provides milk with higher

content of vitamins A and E and the healthier fatty acid profile for consumers of this milk and consequently its derivatives, such as cheese.

Milk source

The texture of cheeses is also influenced by the milk source, since some cheeses are made with the mixture of sheep and goat milk, or each with bovine milk. Borba et al. (2013), evaluating the instrumental texture of creamy ricotta made with the mixture of goat and cow whey, observed that the instrumental texture profile of creamy ricotta characterized the product as deformable, inelastic, cohesive, soft, delicate and fragile texture. They also observed that there was no change in texture parameters after 14 days of refrigerated storage, which reveals the stability of the product, which would maintain its acceptability throughout its shelf life.

However, Dimitreli et al. (2017), when evaluating the instrumental texture profile of buffalo and cow's milk cheese in the mix, observed that the texture characteristics reduced with storage time, which may be due to the weakening of the protein matrix due to the proteolytic action of enzymes (Fox and McSweeney, 1996). The concentration of the milk mixture used in this study significantly affected the hardness, chewiness and elasticity of the cheese samples, due to the increase in buffalo milk concentration, which diminished these texture properties. This profile can be attributed to the high fat content of buffalo milk. Thus, when it is altered and the milk source changes the texture characteristics of the cheeses and in this respect, compared to described in the literature, goat's milk becomes more stable raw material to be manufactured in mixture with bovine milk than buffalo milk.

In relation to goat and bovine whey in mixture, Borba et al. (2013) suggest that the use of whey as the predominant ingredient in the preparation of creamy ricotta did not negatively influence important texture parameters, including texture cohesiveness and elasticity. Therefore, the use of whey for the preparation of cheeses is an excellent way of processing this product, especially if it is observed that Ricotta is a fresh cheese of very pronounced softness.

In the case of sheep cheese, Farahani et al. (2014), characterizing the Siahmazgi cheese, observed the increase of dry matter during five months of ripening. In addition, stress and hardness increased during ripening and fracture deformation values decreased. This may be due to the loss of water content through ripening, as water may cause non-homogeneous areas, promoting the ease of fracture. With this, the same profile of increase of the texture characteristics for the sheep cheese is observed, as well as goat cheese.

Somatic cell count (SCC)

Somatic cell count (SCC) on goat cheese influences also influence the rheology and texture of cheeses. Goat milk has a higher amount of SCC than cow or sheep milk, since

dairy goats have apocrine secretion of milk, whereas cows mainly have merocrine secretion (Dulin, Paape and Wergin, 1982). Milk with high SCC content coagulates slowly, causing low cheese production due to higher losses of protein and fat in the serum (Park et al., 2017). The moisture content of goat cheese is higher than that of cow's cheese, causing greater proteolysis and modifying the proteolytic pattern of goat's cheese (Grandison and Ford, 1986). It has been described in the literature that the increase of SCC induces decrease in firmness and elasticity and increase in the viscosity of cheese made with goat's milk (Park et al., 2017).

Effect of technological processing on textural and rheological characteristics of goat and sheep cheeses

In dairy products, the textural and rheological characteristics can be influenced by several stages of the technological process, which will vary depending on the dairy produced. In cheeses, these processing steps have a significant and marked influence, so that their effects on the textural and rheological characteristics of cheeses are described below, in order to better understand the mechanisms by which cheeses are so influenced.

Heat treatment

In relation to heat treatment, the heat stability of goat milk is considerably lower than bovine milk, due to the high content of ionic calcium and low micellar solvation in goat milk, thus contributing to its thermal instability (Park, 2007).

Almanza-Rubio et al. (2016), studying the effect of thermosonication on the rheology and texture of bovine cream cheese, observed that the thermosonication of the milk modified its thermal stability significantly. However, according to the same authors, the thermosonication can be a process utilized to improve the textural and rheological properties. Nevertheless, as it is a paper with bovine milk and already described in the literature the lower thermal stability of goat milk, there are still some questions about the use of thermossonication for goat and sheep milks. More studies need to be done to better elucidate the influence of temperature on cheese texture and rheology, as well as methods of increasing the thermal stability of goat and sheep milks.

In the study of Miloradovic et al. (2016), they observed that at the beginning of ripening, all cheeses had a similar pH. After 40 days of maturation, the pH of the cheeses that were elaborated with milk submitted to the high heat treatment was lower than the pH of the control cheese. This result demonstrated the significant influence of milk heat treatment on pH. In addition, the authors observed that surface hardness and fracture were lower in milk cheeses subjected to high heat compared to control and they concluded that high heat

treatment can be used successfully to increase the yield of white cheeses and mature goats, without any adjustment in the cheesemaking process.

Homogenization

In the homogenization, the basic principle is the reduction of milk fat globules by forcing it into high pressure through small holes. In the dairy industry, homogenization is carried out in cheeses where lipolysis is desired to improve flavor and texture, obtaining greater moisture and consequent creaminess (Vélez et al., 2017).

The process of homogenization of milk may lead to alterations in its physical properties, which may or may not be advantageous for cheeses (Van Hekken et al., 2007). The homogenization is capable of breaking the lipid droplets and their surrounding membranes, forming small droplets increasing the total surface area, thereby increasing the amount of total protein associated with the droplet surface and, depending on the temperature of the milk and the pressure used for homogenization, influences the amount and type of protein associated with this droplet (Cano-Ruiz and Richter, 1997; Van Hekken et al., 2007).

Addition of ingredients

The addition of ingredients strongly influences the texture and rheology of cheeses and is often used to improve these characteristics. The use of autochthonous lactic acid bacteria (LAB) has been an effective biological method to control foodborne pathogens in products such as goat cheese (Almeida-Júnior et al., 2015; Ferrari et al., 2016). In addition to its ability to increase product safety by prolonging shelf life and inhibiting the growth of pathogenic organisms, LABs also provide improved texture and taste for goat milk products (Souza and Dias, 2017). Still in the production of cheeses can be used microbial transglutaminases (mTGase), which is reported to increase the rennet yield (Kieliszek and Misiewicz, 2014).

The addition of calcium accelerates coagulation or reduces the amount of rennet required and it produces a firmer gel (Gunasekaran and Ak, 2002). Modifications in the manufacturing process as well as the incorporation of adjunct cultures and fat substitutes are strategies that can be used to make cheeses with lower fat levels that still maintain acceptable taste, functionality and texture (Van Hekken et al., 2013).

Silva et al. (2017), evaluating the effect of sodium reduction and addition of flavor enhancer on probiotic Prato cheese processing, observed that the addition of arginine, yeast extract and oregano extract provided higher parameters of elasticity, fracture stress and fracture, which indicates an increase in the firmness and elasticity of the cheeses samples compared to the conventional cheese. The addition of ingredients is thus an important technological tool to improve the rheological and textural characteristics.

Coagulation

In the coagulation, the ability to coagulate is the most important requirement of milk for the manufacture of different types of cheeses. Coagulation is the stage in which the milk undergoes a profound physical and rheological change, called gelation. Milk gel is formed by the aggregation of milk proteins, the caseins (Gunasekaran and Ak, 2002). Milk with adequate coagulation ability yields curds with better rheological properties, affecting the yield and quality of the cheese. Cheeses obtained from milk with low coagulation capacity are more susceptible to losses in storage and can be submitted to incomplete and non-homogeneous serum drainage, generating defects in the maturation stage (Silva and Costa, 2017; Malacarne et al., 2014).

Among the types of coagulation (enzymatic coagulation, acid coagulation and heat coagulation), enzymatic coagulation is the most popular. In this type, gel formation by the association of casein micelles is called the coagulation rate. It is highly dependent on milk temperature, calcium content, concentration and activity of the enzyme solution. Increases in both factors reduce coagulation time and increase firmness. Two possible explanations for this relationship would be that: 1- a hydrophobic bond occurs between para-κ-casein; 2 - the calcium and calcium phosphate binding occurs in the α- and β-caseins (Gunasekaran and Ak, 2002).

When the chymosin is added to milk at the beginning of the coagulation decreases viscosity because of the hairs cut of the enzyme of the surfaces of casein micelles. Then, the lost stabilization of the k-casein layer make micelles more attractive. This process leads to a rapid increase of the viscosity, which culminates with the flocculation of micelles (McCarthy, 2011; Zhao and Corredig, 2020).

Syneresis

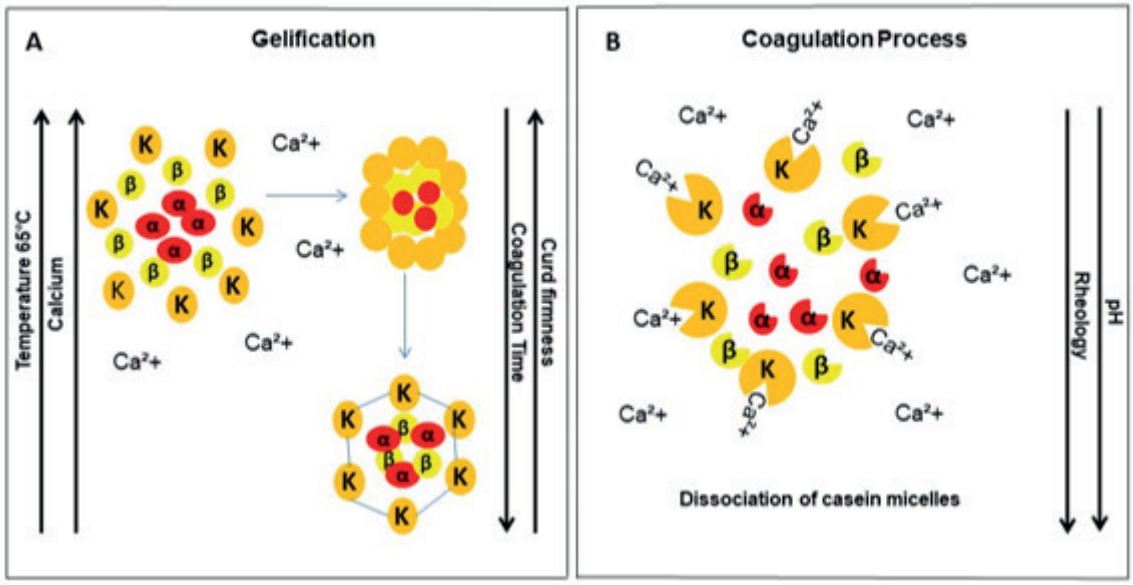
One of the most important processes with a significant impact on the quality of the cheese is the syneresis (expulsion of the whey from the curd by cutting, stirring and heating). The conditions of coagulation and syneresis mark the final properties of a cheese, due to its influence on the contents of moisture, protein and fat (García et al., 2014). The syneresis can be influenced, among other factors, by the gel firmness in the cut, curd surface area, any applied pressure, acidity, temperature, milk composition and source of milk (Panthi et al., 2018; Pazzola et al., 2018; Vacca et al., 2015)

Acidification

In the process of acidification, it is already described in the literature that pH has the greatest effect on the textured properties of the cheese, due to its action on mineral solubilization

and the dissociation of casein's micelles (Diezhandino et al., 2016). During the process of coagulation (Figure 2), calcium solubilization occurs from casein micelles as a function of the pH reduction in bovine milk. Due to the loss of insoluble calcium inside the casein micelles, the internal structure and rheological properties of curd tested at different pH values presents alteration. If excessive loss of insoluble calcium ions occurs, this negatively affects curd rheology during the acidification process, which is more evident at lower pH values (Hussain et al., 2011; Zhao and Corredig, 2020).

Figure 2. Relationship between calcium content, pH and technological processing of cheeses in the stages of heat treatment and coagulation. (A) Effect of temperature on gel formation and coagulation time. (B) Dissociation of casein micelles during the coagulation process and its effect on rheology and pH of cheeses (Adapted from Silva and Costa, 2019).



Fermentation

In the fermentation, although the production of acid by the initial microorganisms is the main cause of the flocculation of micelles and the development of the structure, the initial strain can be chosen to influence the rheological properties. In relation to cheeses, Diezhandino et al. (2016), evaluating the rheological and textural characteristics of Valdéon cheese, observed that as the maturation time progresses, occurs an increase in the resistance to deformation and greater elasticity of this cheese, classifying it as a viscoelastic solid. The fermentation temperature may also influence the fermentation, because higher temperatures decrease the apparent viscosity and increase the consistency of cream cheese (Brighenti et al., 2018).

Ripening and storage

After, the ripening process takes place. Cheese ripening is a complex process due to physico-chemical changes, which mainly include pH variation, protein degradation and

amino acids accumulation, and these changes are responsible for unique characteristics in the cheese varieties (Farahani et al., 2014).

Garcia et al. (2016), observed that the chewiness, adhesiveness and elasticity did not show significant changes during the maturation of goat cheese coagulated with *Cynara scolymus*. However, the hardness increased significantly during maturation for 75 days and the gumminess showed significant differences between 15 and 75 days of maturation. These results observed in these parameters were probably due to a decrease in moisture content. The authors also conclude that the texture characteristics of this cheese presented slight deterioration at 75 days of maturation, but it does not prevent the consumption of the cheese in comparison to other analyzed parameters.

About storage, according to Juan et al. (2007), the processing techniques and storage conditions may affect texture features, which may determine the acceptability of the cheeses. In the study by Attaie (2005), evaluating the effect of time on the rheological and proteolytic changes that occur during the maturation of goat milk Monterey Jack cheese, he observed that the texture of this cheese changed markedly with maturation, with significant changes in hardness and elasticity, indicating an increase in the flexibility and fractionation of the cheese. These parameters of texture were influenced in the maturation because with the course of this process, the cheeses lose water, reducing the moisture content and consequently presenting higher values of hardness and elasticity. As the hardness increases, the fracture becomes more pronounced and as the elasticity increases, the cheese becomes more flexible.

In addition to all the variables mentioned, one cannot fail to mention the biochemistry of maturation, as it is also a process that promotes changes in the cheeses resulting from metabolites of bacteria and fungi used in the different varieties of existing cheeses. These microorganisms produce substances that can accelerate proteolysis and lipolysis and influence the rheology and textures of cheeses (Fox et al., 2017).

New techniques in cheese processing

In addition to the processes already discussed, new techniques in cheese processing have been used, including Hydrostatic High-Pressure treatment (HHP), which is an innovative technique for preserving food. This technique can improve texture as well as inactive pathogenic microorganisms (Delgado et al., 2017) and has also been used to improve milk goat and quality of goat cheese and improve retention of nutrients, flavor and color (García et al, 2014). Ozturk et al. (2013), determining the impact of HHP in reduced cheddar cheese, low salt content noted that the textured, rheological and microbial were affected by HHP and its application resulted in lower melt temperatures and softer cheese in initial stage of

maturation. However, the effects of HHP-induced texture and rheology changes were dependent on the age of the cheeses. After one month of maturation, there were no differences between cheeses treated with HHP or untreated. This technique can be used to improve the texture and rheology of cheeses, since the cheese does not go through a very long period of maturation. Possibly, this process would be better utilized for fresh cheeses, which would not have the interference of the age of the cheese.

Another technique used in cheese processing is the use of ultrasound, which may be an alternative to pasteurizing and homogenizing milk. It can be high energy ultrasound (18-100 KHz) or low energy (> 100 KHz) ultrasound (Ashokkumar et al., 2009). It has been used to modify enzyme activities, extract components and improve emulsification, crystallization and freezing process (Knorr et al., 2004). It has been observed that sonication can decrease the size of milk fat globules, denature serum proteins, improve viscosity, decrease fermentation time, and reduce syneresis (Sfakianakis et al., 2015).

According to the study by Almanza-Rubio et al. (2016), evaluating the effect of thermosonication on the rheology and texture of cream cheese, the thermosonication of the milk modified the spreadability and the viscoelastic properties of the cream cheese, as well as its thermal stability significantly. According to the same authors, the best thermosonication conditions to improve the textural and rheological properties, as well as the thermal stability of cream cheese, were: lower ultrasound power than 50 W, applied for long times (≤ 30 min) in a range of temperature between 35 to 50°C. As already discussed, the temperature influences the spreadability and viscosity of the cheeses, so the thermosonication is a promising technology for the study of its effects on rheological and textural characteristics.

Microfluidization is a process that has been used in the dairy industry with an alternative to homogenization. It is based on the fact that pressures 10 to 15 times greater than traditional homogenizers create finer emulsions, from the collision of two chains at a 180° angle (Paquin, 1999) and the resulting cavitation, turbulence and shear interrupt the lipid droplet and its surrounding membrane. When this processing is compared with the lower pressure homogenization, the microfluidized milk has smaller lipid droplets. In milk where fat is in the liquid state, microfluidization forms fine emulsions that alter the cheese matrix; Fat droplets become smaller as the pressure increases. The reduction in lipid droplet size is an important consideration in cheese processing, since full fat cheeses have considerable melting when the droplets are large but lose the ability to flow when the droplets are smaller (Van Hekken et al., 2007). Microfluidization may still result in shorter rennet coagulation times and changes in the firmness rates of the curd, with it being more fragile (Tosh and Dalgleish, 1998). In the study by Van Hekken et al. (2007), they observed that for Mozzarella cheese, microfluidization does not improve the melting and texture properties of low fat cheeses and impairs the properties

of full fat cheeses if microfluidized at temperatures above the melting point of milk fat. This technique still needs improvement for its use in cheese processing, because the results until then recorded are still not favorable. However, with the proper arrangements, perhaps of composition or use of the technique itself, this may be a promising technology in the future.

Current and future trends in cheese rheology and texture

Since the 1980s, rheology and texture are research goals around the world. Starting with the Instron Universal Testing Machine, arriving at modern rheometers and texturometers, these two characteristics of cheeses have been increasing the dynamics of studies in several dairy products and especially in cheeses. However, there is a strong need for more elucidative studies on these variables, making one think what would tend in the future in these investigations.

As determinants for the acceptability of cheeses, rheology and texture are studied by evaluating the effect of some modification on the processing in order to guarantee more desirable characteristics to cheeses. Thus, for current and future trends, it is expected that the technologies developed, such as the elaboration of traditional cheeses with changes in either the source of the coagulant, the NaCl content or its substitution or even in critical parameters such as homogenization pressure and fermentation temperature, can be engaged as a way to improve the rheology and texture of these cheeses, as well as support in the study and elucidation of their influences on these characteristics.

Actually, it is known that the source of the coagulant used in cheese processing may influence its rheological characteristics, causing less pronounced changes with maturation. This is interesting for the G' and G" modules which may present higher values for cheeses made with rabbit chymosin compared to calf chymosins and camel. In addition, texture parameters such as hardness, chewiness and gumminess may have their values increased when cheeses are made with camel chymosin and intermediate values with rabbit chymosin compared to that of calf that obtained the lowest values (Alihanoglu et al. 2018). These strategies can be used to obtain a texture more suited to the consumers' demand for cheese of a certain hard variety, but which can be obtained with a softer texture, for example.

Another aspect of study is the reduction of salt content in cheeses, which can lead to typical cheeses such as Gouda or Cheddar to softening and non-maintenance of the form. But the softening that occurs after salt reduction increases the mobility of the caseins in the cheese matrix. In this way, the cheese becomes less viscous and more extensible, these characteristics desirable for cooking. In other words, for the producer who wishes to innovate the traditional cheeses without changing the form, they can use composition adjustments,

raw materials and processing conditions that allow the elaboration of the desired end product (Bae et al., 2017).

The homogenization pressure and the fermentation temperature also influence rheology and texture. The cream cheese when submitted to both processes at high intensity presented higher consistency, but in relation to the fermentation temperature, the apparent viscosity was inversely proportional to the temperature intensity (Brighenti et al., 2018).

Thus, it is expected that more studies will be developed with the technological innovations and will allow a greater diversity of papers in this area, especially for goat and sheep cheeses in order to better understand their relationships and influences from the raw material to the final product. In addition, it is essential to apply mathematical models for the rheological behavior of cheeses, approaching the topic more thoroughly and consistently in papers.

CONCLUSIONS

It is concluded that there are several variables that interfere with texture and rheology, but more studies need to be performed and discussed on these characteristics, and more research should address Brazilian cheeses, which still have a limited number of international scientific articles on the subject. In addition, the whole cheese-making process from the choice of raw material, through the stages of processing the cheese to the storage of the final product, contributes significantly to the rheological and textural characteristics of cheeses, and the cheese industry must ensure the control of these steps so that the product obtains the desired characteristics. However, in spite of the studies reported here, those that approach the rheology and texture of cheeses are still scarce, especially when referring to goats and sheep cheeses. It is worth noting that new investments are necessary in this area to provide studies that characterize the factors that influence the acceptability of products, as well as indicate possible defects and defects that occur in the processing and that alter the rheological and textural properties.

Acknowledgements

The authors thank the Program in Animal Science in the Tropics (UFBA); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (process no. 405728/2018-2 and 402430/2018-2, CNPq, Brazil); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Finance Code 001, CAPES, Brazil) for the financial support to obtain this review.

REFERÊNCIAS

1. Alexandraki, V., & Moatsou, G. (2018). Para-κ-casein during the ripening and storage of low-pH, high-moisture feta cheese. *Journal of Dairy Research*, 85(2), 226-231.

2. Alihanoğlu, S., Ektiren, D., Akbulut Çakır, Ç., Vardin, H., Karaaslan, A., & Karaaslan, M. (2018). Effect of Oryctolagus cuniculus (rabbit) rennet on the texture, rheology, and sensory properties of white cheese. *Food Science & Nutrition*, 6(4), 1100-1108.

3. Almanza-Rubio, J. L., Gutiérrez-Méndez, N., Leal-Ramos, M. Y., Sepulveda, D., & Salmeron, I. (2016). Modification of the textural and rheological properties of cream cheese using thermosonicated milk. *Journal of Food Engineering*, 168, 223-230.

4. Almeida Júnior, W.L.G., Ferrari, I.S., Souza, J.V., Silva, C.D.A., Costa, M.M., Dias, F.S., (2015). Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk. *Food Control*, 53, 96-103.

5. Aminifar, M., Hamedi, M., Emam-Djomeh, Z., & Mehdinia, A. (2013). The effect of ovine and bovine milk on the textural properties of Lighvan cheese during ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 66, 45-53.

6. Ashokkumar, M., Bhaskarcharya, R., Kentish, S., Lee, J., Palmer, M., Zisu, B., Bhaskaracharya, R., Kentish, S., Lee, J., Palmer, M., Zisu, B., (2009). The ultrasonic processing of dairy products – an overview. *Dairy Science & Technology*. 90, 147–168.

7. Attaie, R. (2005). Effects of aging on rheological and proteolytic properties of goat milk Jack Cheese produced according to cow milk procedures. *Small Ruminant Research*, 57, 19-29.

8. Attaie, R., & Richter, R. L. (1996). Formation of volatile free fatty acids during ripening of Cheddar-like hard goat cheese. *Journal of Dairy Science*, 79, 717-724.

9. Bae, I., Park, J. H., Choi, H. Y., & Jung, H. K. (2017). Emerging Innovations to Reduce the Salt Content in Cheese; Effects of Salt on Flavor, Texture, and Shelf Life of Cheese; and Current Salt Usage: A Review. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37(6), 793.

10. Barnes, H.A., Hutton, J.F., Walters, K., (1989). An Introduction to Rheology, ninth ed. Elsevier, Amsterdam, New York.

11. Belsito, P. C., Ferreira, M. V. S., Cappato, L. P., Cavalcanti, R. N., Vidal, V. A. S., Pimentel, T. C., Esmerino, E. A., Balthazar, C.F., Neto, R.P.C., Tavares, M.I.B., Zacarchenco, P.B., Freitas, M.Q., Silva, M.C., Raices, R.S.L., Pastore, G.M., Pollonio, M.A.R. & Cruz, A.G. (2017). Manufacture of Requeijão cremoso processed cheese with galactooligosaccharide. *Carbohydrate polymers*, 174, 869-875.

12. Berta, M., Muskens, E., Schuster, E., & Stading, M. (2016). Rheology of natural and imitation mozzarella cheese at conditions relevant to pizza baking. *International Dairy Journal*, 57, 34-38.

13. Bezerra, T. K. A., Arcanjo, N. M. O., Garcia, E. F., Gomes, A. M. P., Egypto, R. D. C. R., Souza, E. L., & Madruga, M. S. (2017a). Effect of supplementation with probiotic lactic acid bacteria, separately or combined, on acid and sugar production in goat 'coalho' cheese. *LWT-Food Science and Technology*, 75, 710-718.

14. Bezerra, T. K. A., Arcanjo, N. M. O., Araújo, A. R. R., Queiroz, A. L. M., Oliveira, M. E. G., Gomes, A. M. P., & Madruga, M. S. (2017b). Volatile profile in goat coalho cheese supplemented with probiotic lactic acid bacteria. *LWT-Food Science and Technology*, 76, 209-215.

15. Borba, K. K. S., Silva, F. A., Madruga, M. S., Queiroga, R.C. R. E., Souza, E. L., & Magnani, M. (2014). The effect of storage on nutritional, textural and sensory characteristics of creamy ricotta made from whey as well as cow's milk and goat's milk. *International Journal of Food Science & Technology*, 49, 1279-1286.

16. Bozoudi, D., Kondyli, E., Claps, S., Hatzikamari, M., Michaelidou, A., Biliaderis, C. G., & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2018). Compositional characteristics and volatile organic compounds of traditional PDO Feta cheese made in two different mountainous areas of Greece. *International Journal of Dairy Technology*.

17. Bramesco, N. P., & Setser, C. S. (1990). Application of sensory texture profiling to baked products: some considerations for evaluation, definition of parameters and reference products. *Journal of Texture Studies*, 21(3), 235-252.

18. Brighenti, M., Govindasamy-Lucey, S., Jaeggi, J. J., Johnson, M. E., & Lucey, J. A. (2018). Effects of processing conditions on the texture and rheological properties of model acid gels and cream cheese. *Journal of Dairy Science*, 101(8), 6762-6775.

19. Brighenti, M., Govindasamy-Lucey, S., Lim, K., Nelson, K., Lucey, J.A., (2008). Characterization of the rheological, textural, and sensory properties of samples of commercial US cream cheese with different fat contents. *Journal of Dairy Science*, 91, 4501–4517.

20. Buriti, F. C., Da Rocha, J. S., & Saad, S. M. (2005). Incorporation of Lactobacillus acidophilus in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *International Dairy Journal*, 15(12), 1279-1288.

21. Cano-Ruiz, M. E., & Richter, R. L. (1997). Effect of homogenization pressure on the milk fat globule membrane proteins. *Journal of Dairy Science*, 80(11), 2732–2739.

22. Casalta, E., Sorba, J. M., Aigle, M., & Ogier, J. C. (2009). Diversity and dynamics of the microbial community during the manufacture of Calenzana, an artisanal Corsican cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 133, 243-251.

23. Ceballos, L. S., Morales, E. R., Adarve, G. T., Castro, J. D., Martínez, L. P., & Sampelayo, M. R. S. (2009). Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(4), 322-329.

24. Chen, S. X., Wang, J. Z., Van Kessel, J. S., Ren, F. Z., & Zeng, S. S. (2010). Effect of somatic cell count in goat milk on yield, sensory quality, and fatty acid profile of semisoft cheese. *Journal of Dairy Science*, 93, 1345-1354.

25. Delgado, K.F., Frasao, B.S., Costa, M.P., Conte-Junior, C.A. (2017). Different Alternatives to Improve Rheological and Textural Characteristics of Fermented Goat Products - A Review. *Rheology: Open Access,* 1, 1-6.

26. Diezhandino, I., Fernández, D., Sacristán, N., Combarros-Fuertes, P., Prieto, B., & Fresno, J. M. (2016). Rheological, textural, colour and sensory characteristics of a Spanish blue cheese (Valdeón cheese). *LWT-Food Science and Technology*, 65, 1118-1125.

27. Dimitreli, G., Exarhopoulos, S., Antoniou, K. K., Zotos, A., & Bampidis, V. A. (2017). Physico-chemical, textural and sensory properties of white soft cheese made from buffalo and cow milk mixtures. *International Journal of Dairy Technology*, 70, 506-513.

28. Dimitreli, G., & Thomareis, A. S. (2009). Instrumental textural and viscoelastic properties of processed cheese as affected by emulsifying salts and in relation to its apparent viscosity. *International Journal of Food Properties*, 12(1), 261-275.

29. Dimitreli, G., & Thomareis, A. S. (2008). Effect of chemical composition on the linear viscoelastic properties of spreadable-type processed cheese. *Journal of Food Engineering*, 84(3), 368-374.

30. Dimitreli, G., & Thomareis, A. S. (2007). Texture evaluation of block-type processed cheese as a function of chemical composition and in relation to its apparent viscosity. *Journal of Food Engineering*, 79(4), 1364-1373.

31. Dulin, A. M., Paape, M. J., & Wergin, W. P. (1982). Differentiation and enumeration of somatic cells in goat milk. *Journal of Food Protection*, 45, 435-439.

32. Fang, X., Rioux, L. E., Labrie, S., & Turgeon, S. L. (2016). Commercial cheeses with different texture have different disintegration and protein/peptide release rates during simulated in vitro digestion. *International Dairy Journal*, 56, 169-178.

33. Farahani, G., Ezzatpanah, H., & Abbasi, S. (2014). Characterization of Siahmazgi cheese, an Iranian ewe's milk variety: Assessment of physico-chemical, textural and rheological specifications during ripening. *LWT-Food Science and Technology*, 58, 335-342.

34. Ferrari, I.S., Souza, J.V., Ramos, C.L., Costa, M.M., Schwan, R.F., Dias, F.S., (2016). Selection of autochthonous lactic acid bacteria from goat dairies and their addition to evaluate the inhibition of Salmonella typhi in artisanal cheese. *Food microbiology*, 60, 29-38.

35. Foegeding, E. A., & Drake, M. A. (2007). Invited review: Sensory and mechanical properties of cheese texture. *Journal of Dairy Science*, 90(4), 1611-1624.

36. Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. (2017). Fundamentals of cheese science (pp. 185-229). Boston, MA, USA: Springer.

37. Fox, P. F., & McSweeney, P. L. H. (1996). Proteolysis in cheese during ripening. *Food Reviews International*, 12(4), 457-509.

38. Galiou, O. E., Zantar, S., Bakkali, M., Laglaoui, A., Centeno, J. A., & Carballo, J. (2015). Chemical and microbiological characteristics of traditional homemade fresh goat cheeses from Northern Morocco. *Small Ruminant Research*, 129, 108-113.

39. García, V., Rovira, S., Boutoial, K., Ferrandini, E., & López, M. B. (2016). Physicochemical, microbiological, textural and sensory changes during the ripening of pasteurised goat milk cheese made with plant coagulant (*Cynara scolymus*). *International Journal of Dairy Technology*, 69(1), 96-102.

40. García, V., Rovira, S., Boutoial, K., López, M. B. (2014). Improvements in goat milk quality: A review. *Small Ruminant Research*. 121, 51-57.

41. Gobbetti, M., Neviani, E., & Fox, P. (2018). The Cheeses of Italy: Science and Technology. Boston, MA, USA: Springer.

42. González-Morelo, K. J., Correa, D. A., Cabarcas, A. D. C., Castillo, P. M. M., & Amador, B. L. O. (2018). Effect of Fat Content on the Properties of Colombian Queso Costeño Made from Goat Milk. *International Journal of ChemTech Research*, 11, 113-123.

43. Grandison, A. S., & Ford, G. D. (1986). Effects of variations in somatic cell count on the rennet coagulation properties of milk and on the yield, composition and quality of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Research*, 53, 645-655.

44. Guiné, R., Correia, P., & Correia, A. (2015). Avaliação Comparativa de Queijos Portugueses de Cabra e Ovelha. *Millenium*, (49), 111-130.

45. Gunasekaran, S., & Ak, M. M. (2002). Cheese rheology and texture. CRC press. Hilali, M., El-Mayda, E., & Rischkowsky, B. (2011). Characteristics and utilization of sheep and goat milk in the Middle East. *Small Ruminant Research*, 101, 92-101.

46. Hort, J., & Le Grys, G. (2001). Developments in the textural and rheological properties of UK Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 475-481.

47. Hussain, I., Bell, A.E., Grandison, A.S. (2011). Comparison of the rheology of mozzarella-type curd made from buffalo and cows' milk. *Food Chemistry*, 128, 500-504.

48. Ioanna, F., Quaglia, N. C., Storelli, M. M., Castiglia, D., Goffredo, E. L. I. S. A., Storelli, A., De Rosa, M., Normanno, G., Jambrenghi, A. C., & Dambrosio, A. (2018). Survival of Escherichia coli O157: H7 during the manufacture and ripening of *Cacioricotta* goat cheese. *Food Microbiology*, 70, 200-205.

49. Juan, B., Trujillo, A.J., Guamis, V., Buffa, M., Ferragut, V. (2007). Rheological, textural and sensory characteristics of high-pressure treated semi-hard ewes' milk cheese. *International Dairy Journal*, 17, 248-254.

50. Kieliszek, M., & Misiewicz, A. (2014). Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review. *Folia microbiologica*, 59(3), 241-250.

51. Kiiru, S. N., Mahungu, S. M., & Omwamba, M. (2018). Preparation and analysis of goat milk mozzarella cheese containing soluble fiber from Acacia senegal var. kerensis. *African Journal of Food Science*, 12, 46-53.

52. Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., Lee, D.-U. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology*. 15, 261–266.

53. Koppel, K., & Chambers, D. H. (2012). Flavor comparison of natural cheeses manufactured in different countries. Journal of Food Science, 77(5), S177-S187.

54. Malacarne, M., Franceschi, P., Formaggioni, P., Sandri, S., Mariani, P., & Summer, A. (2014). Influence of micellar calcium and phosphorus on rennet coagulation properties of cows milk. *Journal of Dairy Research*, 81, 129-136.

55. Martínez, S., Franco, I., & Carballo, J. (2011). Spanish goat and sheep milk cheeses. *Small Ruminant Research*, 101, 41-54.

56. Massouras, T., Pappa, E. C., & Mallatou, H. (2006). Headspace analysis of volatile flavour compounds of Teleme cheese made from sheep and goat milk. *International Journal of Dairy Technology*, 59, 250-256.

57. McCarthy, O.J. (2011). Rheology of liquid and semi-solid milk products. Elsevier.

58. Medjoudj, H., Zidoune, M. N., & Hayaloglu, A. A. (2017). Proteolysis and volatile profile in the Algerian traditional Bouhezza cheese made using raw goat's milk. *International Journal of Food Properties*, 20(8), 1876-1893.

59. Milani, F. X., & Wendorff, W. L. (2011). Goat and sheep milk products in the United States (USA). *Small Ruminant Research*, 101, 134-139.

60. Milewski, S., Ząbek, K., Antoszkiewicz, Z., Tański, Z., & Sobczak, A. (2018). Impact of production season on the chemical composition and health properties of goat milk and rennet cheese. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 107-114.

61. Miloradovic, Z., Kljajevic, N., Miocinovic, J., Tomic, N., Smiljanic, J., & Macej, O. (2017). High heat treatment of goat cheese milk. The effect on yield, composition, proteolysis, texture and sensory quality of cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 68, 1-8.

62. Moreira, R. V., Costa, M. P., Castro, V. S., Paes, C. E., Mutz, Y. S., Frasao, B. S., Mano, S. B., & Conte-Junior, C. A. (2019). Antimicrobial activity of pequi (*Caryocar brasiliense*) waste extract on goat Minas Frescal cheese presenting sodium reduction. Journal of Dairy Science, 102(4), 2966-2972.

63. Niro, S., Fratianni, A., Tremonte, P., Sorrentino, E., Tipaldi, L., Panfili, G., & Coppola, R. (2014). Innovative Caciocavallo cheeses made from a mixture of cow milk with ewe or goat milk. *Journal of Dairy Science*, 97, 1296-1304.

64. Ordiales, E., Martín, A., Benito, M. J., Fernández, M., Casquete, R., & Guía Córdoba, M. (2014). Influence of the technological properties of vegetable rennet (Cynara cardunculus) on the physicochemical, sensory and rheological characteristics of 'Torta del Casar'cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 67, 402-409.

65. Ozturk, M., Govindasamy-Lucey, S., Jaeggi, J. J., Johnson, M. E., & Lucey, J. A. (2013). The influence of high hydrostatic pressure on regular, reduced, low and no salt added Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 33, 175-183.

66. Panthi, R. R., Kelly, A. L., Sheehan, J. J., Bulbul, K., Vollmer, A. H., & McMahon, D. J. (2018). Influence of protein concentration and coagulation temperature on rennet-induced gelation characteristics and curd microstructure. *Journal of Dairy Science*, 102(1), 177-189.

67. Papadopoulou, O. S., Argyri, A. A., Varzakis, E. E., Tassou, C. C., & Chorianopoulos, N. G. (2018). Greek functional Feta cheese: Enhancing quality and safety using a *Lactobacillus plantarum* strain with probiotic potential. *Food Microbiology*, 74, 21-33.

68. Pappa, E. C., Bontinis, T. G., Tasioula-Margari, M., & Samelis, J. (2017). Microbial Quality of and Biochemical Changes in Fresh Soft, Acid-Curd Xinotyri Cheese Made from Raw or Pasteurized Goat's Milk. *Food Technology and Biotechnology*, 55(4), 496.

69. Pappa, E. C., Kandarakis, I., & Mallatou, H. (2007). Effect of different types of milks and cultures on the rheological characteristics of Teleme cheese. *Journal of Food Engineering*, 79, 143-149.

70. Paquin, P. (1999). Technological properties of high pressure homogenizers. The effect of fat globules, milk proteins, and polysaccaharides. *International Dairy Journal*, 9(3/6), 329–335.

71. Park, Y.W., (2007). Rheological characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68, 73–87.

72. Park, Y. W., Jeanjulien, C., & Siddique, A. (2017). Factors Affecting Sensory Quality of Goat Milk Cheeses: A Review. *Journal Advances in Dairy Research*, 5, 2.

73. Paz, N. F., Oliveira, E. G., Villalva, F. J., Armada, M., & Ramón, A. N. (2017). Effect of pH at drainage on the physicochemical, textural and microstructural characteristics of mozzarella cheese from goat milk. *Food Science and Technology* (Campinas), 37, 193-201.

74. Pazzola, M., Stocco, G., Paschino, P., Dettori, M. L., Cipolat-Gotet, C., Bittante, G., & Vacca, G. M. (2018). Modeling of coagulation, curd firming, and syneresis of goat milk from 6 breeds. *Journal of Dairy Science*, 101(8), 7027-7039.

75. Pulina, G., Milán, M. J., Lavín, M. P., Theodoridis, A., Morin, E., Capote, J., Thomas, D. L., Francesconi, A. H. D., & Caja, G. (2018). Invited review: Current production trends, farm structures, and economics of the dairy sheep and goat sectors. Journal of Dairy Science, 101(8), 6715-6729.

76. Queiroga, R. C. R. E., Santos, B. M., Gomes, A. M. P., Monteiro, M. J., Teixeira, S. M., Souza, E. L., Pereira, C. J. D. & Pintado, M. M. E. (2013). Nutritional, textural and sensory properties of Coalho cheese made of goats', cows' milk and their mixture. *LWT-Food Science and Technology*, 50, 538-544.

77. Samelis, J., Giannou, E., Pappa, E. C., Bogović-Matijašić, B., Lianou, A., Parapouli, M., & Drainas, C. (2017). Behavior of artificial listerial contamination in model Greek Graviera cheeses manufactured with the indigenous nisin A-producing strain *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* M104 as costarter culture. *Journal of Food Safety*, 37(3), e12326.

78. Sfakianakis, P., Topakas, E., Tzia, C., (2015). Comparative study on high-intensity ultrasound and pressure milk homogenization: effect on the kinetics of yogurt fermentation process. *Food and Bioprocess Technology*, 8 (3), 548–557.

79. Silva, H. L. A., Balthazar, C. F., Esmerino, E. A., Vieira, A. H., Cappato, L. P., Neto, R. P. C., Verruck, S., Cavalcanti, R. N., Portela, J. B., Andrade, M. M., Moraes, J., Franco, R. M., Tavares, M. I. B., Prudencio, E. S., Freitas, M. Q., Nascimento, J. S., Silva, M. C., Raices, R. S. L. & Cruz, A. G. (2017). Effect of sodium reduction and flavor enhancer addition on probiotic Prato cheese processing. *Food Research International*, 99, 247-255.

80. Silva, V. B., Costa, M. P., & Delfino, N. C. (2017). Aceitabilidade e intenção de compra do queijo de coalho de cabra temperado com cachaça. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 72(3), 121-130.

81. Silva, V. B., & Costa, M. P. (2017). Rheology Applied to Dairy Products. *Rheol: open access* 1: e104, 273-288.

82. Silva, V. B., & Costa, M. P. (2019). Influence of Processing on Rheological and Textural Characteristics of Goat and Sheep Milk Beverages and Methods of Analysis. In Processing and Sustainability of Beverages (pp. 373-412). Woodhead Publishing.

83. Silva, V. B., Santos, B. C., Oliveira Alves, B. P., Maciel, L. F., Martins Filho, E. F., Estrela-Lima, A., & Costa, M. P. (2020a). Goat coalho cheese with alcoholic beverages: a first report about technological aspects and their implications on physicochemical properties and starter culture. *Brazilian Journal of Development*, 6 (10), 82136-82147.

84. Silva, V. B., Santos, B. C., Oliveira Alves, B. P., Maciel, L. F., Delfino, N. C., Martins Filho, E. F., Estrela-Lima, A., & Costa, M. P. (2020b). Physicochemical and bacteriological evaluation of goat coalho cheese seasoned with alcoholic beverages. In Tecnologia de Alimentos: Tópicos Físicos, Químicos e Biológicos (pp. 324-336). Editora Científica Digital.

85. Singh, S. P., Sharma, R. B., & Singh, G. (2017). Effect of Breed and Method of Preparation on Yield of Goat Milk Mozzarella Cheese. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6, 3181-3188.

86. Souza, J. V. & Dias, F. S. (2017). Protective, technological, and functional properties of select autochthonous lactic acid bacteria from goat dairy products. *Current Opinion in Food Science*, 13, 1-9.

87. Tidona, F., Bernardi, M., Francolino, S., Ghiglietti, R., Hogenboom, J. A., Locci, F., Zambrini, V., Carminati, D., & Giraffa, G. (2019). The impact of sodium chloride reduction on Grana-type cheese production and quality. Journal of Dairy Research, 86(4), 470-476.

88. Tirado, D. F., Acevedo, D., & Torres-Gallo, R. (2018). Effect of deformation history on the stress relaxation behaviour of Colombian Caribbean coastal cheese from goat milk. *Food Science and Technology International*, 1082013218767006.

89. Tirado, D. F., Vertel-Gallego, A., Lora-Sánchez, J., Gallo-García, L. A., Acevedo, D., & Torres-Gallo, R. (2018). Rheological properties of Colombian-Caribbean-coast sour cream from goat milk. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(1), 97-105.

90. Tosh, S. M., & Dalgleish, D. G. (1998). The physical properties and renneting characteristics of the synthetic membrane on the fat globules of microfluidized milk. Journal of Dairy Science, 81(7), 1840–1847.

91. Tsafrakidou, P., Bozoudi, D., Pavlidou, S., Kotzamanidis, C., Hatzikamari, M., Zdragas, A., & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2016). Technological, phenotypic and genotypic characterization of lactobacilli from Graviera Kritis PDO Greek cheese, manufactured at two traditional dairies. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 681-689.

92. Tunick, M. H., Mackey, K. L., Shieh, J. J., Smith, P. W., Cooke, P., & Malin, E. L. (1993). Rheology and microstructure of low-fat Mozzarella cheese. *International Dairy Journal*, 3(7), 649-662.

93. Vacca, G. M., Pazzola, M., Dettori, M. L., Pira, E., Malchiodi, F., Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A. & Bittante, G. (2015). Modeling of coagulation, curd firming, and syneresis of milk from Sarda ewes. *Journal of Dairy Science*, 98(4), 2245-2259.

94. Vandera, E., Kakouri, A., Koukkou, A. I., & Samelis, J. (2019). Major ecological shifts within the dominant nonstarter lactic acid bacteria in mature Greek Graviera cheese as affected by the starter culture type. *International Journal of Food Microbiology*, 290, 15-26.

95. Van Hekken, D. L., Park, Y. W., & Tunick, M. H. (2013). Effects of reducing fat content on the proteolytic and rheological properties of Cheddar-like caprine milk cheese. *Small Ruminant Research*, 110(1), 46-51.

96. Van Hekken, D. L., Tunick, M. H., Malin, E. L., & Holsinger, V. H. (2007). Rheology and melt characterization of low-fat and full fat Mozzarella cheese made from microfluidized milk. LWT-Food Science and Technology, 40(1), 89-98.

97. Vélez, M. A., Hynes, E. R., Meinardi, C. A., Wolf, V. I., & Perotti, M. C. (2017). Cheese milk low homogenization enhanced early lipolysis and volatiles compounds production in hard cooked cheeses. *Food Research International*, 96, 215-225.

98. Zhao, Z., & Corredig, M. (2020). Effects of pH-modification on the rennet coagulation of concentrated casein micelles suspensions. Food Chemistry, 316, 126199.

29

Screening of new sources and consumption estimation of rutin in herbs and infusions

- Adriana Dillenburg **Meinhart**
  UNICAMP/UFPEL
- Fernanda Mateus **Damin**
  UNICAMP
- Lucas **Caldeirão**
  UNICAMP
- José **Teixeira-Filho**
  UNICAMP
- Helena Teixeira **Godoy**
  UNICAMP

Artigo original publicado em: 2020
Revista Food Science and Technology - ISSN 1691-4192.

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

10.37885/201102238

ABSTRACT

Rutin has shown promising results in reducing various human diseases. However, many plants consumed in Brazil do not have their rutin content reported in the literature yet. More than eighty plants were analyzed using aqueous (popularly known as tea) and ethanolic extraction (employed in commercial rutin purification) by liquid chromatography. Rutin was found in 47 samples when ethanol extraction was used. *Echinodorus grandiflorus* had the highest content (14,878.7 mg 1000 g-1), followed by *Sambucus nigra, Drimys winteri* and *Taraxacum officinale*. On aqueous infusion, *Echinodorus grandiflorus, Sambucus nigra, Drimys winteri* and *Ruta graveolens* presented the highest levels of rutin, ranging from 15.5 to 29.7 mg of rutin in 300 mL of infusion from 2 g of the plant. *Echinodorus grandiflorus, Sambucus nigra, Drimys winteri, Taraxacum officinale* and *Ruta graveolens* presented a high amount of flavonoid and might be good alternatives as ingredients in food and pharmaceuticals in order to obtain health benefits.

Keywords: tea, HPLC, Phenolic Compounds, Quantification, Bioactive.

INTRODUCTION

Rutin belongs to the family of flavonoids and could be more specifically classified as a flavonol. Ot is a molecule of quercetin with the addition of a disacchari de (rhamnose and glucose). Due to rutin's pharmacological activities, associated with different properties, such as anti-inflammatory and antioxidant actions, it became of great importance for the pharmaceutical industry, and many drugs registered worldwide contains rutin in their composition (Abarikwu et al., 2017; Chua, 2013; Ganeshpurkar & Saluja, 2016; Ghorbani, 2017).

Chen et al. (2014) demonstrated that rutin is a potential protective agent against acute lung injury caused by interaction with lipopolysaccharides. The study shows its effect in the inflammatory action in the lungs through inhibition of the activation of MOP-2 (inflammatory protein) and MMP-9 (endopeptidase). The anti-inflammatory effect of rutin was also observed in cases of chronic colitis (Mascaraque et al., 2014). Choi et al. (2015) studied the antithrombotic effect of rutin in vitro and in vivo, suggesting that it could, pottentially, be used in the treatment of cardiovascular diseases by reducing thrombin activity, inhibiting platelet aggregation and fibrin coagulation.

Kaur & Muthuraman (2016) found positive effects when they used rutin to treat renovascular hypertension caused by renal ischemia. Some researchers showed promising results for Alzheimer's treatment, in which rutin was correlated with beneficial effects against the neurotoxicity of Aβ (amyloid beta peptide), besides reducing levels of oxidative stress and brain inflammation (Moghbelinejad et al., 2014; Xu et al., 2014).

Pan et al. (2014) studied the influence of rutin in the treatment of cholestatic liver lesions and Wang et al. (2016) the antifibrotic action on neuropathy in rats. They both concluded that rutin consumption resulted in significant improvement in the studied diseases. Rutin was also considered effective in alleviating the toxic effect of ethanol in neural cells through the activation of ALDH2 (aldehyde dehydrogenase 2) that converts acetaldehyde into acetic acid (Song et al., 2014), besides contributing positively with spinal cord injury treatment (Wu et al., 2016), inhibiting effects of thyroid hormones in rats with hyperthyroidism (Panda & Kar, 2014) and improving neuropathy caused by diabetes (Tian et al., 2016).

Rutin has also been studied for its use in cosmetics for the production of sunscreen, and the result was promising compared to traditional sunscreens (Kamel & Mostafa, 2015).

On Brazil the use of vegetables in infusions is associated with traditional knowledge from native and popular culture and has more recently expanded thanks to miscegenation with emigrants from Africa, Europe and Asia (Bolson et al., 2015). Despite the significant amount of plants used in infusions in Brazil, there are few data on rutin content in these plants and in their aqueous infusions.

Therefore, this work aimed to quantify rutin in more than 80 plants commonly used by the population, taking into consideration the extraction of this compound using aqueous infusion, popularly known as tea, which is the common method of consumption, as well as extraction with ethanol (largely employed in commercial purification of rutin), considered a green solvent due to its low cost, toxicity and environmental impact.

MATERIALS AND METHODS

Samples and reagents

The plants were obtained in fairs and public markets of Campinas and Americana, SP, Brazil. Each plant has been acquired from three suppliers in dried form, just like it is commercialized. The plants were identified with both the popular and scientific names, according to the product label description and to the Brazilian Dfficial Pharmacopoeia (Brasil, 2010) and when its name was not found in the publication, we cited their scientific names given by the suppliers. None of the analyzed plants has any consumption restriction according to the Brazilian legislation (Brasil, 2014). This study has access to Brazilian genetic patrimony and was registered under the Ministério do Meio Ambiente (protocol number A3414AD).

The standard of the rutin was obtained from Biopurify (Chengdu, China). Stock solutions were prepared in HPLC grade methanol (J.T. Baker, Brazil), at a concentration of 1 mg mL-1, and stored at -80 °C. Formic acid was purchased from Merck (Brazil), HPLC grade acetonitrile from J.T. Baker (Brazil) and ethanol absolute from Synth (Brazil). Ultrapure water was obtained using Milli-Q system (Millipore Corporation, France). All solutions were filtered in 0.22 µm PVDF membranes (Millipore Corporation, France).

Sample preparation

Approximately 40 g of sample from each supplier were weighed, homogenized and ground in a hammermill (Marconi TE 600, Brazil), with a 200 *mesh* sieve. Samples containing barks, stalks, stems and tubercles were reduced in size with a knife before grinding.

For rutin extraction using solvent, the method was based on the study of Meinhart et al. (2017) where 0.5 g of ground sample were weighed in tubes with lid and 15 mL of solution added containing 74% of water and 26% of ethanol. Tubes were hermetically sealed and heated in water bath at 60 °C, under agitation (240 rpm) for 22 minutes. Then the volume was adjusted to 100 mL, the extracts were filtered and injected.

We weighed 2 g of sample (an equivalent to a tea sachet) to prepare the aqueous infusions (teas), added 300 mL of boiling water and then let them remain still for 16 minutes.

After that, the mixture was cooled, its volume adjusted to 500 mL, the extract was filtered and injected. Each extraction was performed three times. The method was based on da Silveira et al. (2017).

Method for analysis of rutin

All analyses were carried out using ultra performance liquid chromatography employing a Waters Acquity UPLC (Thermo, USA) equipament, with a Kinetex C18 column (Phenomenex, USA) - 100 mm length, 2.1 mm i.d. and 1.7 μm particle size. The column temperature was maintained at 30 °C. The mobile phase consisted of acidified water (formic acid 0.1%, pH 2.4) - A and acetonitrile - B. The linear gradient started with 100% A with linear decrease up to 92% A at 10 minutes, continuing with linear gradient until it reached 70% A at 14 minutes, which was held constant until minute 15. For cleaning the column, a new linear gradient started from 15 to 16 minutes until it reached 100% B at 16 minutes, which was held for 1 minute. From 17 minutes to 23 minutes the column was reconditioned with 100% A. The flow rate was 0.3 mL min-1 and the injection volume was 10 uL. The method was based on studies carried out by Van Hung & Morita (2008) and Meinhart et al. (2017). Odentification of the compounds was made comparing standards through retention time, absorption spectrum of the diode arrangement detector (DAD) with a wavelength of 325 nm and through co-chromatography (spiked sample). Quantification was carried out using external calibration curve.

The method was validated for limit of detection and limit of quantification (three times and six times the signal to noise ratio, respectively). The analytical curve was constructed in 7 equidistant concentrations, randomly repeated three times, starting with the limit of quantification and ending with the concentration up until linearity was ensured through the evaluation of the models for lack of fit, and ANDVA regression significance was carried out using Statistica 7.0 (Statsoft, USA). Precision was analyzed between days and on the same day. Dn the same day it was analyzed through 10 successive determinations, which were repeated for 3 days to determine the precision between days. Precision on the same day and between days was carried out in 3 levels, including the limit of quantification, the intermediate and the maximum point of the analytical curve (n=10 for each). Analytical trueness for the ethanol-based extraction was evaluated through recovery in the same three levels as in the precision assay (n=3 for each level).

RESULTS AND DISCUSSION

Validation of analytical methodology

The method of analysis has been properly validated showing an adequate linearity, with F values for lack of fit smaller than the critical values of F, with 95% of confidence level. The limits of quantification were 0.05 mg L-1 and the coefficients of variation were a maximum value of 5.4% for precision testings and recovery between 98.3 and 104.7%. The parameters are in accordance with the limits established by OUPAC (Onternational Union of Pure and Applied Chemistry, 2002) and ANVOSA (Brasil, 2017), indicating that the method is recommended to perform quantitative analysis with adequate analytical certainty. On Table 1, there are figures of merit for the analytical method.

Extraction using ethanol for commercial purification

Table 2.shows rutin content in the plants studied using ethanol extraction and aqueous infusion, expressed in mg 1000 g-1. Results were also expressed in mg of rutin in 300 mL of aqueous infusion, considering its consumption when the tea is prepared with a sachet (around 2 g). Figure 1 shows the chromatograms of the winter's bark and *chapéu de couro* samples.

Forty-five of the eighty-three plants analyzed showed quantifiable concentration of rutin between 27.74 mg 1000 g-1 for *Occimum basilicum* and 14,878.61 mg 1000 g-1 for *Echinodorus grandiflorus*. Besides, *Echinodorus grandiflorus*, *Sambucus nigra*, *Drimys winteri*, *Taraxacum officinale* and *Ruta graveolens* should be highlighted for having rutin content above 8,000.00 mg 1000 g-1, and they can be considered a potencial source of rutin. *Ilex paraguariensis* is widely consumed in Brazil as infusion and is highlighted by its high phenolic content, especially those derived from caffeic acid (Silveira et al., 2016; Marques & Farah, 2009). Regarding its rutin content, it was found 4,645.26 mg 1000 g-1 and, although it had the lowest content among the above-mentioned plants, it has a higher content than the popular green tea (1,344.83 mg 1000 g-1), black tea (1,115.51 mg 1000 g-1) and white tea (920.94 mg 1000 g-1) from *Camellia sinensis*.

Table 1. Figures of merit for the analysis using ultra performance liquid chromatography for determination of rutin in Brazilian plants.

Parameters		Rutin
Linear range (mg L-1)		0.05 to 35.0
Model		y = 3,511.5x - 155.61
Linear model adjustment (F)(1)		2.17
Precision on the same the day in relative standard deviation (n = 10)	Level 1(2)	5.40%
	Level 2	2.67%
	Level 3	3.09%

Parameters		Rutin
Precision between days in relative standard deviation (n = 10)	Level 1	0.59%
	Level 2	1.52%
	Level 3	0.28%
Limit of detection (mg L-1)		0.025
Limit of quantification (mg L-1)		0.05
Recovery (n=3 for each level)	Level 1	104.71%
	Level 2	98.28%
	Level 3	99.56%

(1) The model is adequately adjusted when calculated F is smaller than critical F (3.49) with 95% of confidence; (2) Level 1, 2 and 3 concentrations: limit of quantification, intermediate and the maximum point of linear range of analytical curve.

Table 2. Rutin content in plants consummed in Brazil.

Ethanol Extration (mg 1000 g-1)						Aqueous infusion (mg 1000 g-1)			Rutin in aqueous infusion (mg 300 mL-1)	% of infusion extraction in relation to ethanol extraction
Scientific Name	Popular Name	Parts of the plant	Mean	±	RSD	Mean	±	RSD		
Rosmarinus officinalis	Rosemary	Leaves		nd			nd		nd	-
Lavandula officinalis	Green Lavender	Flowers		nd			nd		nd	-
Angelica officinalis	Garden angelica	Roots		nd			nd		nd	-
Myracrodruon urundeuva	Aroeira	Bark		nd			nd		nd	-
Adiantum capillus-veneris	Maidenhair	Leaves		nd			nd		nd	-
Cordia verbenácea	Black Sage	Leaves, thalli		nd			nd		nd	-
Myroxylon peruiferum	*Bálsamo do norte*	Bark		nd			nd		nd	-
Operculina alata	Jalapa	Tubercle		nd			nd		nd	-
Costus spicatus	Spiked spiral-flag ginger	Leaves		nd			nd		nd	-
Cymbopogon citratus	Lemongrass herb	Leaves		nd			nd		nd	-
Cirsium vulgare	Common Thistle	Leaves, thalli		nd			nd		nd	-
Rhamnus purshiana	Buckthorn	Bark		nd			nd		nd	-
Erytroxylon catuaba	Catuaba	Bark		nd			nd		nd	-
Equisetum arvensis	Horsetail	Leaves, thalli		nd			nd		nd	-
Hydrocotyle asiatica	Centella Asiatica	Leaves, thalli		nd			nd		nd	-
Polygonum acre	Water Pepper	Leaves, thalli		nd			nd		nd	-
Pimpinella anisum	Anise	Flowers		nd			nd		nd	-
Eucaliptus globulos	Eucalyptus	Leaves, thalli		nd			nd		nd	-
Verbena bonariensis	Vervain	Stem		nd			nd		nd	-
Panax ginseng	Ginseng	Roots		nd			nd		nd	-

Ethanol Extration (mg 1000 g-1)						Aqueous infusion (mg 1000 g-1)			Rutin in aqueous infusion (mg 300 mL-1)	% of infusion extraction in relation to ethanol extraction
Scientific Name	Popular Name	Parts of the plant	Mean	±	RSD	Mean	±	RSD		
Tabebuia impetiginosa	Pau D'arco	Bark		nd			nd		nd	-
Gardenia jasminoides	Gardenia	Flowers		nd			nd		nd	-
Hymenaea courabril	Jatoba	Bark		nd			nd		nd	-
Citrus aurantium	Drange	Leaves		nd			nd		nd	-
Artemisia absinthum	Wormwood	Leaves, thalli		nd			nd		nd	-
Ptychopetalum olacoides	Muira Puama	Stem		nd			nd		nd	-
RSD: relative standard deviation (n = 3), nd: not detected.										
Melissa officinalis	Lemon balm	Leaves, thalli		nd			nd		nd	-
Mentha sp	Mint	Leaves		nd			nd		nd	-
Trichilia catigua	Catuaba	Stem		nd			nd		nd	-
Galinsoga parviflora	Gallant soldier	Stem		nd			nd		nd	-
Cinchonae calisaya	Cinchona	Bark		nd			nd		nd	-
Punica granathum	Pomegranate	Bark		nd			nd		nd	-
Ocotea preciosa	Sassafraz	Stem		nd			nd		nd	-
Senna alexandrina	Sene	Leaves		nd			nd		nd	-
Cuphea ingrate	Cuphea	Leaves, thalli		nd			nd		nd	-
Plantago major	Broadleaf plantain	Leaves, thalli		nd			nd		nd	-
Valeriana officinalis	Valerian	Roots		nd			nd		nd	-
Verbena officinalis	Common vervain	Leaves		nd			nd		nd	-
Occimum basilicum	Basil	Leaves, thalli	27.74	±	1.55	42.50	±	1.14	0.09	153.21
Maytenus ilicifolia	*Espinheira Santa*	Leaves, thalli	28.83	±	1.40	31.92	±	3.55	0.06	110.73
Mikania glomerata	Guaco	Leaves, thalli	36.39	±	0.99	32.66	±	1.40	0.07	89.77
Myrcia sphaerocarpa	*Pedra-Ume-Caá*	Leaves	36.60	±	0.97	36.05	±	1.37	0.07	98.48
Stryphnodendron adstringens	Barbatimão	Bark	40.29	±	1.64	33.53	±	1.38	0.07	83.24
Urtica dioica	Common nettle	Leaves	40.91	±	0.87	Nd	±	nd	Nd	0.00
Baccharis trimera	*Carqueja*	Leaves, thalli	41.81	±	1.50	37.62	±	0.30	0.08	89.98
Chenopodium ambrosioides	Wormseed	Leaves, thalli, seeds	43.05	±	4.49	40.97	±	1.57	0.08	95.15
Anona muricata	Soursop	Leaves	51.62	±	3.51	87.44	±	4.96	0.17	169.39
Cecropia palmate	Pumpwood	Leaves	88.21	±	2.91	145.25	±	3.97	0.29	164.67
Persea gratíssima	Avocado	Leaves	93.46	±	5.43	88.42	±	6.66	0.18	94.61
Tilia cordata	Small-leaved lime	Leaves	94.45	±	3.23	85.49	±	1.58	0.17	90.52

Ethanol Extration (mg 1000 g-1)						Aqueous infusion (mg 1000 g-1)			Rutin in aqueous infusion (mg 300 mL-1)	% of infusion extraction in relation to ethanol extraction
Scientific Name	Popular Name	Parts of the plant	Mean	±	RSD	Mean	±	RSD		
Lavandula officinalis	Lavender	Flowers, leaves	96.99	±	2.22	96.04	±	3.18	0.19	99.03
Bidens pilosa	Black-jack	Leaves, thalli	101.95	±	4.13	99.80	±	4.97	0.20	97.89
Acacia plumose	Cat's claw	Roots	104.07	±	4.67	32.66	±	1.62	0.07	31.39
Foeniculum vulgare	Fennel	Seeds	130.14	±	0.74	95.28	±	9.33	0.19	73.22
Hibiscus sabdariffa	Roselle	Flowers	150.06	±	3.25	151.16	±	10.00	0.30	100.73
Medicago sativa	Alfalfa	Leaves, thalli	161.74	±	4.31	188.08	±	1.17	0.38	116.29
Peumus boldus	Boldo	Leaves	172.10	±	4.41	138.04	±	7.75	0.28	80.21
Illicium verum	Star anise	Fruit	193.41	±	10.00	193.15	±	8.34	0.39	99.87
Salvia officinalis	Sage	Leaves, thalli	214.68	±	3.19	209.17	±	5.54	0.42	97.43
Cordia salicifolia	*Porangaba*	Leaves, thalli	220.08	±	9.32	170.07	±	26.98	0.34	77.27
Casearia sylvestris	*Guaçatonga*	Leaves, thalli	249.28	±	7.64	240.88	±	46.71	0.48	96.63
Calendula officinalis	Calendula	Flowers	280.55	±	12.00	292.62	±	11.21	0.59	104.30
Artemisia vulgaris	Mugwort	Leaves, thalli	302.23	±	7.30	46.07	±	0.76	0.09	15.24
Matricaria chamomilla	Chamomile	Flowers	311.15	±	13.20	344.49	±	17.62	0.69	110.72
Juniperus communis	Juniper	Seeds	318.85	±	14.22	170.59	±	20.20	0.34	53.50
Cordia sellowiana	Chá de bugre	Leaves	383.84	±	30.48	257.35	±	4.19	0.51	67.05
Agerathum conyzoides	Billygoat-weed	Flowers, leaves, thalli	384.65	±	23.47	261.04	±	35.25	0.52	67.86
Phylantus niruri	Stonebreaker	Leaves, thalli	907.95	±	19.96	854.84	±	46.30	1.71	94.15
Camellia sinensis	White tea	Leaves	920.94	±	33.94	870.90	±	37.28	1.74	94.57
Camellia sinensis	Black Tea	Leaves	1,115.51	±	59.19	1,087.46	±	48.09	2.17	97.49
Jacaranda caroba	Caroba	Leaves, thalli	1,248.49	±	32.80	1,246.83	±	25.31	2.49	99.87
Cynara scolymus	Artichoke	Leaves	1,275.81	±	154.77	1,151.84	±	144.99	2.30	90.28
Camellia sinensis	Green tea	Leaves	1,334.83	±	102.98	1,124.15	±	9.62	2.25	84.22
Bauhinia forficate	Cow's Foot	Leaves	1,540.17	±	27.39	1,318.32	±	69.95	2.64	85.60
Arctium lappa	Greater burdock	Leaves, thalli	1,631.90	±	123.86	2,408.32	±	324.25	4.82	147.58
Sida cordifolia	Flannel weed	Leaves	1,733.38	±	31.82	1,621.73	±	48.47	3.24	93.56
Boehmeria caudate	Assa-Peixe	Leaves, thalli	2,943.22	±	302.56	4,714.01	±	468.19	9.43	160.16
Ilex paraguariensis	Yerba mate	Leaves, thalli	4,645.26	±	313.90	4,120.79	±	37.45	8.24	88.71
Ruta graveolens	Rue	Leaves, thalli	8,291.50	±	210.92	7,763.32	±	398.49	15.53	93.63
Taraxacum officinale	Dandelion	Leaves, thalli	9,148.51	±	908.11		nd		nd	0.00
Drimys winteri	Winter's bark	Bark	9,788.70	±	664.44	7,591.96	±	1,167.61	15.18	77.56
Sambucus nigra	Sabugueiro	Flores	11,576.75	±	519.61	8,316.32	±	145.15	16.63	71.84

Ethanol Extration (mg 1000 g-1)						Aqueous infusion (mg 1000 g-1)			Rutin in aqueous infusion (mg 300 mL-1)	% of infusion extraction in relation to ethanol extraction
Scientific Name	Popular Name	Parts of the plant	Mean	±	RSD	Mean	±	RSD		
Echinodorus grandifloras	*Chapéu de couro*	Leaves, thalli	14,878.61	±	230.68	14,849.45	±	44.37	29.70	99.80

RSD: relative standard deviation (n = 3), nd: not detected.

On the literature, there are works which have reported the quantification of rutin in *Sambucus nigra* and *Ruta graveolens* flowers that were similar to the present work, or even superior (Dawidowicz & Wianowska, 2009; Mohamed & Obrahim, 2012; Ueng et al., 2015). Differences in this study's results compared to the literature can be explained by the growing conditions of the plants, climate and botanical variety, besides the use of other parts of the plant such as the stem, which has a lower concentration of rutin.

We have not found, so far, studies that determined the concentration of rutin in *Echinodorus grandiflorus* and *Taraxacum officinale*.

The arboreal species *Dimophandra mollis* is often used for the commercial obtainment of rutin in Brazil, and it provides the yield of 8 g per 100 g of the fava pericarp (Becho et al., 2009). Comparing the yielding and the crop characteristics, *Echinodorus grandifloras* presents itself as an excellent source for the commercial obtainment due to its high yield (14.9 g per kilo of leaf) and because it is a ground plant, with fast growth, easy to handle and adapted to tropical, subtropical and temperate climates.

Extraction using aqueous infusion for human consumption

The plants which presented higher content of rutin transferred from the plant to the aqueous infusion were *Echinodorus grandifloras* (14,849.45 mg 1000 g^{-1}), *Sambucus nigra* (8,316.32 mg 1000 g^{-1}), *Ruta graveolens* (7,763.32 mg 1000 g^{-1}) and *Drimys winteri* (7,591.96 mg 1000 g^{-1}).

The percentage of extraction of seventeen plants ranged from 90 to 99.99% when hot water was used compared to ethanol extraction. The percentage of extraction of seven plants ranged from 80 to 89.99%, four from 70 to 79.99%, and two from 60 to 69.99%. *Acacia plumosa*, *Artemisia vulgaris* and *Juniperus communis* percentages were lower than 60%, whereas only *Taraxacum officinale* and *Urtica dioica* had non-quantifiable results of rutin using infusion.

Although *Taraxacum officinale* contains a high amount of rutin when extracted using solvent, it did not have a quantifiable content when using aqueous infusion. The transfer rate of compounds from the leaves to the infusion may be affected by the amount of leaves or stems used, particle size, water volume, emperature, presence or absence of stirring and the duration of infusion (Astill et al., 2001; Nishiyama et al., 2010), showing the necessity of optimizing the way aqueous infusion is prepared to increase the migration of this compound.

On the other hand, nine of the forty-five samples that had quantifiable content of rutin in ethanol extraction had a higher concentration when extracted using only aqueous infusion. *Calendula officinalis* concentration was 4% higher in aqueous infusion, *Matricaria chamomilla* and *Maytenus ilicifolia* concentration was 10% higher, *Medicago sativa* 16%, *Arctium lappa* 47%, *Occimum basilicum* 53%, *Boehmeria caudata* 60%, *Cecropia palmata* 64% and *Anona muricata* 69%.

The results show that when we compare ethanol extraction and aqueous infusion, more elaborate exploratory studies are necessary for each plant in order to obtain the maximum extraction of rutin. Several parameters may influence the extraction difference observed when the samples were extracted only with water or water: ethanol mixture. Dne of the most important factors is the capacityof the extracting solution to permeate the plant structure and solubilize the compound. Such effect may be altered by the individual or synergistic action of the composition of the extraction solution (whose polarity change influences the intensity of the attractive forces between the rutin molecules and the extraction solution), agitation, particle size, volume of extraction and, in particular, the composition of the plant matrix (which may cause physical barrier effects or competitive effects among the other matrix compounds - as seen in Figures 1A and 1B) (Astill et al., 2001; Silveira et al., 2014; Nishiyama et al., 2010; Damoraran & Parkin, 2019; Martins et al., 2013). To further elucidate the chemical effects that occur in each plant, future species-specific optimization studies may be relevant.

Figure 1. Chomatogram of rutin in Winter's bark (Drimys winteri) – ethanol:água (1A) and aqueous infusion (1B) and Chapéu de couro (Echinodorus grandifloras) – ethanol:água (2A) and aqueous infusion (2B). UPLC analisys conditions: C18 column, column oven at 30ºC, mobile phase (0.3 mL min −1): water acidified with formic acid (0.1%, pH 2.4) – A and acetonitrile – B with a linear gradient beginning at 100% A, with a linear decrease to 92% A at 10 minutes, following the linear gradient until 70% A at 14 minutes, which was kept constant until 15 minutes.

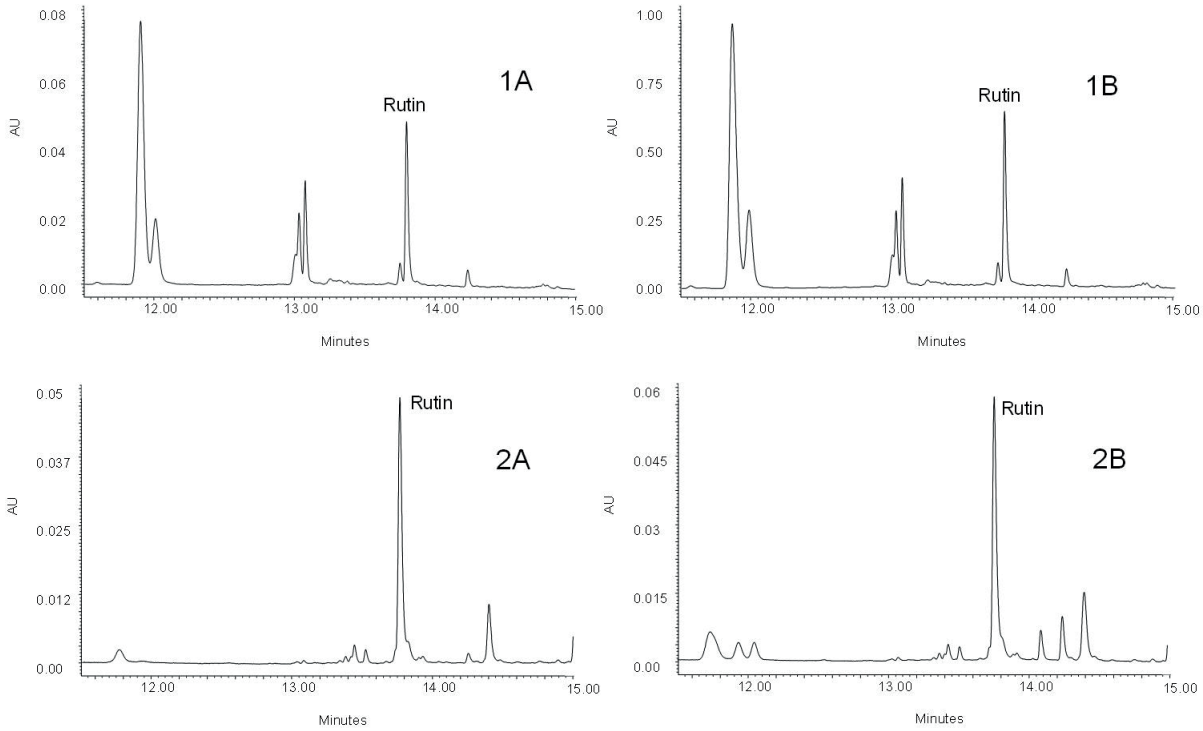


Table 2 gives the concentration of rutin per 300 mL of beverage prepared by infusion from 2 g of plant to determine rutin consumption per portion of beverage. Five infusions with higher levels of rutin were *Ilex paraguarienses* (8.24 mg), *Boehmeria caudata* (9.43 mg), *Drimys winteri* (15.18 mg), *Ruta graveolens* (15.53 mg), *Sambucus nigra* (16.63 mg) and *Echinodorus grandiflorus* (29.70 mg). On order to consume the same amount of rutin present in 300 mL of *Echinodorus grandiflorus* beverage, a person must consume 600 mL of beverage made of *Sambucus nigra*, *Drimys winteri* or *Ruta graveolens,* approximately 1000 mL of *Ilex paraguarienses* infusion, approximately 5200 mL of white tea (*Camellia sinensis*) infusion or 46000 mL of *Lavandula officinalis* infusion.

Compared to other foods and beverages, the consumption of 300 mL of *Echinodorus grandiflorus* aqueous infusion has a concentration of rutin equal to 400 g of cherry tomatoe (Sánchez-Rodríguez et al., 2012), 70 g of olives or 70 mL of olive oil (Yorulmaz et al., 2012), 550 mL of tangerine juice (Milella et al., 2011), 20 g of acerola (Nunes et al., 2011) or 6000 mL of red wine (Garaguso & Nardini, 2015). These data show the potential of *Echinodorus grandiflorus* infusion as a source of rutin when compared to other foods and beverages.

Studies have reported that rutin offers beneficial effects on health, such as antihyperglycemic, in doses from 5.0 mg per kg of body mass per day (Ghorbani, 2017). Thus, for a 70 kg adult, it is required a minimum intake of approximately 350.0 mg of rutin, although this value can vary for each individual according to their metabolism and bioavailability of rutin (Lesser et al., 2015). The content is found in only 23.6 g of the plant, indicating that its consumption through dishes such as salads, seasoning or hot dishes is an easy way of obtaining the supply of this flavonol from alimentation. On addition, future studies may be useful to optimize the preparation form of the infusion, so that a greater amount of plant is used in relation to the volume of water, thus, allowing the ingestion of this quantity of rutin in a lower volume of infusion.

CONCLUSION

This study highlights the importance of plants used in Brazil regarding rutin content, since it was found in 45 of 83 plants studied. The method of extraction using solvent (most used in commercial purification processes) or aqueous infusion (common method of consumption) has proved itself to be quite relevant regarding the content of rutin, since we observed a difference ranging from 0 to 169% among extractions, which shows the necessity of optimizing extraction for each source. The plants that showed the highest content of rutin in the aqueous infusions were *Echinodorus grandiflorus, Sambucus nigra, Ruta graveolens* and *Drimys winteri* (all above 7,000.00 mg of rutin per 1000 g of plants), emphasizing the

potential of plants that had not been studied as new sources of rutin when compared to other foods and beverages, especially *Echinodorus grandifloras* (14,849.45 mg 1000 g-1).

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank CAPES (Coordination for higher Education Staff Development) for their research support, a PNPD-CAPES post-doctorate scholarship (1267386), and a masters' scholarship; CNPq (Brazilian National Council for Scientific and Technological Development) for a doctorate scholarship (process no. 141944/2016-1) and *Espaço da Escrita* (Writing Space) in the State University of Campinas/SP, for translation services.

REFERÊNCIAS

1. Abarikwu, S. D., Dlufemi, P. D., Lawrence, C. J., Wekere, F. C., Dchulor, A. C., & Barikuma, A. M. (2017). Rutin, an antioxidant flavonoid, induces glutathione and glutathione peroxidase activities to protect against ethanol effects in cadmium-induced oxidative stress in the testis of adult rats. *Andrologia*, 49(7), 1-12. http://dx.doi.org/10.1111/ and.12696. PMid:27562125.

2. Astill, C., Birch, M. R., Dacombe, C., Humphrey, P. G., & Martin, P. T. (2001). Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black and green tea infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5340-5347. http://dx.doi.org/10.1021/jf010759+. PMid:11714326.

3. Becho, J. R. M., Machado, H., & Guerra, M. D. (2009). Rutina – estrutura, metabolismo e potencial. *Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais*, 1(1), 21-25.

4. Bolson, M., Hefler, S. R., Dall'Dglio Chaves, E. O., Gasparotto, A. Jr., & Cardozo, E. L. Jr. (2015). Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paran?? Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 161, 1-10. http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.11.045. PMid:25482361.

5. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2010). *Farmacopéia brasileira* (5. ed., Vol. 1). Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

6. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2014, May 13). Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos (RDC No 26, de 13 de Maio de 2014). *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*.

7. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2017, July 25). Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências (RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017). *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, No. 141.

8. Chen, W. Y., Huang, Y. C., Yang, M. L., Lee, C. Y., Chen, C. J., Yeh, C. H., Pan, P. H., Horng, C. T., Kuo, W. H., & Kuan, Y. H. (2014). Protective effect of rutin on LPS-induced acute lung injury via down-regulation of MOP-2 expression and MMP-9 activation through inhibition of Akt phosphorylation. *International Immunopharmacology*, 22(2), 409-413. http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2014.07.026. PMid:25091621.

9. Choi, J. H., Kim, D. W., Park, S. E., Lee, H. J., Kim, K. M., Kim, K. J., Kim, M. K., Kim, S. J., & Kim, S. (2015). Anti-thrombotic effect of rutin isolated from Dendropanax morbifera Leveille. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 120(2), 181-186. http://dx.doi. org/10.1016/j.jbiosc.2014.12.012. PMid:25777266.

10. Chua, L. S. (2013). A review on plant-based rutin extraction methods and its pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(3), 805-817. http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.10.036. PMid:24184193.

11. Damoraran, S., & Parkin, K. L. (2019). *Química de alimentos de fennema* (5. ed.). Porto Alegre: Artmed.

12. Dawidowicz, A. L., & Wianowska, D. (2009). Application of the mspd technique for the hplc analysis of rutin in Sambucus nigra l.: The linear correlation of the matrix solid-phase dispersion process. *Journal of Chromatographic Science*, 47(10), 914-918. http://dx.doi. org/10.1093/chromsci/47.10.914. PMid:19930805.

13. Ganeshpurkar, A., & Saluja, A. (2016). The pharmacological potential of rutin. *Saudi Pharmaceutical Journal PMid:28344465.*

14. Garaguso, O., & Nardini, M. (2015). Polyphenols content, phenolics profile and antioxidant activity of organic red wines produced without sulfur dioxide/sulfites addition in comparison to conventional red wines. *Food Chemistry*, 179, 336-342. http://dx.doi.org/10.1016/j. foodchem.2015.01.144. PMid:25722174.

15. Ghorbani, A. (2017). Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 96(Dctober), 305-312. http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.001. PMid:29017142.

16. Onternational Union of Pure and Applied Chemistry – OUPAC. (2002). Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (OUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 835-855.

17. Kamel, R., & Mostafa, D. M. (2015). Rutin nanostructured lipid cosmeceutical preparation with sun protective potential. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 153, 59-66. http:// dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.09.002. PMid:26398812.

18. Kaur, S., & Muthuraman, A. (2016). Therapeutic evaluation of rutin in two-kidney one-clip model of renovascular hypertension in rat. *Life Sciences*, 150, 89-94. http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2016.02.080. PMid:26920631.

19. Lesser, M. N. R., Keen, C. L., & Lanoue, L. (2015). Reproductive and developmental outcomes, and influence on maternal and offspring tissue mineral concentrations, of (–)-epicatechin, (+)-catechin, and rutin ingestion prior to, and during pregnancy and lactation in C57BL/6J mice. *Toxicology Reports*, 2, 443-449. https://doi. org/10.1016/j.toxrep.2015.01.003. PMOD:28962380.

20. Marques, V., & Farah, A. (2009). Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. *Food Chemistry*, 113(4), 1370- 1376. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.086.

21. Martins, C. R., Lopes, W. A., & Andrade, J. B. (2013). Drganic compound solubility. *Quimica Nova*, 36(8), 1248-1255. http://dx.doi.org/10.1590/ S0100-40422013000800026.

22. Mascaraque, C., Aranda, C., Dcón, B., Monte, M. J., Suárez, M. D., Zarzuelo, A., Marín, J. J. G., Martínez-Augustin, D., & de Medina, F. S. (2014). Rutin has intestinal antiinflammatory effects in the CD4+ CD62L+ T cell transfer model of colitis. *Pharmacological Research*, 90, 48-57. http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2014.09.005. PMid:25281414.

23. Meinhart, A. D., Damin, F. M., Caldeirão, L., Silveira, T. F. F., Filho, J. T., & Godoy, H. T. (2017). Chlorogenic acid isomer contents in 100 plants commercialized in Brazil. *Food Research International*, 99(Pt 1), 522-530. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.017. PMid:28784513.

24. Milella, L., Caruso, M., Galgano, F., Favati, F., Padula, M. C., & Martelli, G. (2011). Role of the cultivar in choosing Clementine fruits with a high level of health-promoting compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5293-5298. http://dx.doi.org/10.1021/ jf104991z. PMid:21504146.

25. Moghbelinejad, S., Nassiri-Asl, M., Farivar, T. N., Abbasi, E., Sheikhi, M., Taghiloo, M., Farsad, F., Samimi, A., & Hajiali, F. (2014). Rutin activates the MAPK pathway and BDNF gene expression on beta- amyloid induced neurotoxicity in rats. *Toxicology Letters*, 224(1), 108- 113. http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.10.010. PMid:24148604.

26. Mohamed, M. A. H., & Obrahim, T. A. (2012). Enhanced in vitro production of Ruta graveolens L. coumarins and rutin by mannitol and ventilation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 111(3), 335- 343. http://dx.doi.org/10.1007/s11240-012-0199-5.

27. Nishiyama, M. F., Costa, M. A. F., Costa, A. M., Souza, C. G. M., Bôer, C. G., Bracht, C. K., & Peralta, R. M. (2010). Chá verde brasileiro (Camellia sinensis var assamica): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. *Food Science and Technology (Campinas)*, 30, 191-196. http://dx.doi.org/10.1590/ S0101-20612010000500029.

28. Nunes, R. S., Kahl, V. F., Sarmento, M. S., Richter, M. F., Costa-Lotufo, L. V., Rodrigues, F. A., Abin-Carriquiry, J. A., Martinez, M. M., Ferronatto, S., Ferraz, A. B., & Silva, J. (2011). Antigenotoxicity and Antioxidant Activity of Acerola Fruit (Malpighia glabra L.) at Two Stages of Ripeness. *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)*, 66(2), 129-135. http:// dx.doi.org/10.1007/s11130- 011-0223-7. PMid:21503669.

29. Pan, P. H., Lin, S. Y., Wang, Y. Y., Chen, W. Y., Chuang, Y. H., Wu, C. C., & Chen, C. J. (2014). Protective effects of rutin on liver injury induced by biliary obstruction in rats. *Free Radical Biology & Medicine*, 73, 106-116. http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.05.001. PMid:24815012.

30. Panda, S., & Kar, A. (2014). Antithyroid effects of naringin, hesperidin and rutin in L-T4 induced hyperthyroid rats: Possible mediation through 5′DO activity. *Pharmacological Reports*, 66(6), 1092-1099. http://dx.doi.org/10.1016/j.pharep.2014.07.002. PMid:25443740.

31. Sánchez-Rodríguez, E., Ruiz, J. M., Ferreres, F., & Moreno, D. A. (2012). Phenolic profiles of cherry tomatoes as influenced by hydric stress and rootstock technique. *Food Chemistry*, 134(2), 775-782. http:// dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.180. PMid:23107690.

32. Silveira, T. F. F., Meinhart, A. D., Souza, T. C. L., Cunha, E. C. E., Moraes, M. R., Teixeira, J. Fo., & Godoy, H. T. (2017). Dptimization of the preparation conditions of yerba mate tea beverage to maximize chlorogenic acids extraction. *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)*, 72(2), 219-223. http://dx.doi.org/10.1007/ s11130-017-0613-6. PMid:28466135.

33. Silveira, T. F. F., Meinhart, A. D., Souza, T. C. L., Teixeira, J. Fo., & Godoy, H. T. (2016). Phenolic compounds from yerba mate based beverages A multivariate optimisation. *Food Chemistry*, 190, 1159-1167. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.031. PMid:26213090.

34. Silveira, T., Meinhart, A. D., Ballus, C. A., & Godoy, H. T. (2014). The effect of the duration of infusion, temperature, and water volume on the rutin content in the preparation of mate tea beverages: An optimization study. *Food Research International*, 60, 241-245. http:// dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.09.024.

35. Song, K., Kim, S., Na, J. Y., Park, J. H., Kim, J. K., Kim, J. H., & Kwon, J. (2014). Rutin attenuates ethanol-induced neurotoxicity in hippocampal neuronal cells by increasing aldehyde dehydrogenase 2. *Food and Chemical Toxicology*, 72, 228-233. http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2014.07.028. PMid:25084483.

36. Tian, R., Yang, W., Xue, Q., Gao, L., Huo, J., Ren, D., & Chen, X. (2016). Rutin ameliorates diabetic neuropathy by lowering plasma glucose and decreasing oxidative stress via Nrf2 signaling pathway in rats. *European Journal of Pharmacology*, 771, 84-92. http://dx.doi. org/10.1016/j.ejphar.2015.12.021. PMid:26688570.

37. Ueng, Y.-F., Chen, C.-C., Huang, Y.-L., Lee, O.-J., Yun, C.-H., Chen, Y.-H., & Huang, C.-C. (2015). Effects of aqueous extract of Ruta graveolens and its ingredients on cytochrome P450, uridine and reduced nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate) (NAD (P) H)-quinone oxidoreductase in mice. *Yao Wu Shi Pin Fen Xi*, 23(3), 516-528. http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2015.03.005. PMid:28911711.

38. Van Hung, P., & Morita, N. (2008). Distribution of phenolic compounds in the graded flours milled from whole buckwheat grains and their antioxidant capacities. *Food Chemistry*, 109(2), 325-331. http://dx.doi. org/10.1016/j.foodchem.2007.12.060. PMid:26003354.

39. Wang, B., Liu, D., Zhu, Q. H., Li, M., Chen, H., Guo, Y., Fan, L. P., Yue, L. S., Li, L. Y., & Zhao, M. (2016). Rutin ameliorates kidney interstitial fibrosis in rats with obstructive nephropathy. *International Immunopharmacology*, 35, 77-84. http://dx.doi.org/10.1016/j. intimp.2016.03.029. PMid:27035719.

40. Wu, J., Maoqiang, L., Fan, H., Zhenyu, B., Qifang, H., Xuepeng, W., & Liulong, Z. (2016). Rutin attenuates neuroinflammation in spinal cord injury rats. *The Journal of Surgical Research*, 6(March), 1-7. http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2016.02.041. PMid:27363641.

41. Xu, P., Wang, S. W., Yu, X. L., Su, Y. J., Wang, T., Zhou, W. W., Zhang, H., Wang, Y. J., & Liu, R. T. (2014). Rutin improves spatial memory in Alzheimer's disease transgenic mice by reducing AB oligomer level and attenuating oxidative stress and neuroinflammation. *Behavioural Brain Research*, 264, 173-180. http://dx.doi.org/10.1016/j. bbr.2014.02.002. PMid:24512768.

42. Yorulmaz, A., Poyrazoglu, E. S., Dzcan, M. M., & Tekin, A. (2012). Phenolic profiles of Turkish olives and olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(9), 1083-1093. http://dx.doi. org/10.1002/ejlt.201100186.

30

Tecnologias envolvidas no processamento de empanados

- Eulália Lopes da Silva **Barros**
- Noádia Genuario **Barroso**
- Callebe Camelo-**Silva**
- Márcio Augusto Ribeiro **Sanches**
- Silvani **Verruck**
- Márcia Cristina Teixeira Ribeiro **Vidigal**

doi 10.37885/201102196

RESUMO

O empanamento é uma das principais maneiras pelas quais as indústrias processadoras de carnes agregam valor aos produtos, por realçar ou favorecer a cor, sabor e textura. A agregação de valor se deve ao aproveitamento de cortes de proteína com preços mais baixos ou que seriam descartados e pelo aumento de rendimento. As tecnologias de empanamento podem melhorar a qualidade de carnes frescas, congeladas e processadas, retardando a perda de umidade, reduzindo a oxidação de lipídios, melhorando a aparência do produto, preservando aromas voláteis, funcionando como transportadores de aditivos alimentares, como agentes antimicrobianos e antioxidantes, e redução da absorção de óleo durante a fritura. Nesse contexto, este artigo traz uma revisão sobre os sistemas de revestimento comestíveis e um estudo de caso que trata da percepção de consumidores em relação a produtos empanados disponíveis no mercado.

Palavras-chave: Alimentos Revestidos, Empanamento, Tecnologias de Processamento, Sistemas de Cobertura.

INTRODUÇÃO

O estilo de vida dos consumidores foi completamente alterado nessas últimas décadas devido a urbanização, a globalização e a renda, e como consequência houve uma redução do tempo dedicado ao preparo de alimentos no ambiente doméstico. Nesse contexto, os produtos de fácil e rápido preparo como os produtos empanados têm ganhado destaque, sendo uma alternativa interessante para os processadores de produtos cárneos, especialmente aves. Essas mudanças de hábitos de consumo vêm exigindo adaptações da indústria avícola (CARVALHO *et al*., 2018). No Brasil, a demanda por produtos preparados de aves, como os empanados, tipo *Steak*, vem crescendo. A produção de empanados é dada principalmente a partir de carne de frango mecanicamente separada, seguido pela mistura de pele de frango e retalho do peito, e então é, posteriormente, formatado em porções específicas, proporcionando menor perda durante o cozimento e melhora no aproveitamento dos músculos que seriam subutilizados, após são empanados e pré-fritos (VEIT *et al*., 2011).

A maior conscientização e exigência dos consumidores gera uma maior atenção voltada a formulação e ao processamento de empanados. A tecnologia de empanamento permite aumentar a vida útil do produto e agregar valor pelo aumento de rendimento no processo, pela melhoria na aparência do produto e por proporcionar uma diversificação de sabores. Os produtos empanados apresentam maior vida útil comparado a uma carne crua, principalmente pelo retardamento da oxidação e consequente surgimento de rancidez. O processo de empanamento também protege o produto contra a desidratação e queima pelo frio durante o congelamento. O aperfeiçoamento do processo de empanamento tem sido um grande desafio para os profissionais da área de alimentos, principalmente com relação à escolha e composição do sistema de cobertura que é responsável pelas principais características do produto, tais como: manutenção de aroma e sabor, custo, espessura da cobertura, funcionalidade, textura, sabor, apelo visual e diferenciação entre os produtos (DILL *et al*., 2009). Além disso, as formulações têm sido modificadas a fim de obter um produto mais saudável, com menor adição de conservantes, aromatizantes e outros compostos artificias. Neste capitulo abordaremos as etapas do processamento de empanados, seus principais sistemas de cobertura e um trabalho publicado pelo grupo como exemplo.

TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE EMPANADOS

Os empanados congelados de frango foram introduzidos à indústria de *fast food* no final dos anos 70, sendo considerado um dos maiores casos de sucesso no setor avícola, obtendo em pouco tempo êxito de vendas (BARBUT, 2012). Mesmo sendo considerado um novo produto no mercado, o consumo de empanados de frango surgiu há muitos anos com

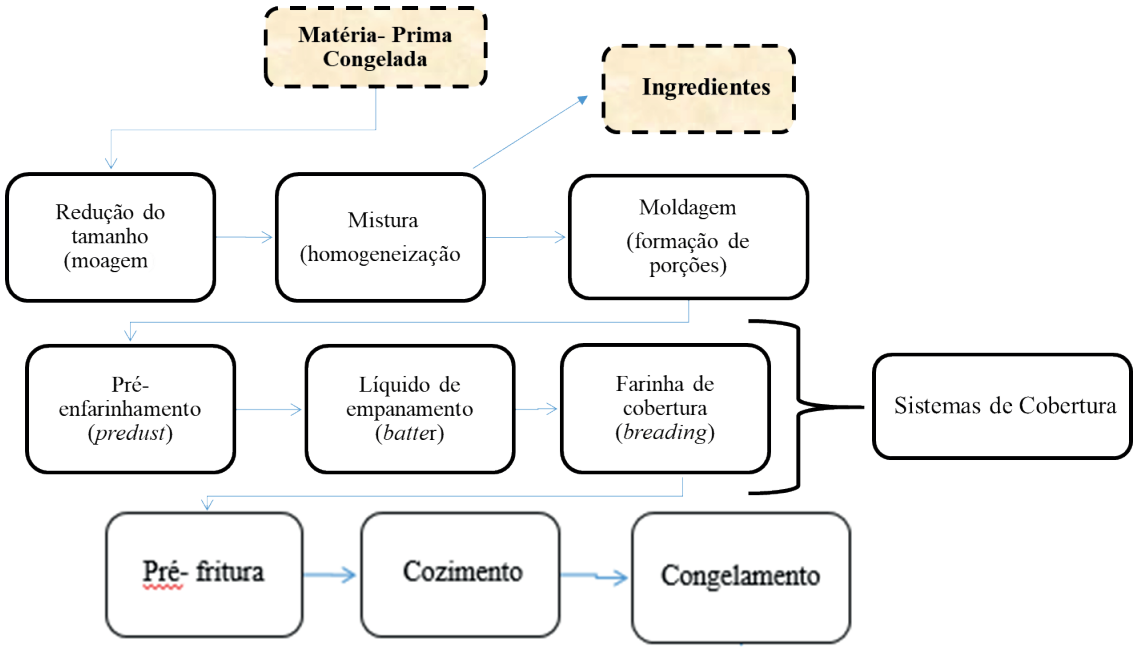
o ato de empanar carnes, sendo assim um alimento tradicional, porém numa versão que confere maior praticidade conforme exigido pelos consumidores atuais.

Empanados de frango são definidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Instrução Normativa nº 6, de 15/02/2001) como um produto cárneo industrializado, obtido a partir de carnes de diferentes espécies animais de açougue, acrescido de ingredientes (proteínas de origem vegetal e/ou animal, aditivos, condimentos, especiarias, farinhas, vegetais, molhos, queijos, produtos cárneos industrializados), moldado ou não, e revestido de cobertura apropriada que o caracterize. Pode ser cru, semi-cozido, ou cozido, ou semi-frito ou frito, ou outros. A quantidade limite exigida para proteínas e carboidrato na formulação é de no mínimo de 10% e no máximo de 30%, respectivamente. Quanto a adição de proteínas não cárneas é permitida o máximo de 4% em forma de proteína agregada (BRASIL, 2001).

Conforme relatado por Ordóñez (2005), a primeira operação a ser feita é a redução do tamanho (moagem), seguida pelas etapas de mistura, de moldagem, de recobrimento através de um sistema de cobertura específico, de fritura, de cozimento e de congelamento. As principais operações que constituem o processamento de produtos empanados podem ser observadas na Figura 1.

A etapa de redução do tamanho/moagem permite diminuir a dureza, subdividindo a carne de frango congelada em pequenas porções, que juntamente com a adição da salmoura facilita a extração das proteínas miofibrilares, contribuindo para a interação entre as moléculas posterior da mistura (ORDOÑEZ, 2005). Em seguida, os outros ingredientes são adicionados na formulação e misturados para formação de uma massa uniforme, homogênea à distribuição dos componentes, melhorando a qualidade sensorial e as propriedades funcionais dos alimentos. Depois, essa mistura adquire forma prensando a massa dentro de um molde. Esta operação é aplicada em alimentos pastosos a fim de conferir forma e tamanhos distintos, sendo seu maior objetivo aumentar a diversidade e oferecer ao consumidor um produto atrativo. A moldagem pode ser realizada aplicando altas pressões sobre um bloco da mistura cárnea previamente congelado (ORDOÑEZ, 2005). Nesta etapa, a temperatura é um fator a ser controlado, tendo como limite os valores entre –4 e –2°C, para que o processo ocorra corretamente. Caso a temperatura não esteja baixa o suficiente a massa se torna mole e não adquire a forma desejada, ou então não consegue sair do molde adequadamente, desfigurando o produto final (OWENS, 2001). O uso de temperaturas acima de –1°C resulta em um produto final com pontos e “chapiscos”, causando problemas durante a etapa seguinte de cobertura, como cobertura irregular com buracos e sobreposição de peças (GL, 2002). Atualmente, as tecnologias que utilizam revestimentos comestíveis diretamente em alimentos despertam um grande interesse pela indústria de alimentos.

Figura 1. Fluxograma do processamento de produtos empanados.



Fonte: Adaptado de Dill *et al*. (2009).

SISTEMAS DE COBERTURA

O ato de revestir produtos alimentícios passou do ambiente doméstico para restaurantes e indústrias. O atributo sensorial crocância é o mais apreciado pelos consumidores. A intensidade desta característica é utilizada para medir a qualidade de muitos alimentos fritos, como nuggets e *Steaks* de frango, por exemplo. Para conferir crocância a esses produtos, utiliza-se um sistema de cobertura, que pode ser definido como qualquer combinação de ingredientes, seja à base de cereais ou não, que reveste um substrato proteico ou de outra natureza, fornecendo ao produto acabado atributos como sabor, textura e aparência (DILL *et al*., 2009).

Além da questão sensorial, os sistemas de cobertura funcionam como uma barreira protetora contra a migração de gases e a perda ou ganho de umidade, além de proteger o alimento contra danos mecânicos. É também uma forma de se aumentar a variedade de produtos e adicionar valor a alimentos mais simples (FELLOWS, 2006).

A etapa de empanamento é um popular sistema de cobertura, hoje em dia, inclusive, alguns sistemas de empanamento podem conter condimentação, realçando ainda mais características de sabor, aroma e aparência. Por conta de sua importância industrial e econômica, as indústrias que trabalham com produtos empanados ou que estão pensando em implantar esta linha, precisam ter conhecimento sobre o processo e os tipos de empanamento disponíveis. Também deve-se estar atento às particularidades dos ingredientes envolvidos, principalmente no que diz respeito à farinha de empanamento.

De todas operações que constituem o processamento de um produto empanado, certamente a etapa central é o empanamento. Esta operação envolve três etapas fundamentais: *predust* (pré-enfarinhamento), *batter* (suspensão de sólido em líquido) e *breading* (cobertura final) (DELFINO *et al*., 2017). Não há uma obrigatoriedade de uso de todas essas camadas ou uma sequência correta. Porém, a duplicação de camadas de *batter* e *breading* serve como uma alternativa para melhorar o controle de *pick-up* (rendimento) (DEGENHART, 2003).

Predust ou Pré-enfarinhamento

Este é o primeiro componente de um sistema de cobertura e tem por objetivo facilitar a ligação entre as camadas seguintes e o substrato. Em muitos casos também será um carreador de condimentos. Por conta da superfície irregular da massa, a cobertura e o substrato podem encontrar problemas de aderência (DELFINO *et al*., 2017).

O *predust* será o responsável por eliminar esse problema, com a formação de uma camada absorvente, que irá conferir uma maior uniformidade e melhor textura. A farinha de trigo é o *predust* mais usado pela indústria, porém, também há outras alternativas de formulação de *predust*, com amido e proteínas (DEGENHART, 2003).

Essas alternativas podem ser utilizadas para eliminar algumas desvantagens apresentadas pela farinha de trigo, como descolamento da cobertura e perda de crocância, devido à formação de um filme entre a cobertura e a carne, deixando a umidade presa, o que aumenta a pressão abaixo da cobertura, resultando em seu deslocamento. O filme formado é resultante da hidratação das proteínas e do amido. Com a gelatinização do amido, pode ocorrer uma retenção de parte do vapor da água que seria perdido, prejudicando a crocância da cobertura. Como solução a esse defeito, recomenda-se a utilização de material protéico acrescido de gomas (SILVEIRA, 2003).

Batter

O *batter* é constituído por uma mistura em pó de vários ingredientes, pode conter condimentos ou não. Ao ser hidratado, forma uma suspensão de sólidos em líquido, que funciona como uma camada de cobertura externa para o alimento, assim como também faz a aderência entre o substrato e o *breading*, a camada mais externa (GL, 2002). Em um processo industrial é preparado em equipamentos específicos, onde é misturado em água a baixa temperatura, cerca de -4°C (BORTOLUZZI, 2006).

Os produtos são imersos nesta mistura antes de serem enfarinhados e fritos. A função do líquido de empanar é inicialmente a sua adesão ao produto e a farinha de cobertura (*breading*). O *batter* além de agir como uma camada ligante entre as camadas, também é

responsável pelas características econômicas, influenciando na espessura do produto final (BORTOLUZZI, 2006).

Os ingredientes mais comuns do *batter* são a farinha de trigo, farinha de milho, amido, gomas, agentes de escurecimento, proteínas e aromatizantes. A farinha de trigo proporciona aumento da viscosidade, ajuda na suspensão de alguns ingredientes sólidos e auxilia na obtenção de textura firme na cobertura. Podem ser duras ou moles, o que será definido pelo teor de proteínas produzido. As duras produzem 11% ou mais de proteínas com uma boa qualidade das propriedades do glúten. Já as moles contribuem com um teor proteico de 7 a 9%, com baixa qualidade das propriedades do glúten. Já a farinha de milho não possui a capacidade de desenvolver glúten. Além disso, se diferencia da farinha de trigo por não apresentar a mesma capacidade de absorção de água e por ter uma granulometria maior. Os amidos, em contrapartida, promovem uma maior adesão e uma melhor propriedade de formação de película em relação às farinhas (LOEWE, 1990; GL, 2002).

Em relação as gomas, sua função quando presentes em uma formulação de *batter*, é garantir maior viscosidade, estabilidade e homogeneidade. Já os agentes de escurecimento, como o próprio nome já sugere, são usados para desenvolver coloração ao se aplicar calor. Podem ser usados dextrose, sacarose e alguns ingredientes lácteos.

As proteínas mais usadas em *batter* são as de soja, de leite e ovos, além de glúten de trigo que contribuem para a melhoria das propriedades de emulsão, formação de película, escurecimento, adesão e textura.

Os aromatizantes podem vir na forma de especiarias e sal. Este último, inclusive, pode ser usado para evitar a formação de cristais de gelo quando o *batter* se encontra a baixas temperaturas. Dependendo do grau de viscosidade, os *batters* podem ser classificados como de adesão (baixa), de coesão (média) e temperatura (alta). Este último é geralmente utilizado para derivados de peixe, frutos do mar, frango e vegetais (DILL *et al.*, 2009).

Breading

Gonçalves, (2011) descreve o *breading* como a terceira e última etapa de cobertura, que é responsável pela textura, apelo visual e diferenciação entre os produtos. O *breading* é a farinha de cobertura, podendo ter base de cereal e conter condimentos ou não. Esse termo compreende diversos produtos, desde farinha de trigo não temperada e não cozida a farinha derivada de pão. É a camada aplicada sobre o *batter* (GL, 2002).

Conforme relatado por GL (2002), um dos atributos básicos associado ao *breading* é a granulometria. O *breading* é dividido em três categorias de granulometria: pode ser grosso (maior impacto visual), médio (melhor absorção de água) ou fino (rápida absorção de água).

Existem disponível no mercado de empanados quatro variedades de *breading*, sendo elas:

- **Tradicional:** Com uma farinha densa e algumas crostas, que proporciona mordida dura;
- **Extrusado:** que apresenta crocância próxima à farinha de pão e pode ser produzido em larga escala;
- **Americano:** que proporciona uma mordida crocante com pedaços de crosta arredondados;
- **Japonês:** que possui a forma alongada e é livre de crostas, além de ser o mais crocante de todos os tipos.

O *breading* é considerado a etapa mais importante do sistema de cobertura, por ser a camada mais externa e visualmente mais atrativa, e que influencia diretamente a aceitação dos produtos empanados.

Desta forma, é importante que esta etapa seja conduzida com bastante cuidado, com condições de processamento e ingredientes adequados para compor o produto. A etapa de extrusão se destaca nesta finalidade, por ser economicamente viável e flexível. Além de produzir farinha de empanamento, é comum ser usado para o processamento de cereais, amido modificado, análogos de queijo e fórmulas infantis.

PRÉ-FRITURA E CONGELAMENTO

Após o sistema de coberturas, a etapa posterior no processamento de produtos empanados é a pré- fritura. Segundo Dill *et al*. (2009), a operação unitária de fritura consiste na imersão do produto em óleos e gorduras sob altas temperaturas (180-200ºC), por um curto período de tempo (20 a 35s). Os objetivos dessas operações são fixar a cobertura, retirar a umidade, absorver o óleo, além de assegurar estabilidade ao produto frito e conferir características importantes e desejáveis aos alimentos como: aroma, sabor, cor e a dissolução na boca (SOORGI *et al*., 2012).

O tipo e as condições do óleo utilizado na etapa de fritura são importantes, já que a sua composição reflete diretamente nas características do alimento frito. O óleo de palma é o mais utilizado na indústria, possui benefícios como baixo teor de ácidos graxos insaturados que previne a oxidação, que é responsável pela produção de aromas indesejáveis (MBA, *et al*., 2015). A fim de adquirir a viscosidade desejada, os empanados de frango durante a operação de fritura passam por três tipos de *batter*, sendo estes: *batter* de adesão, *batter* de coesão e *batter* de temperatura, e suas principais diferenças são em relação a conformação das aplicações de cobertura, composição, função e tempo de processo (DILL *et al*., 2009).

Logos após a etapa de fritura, realiza-se o assamento, que pode ser a vapor ou apenas calor (DILL *et al*., 2009), sendo decisivo para a redução da contaminação microbiana interna, além de ser responsável pelo desenvolvimento do aroma característico e do sabor

do produto (OLIVO, 2006). Entretanto, em alguns casos, esse estágio pode ser eliminado (BORTOLUZZI, 2006).

Por fim, o produto é congelado. Essa etapa visa controlar o crescimento microbiano, aumentando a vida útil, além de preservar as características sensoriais e valor nutricional dos produtos (BORTOLUZZI, 2006). Os produtos empanados congelados também se tornam menos susceptíveis à oxidação e à perda das camadas de empanamento (BARBUT, 2002). É essencial que os produtos permaneçam sob temperaturas baixas até o momento do preparo, para manter a qualidade microbiológica durante toda vida útil, uma vez que os fungos deteriorantes conseguem se desenvolver em temperaturas de até - 5°C (SACCOMORI *et al*., 2015). Além disso, é importante ressaltar que o uso de congelamento rápido é recomendado pois leva a formação de pequenos cristais de gelo. A temperatura ideal usada pelas indústrias para armazenamento em câmaras frias é de - 18°C para este tipo de produto.

ESTUDO DE CASO: PERFIL DESCRITIVO DE EMPANADOS DE FRANGO: UMA PERCEPÇÃO DOS CONSUMIDORES

Resumo

A mudança do estilo de vida da população vem aumentado a demanda do mercado por produtos prontos ou semiprontos. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi identificar as características sensoriais descritivas e afetivas, de quatro marcas comerciais de empanados de frango, tipo *steak*, por meio da técnica CATA (*Check-all- that-apply*). O teste foi realizado por 70 consumidores, usando uma ficha de avaliação contendo 18 termos. De acordo com o teste de qui-quadrado, as descrições sensoriais foram significativamente diferentes para as quatro marcas, o que foi confirmado pela análise de correspondência. O CATA permitiu determinar o perfil sensorial das marcas comerciais de *steak* de frango e identificar os atributos descritivos que favorecem a aceitação do produto.

Palavras-chave: Steak, CATA (*Check-all-That-Apply*), Aceitação.

Introdução

Existe uma clara tendência de aumento da demanda do mercado em consumir produtos prontos ou semiprontos para consumo, que é resultado da mudança do estilo de vida da população, a qual busca gastar menos tempo no preparo de alimentos (TAMSEN *et al*., 2018). Dentre os produtos que trazem praticidade para os consumidores, destaca-se os empanados de frango. De 1999 a 2004, o consumo de empanados cresceu mais de 150%, e especificamente em 2004, o segmento de empanados cresceu 68% (NIELSEN,

2006). Em 2012, o mercado brasileiro movimentou cerca de R$ 562,5 milhões, resultado da comercialização de mais de 51 mil toneladas de produtos, representando o crescimento de vendas em cerca de 70%, segundo pesquisa conduzida pela Nielsen Retail.

Existem diferentes marcas de empanados de frango disponíveis no mercado com características distintas, sendo assim, avaliar a percepção sensorial desses produtos pelos consumidores é interessante para se obter um direcionamento sobre quais atributos sensoriais levam à maior aceitação. Novas técnicas sensoriais vêm sendo desenvolvidas e dentre elas, destaca-se o CATA (*Check-all-that-apply*) que consiste em um método descritivo rápido em que numa lista de palavras ou frases é apresentada aos consumidores a fim de descrever o produto (ARES *et al*., 2014). Por meio do CATA é possível traçar o perfil sensorial dos produtos, além de identificar termos afetivos, emoções e atitudes.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi identificar as características de aparência, aroma, textura e sabor, além de termos afetivos, de diferentes quatro marcas comerciais de empanado de frango por meio da técnica descritiva com consumidores CATA (Check-all-that-apply).

Material e Métodos

Para a caracterização sensorial foram utilizadas quatro marcas comerciais (A, B, C e D) de empanados de frango, tipo *steak*, adquiridos no mercado local. Os produtos foram assados à 180°C por 3 minutos de forma padronizada no momento da análise.

O teste foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Federal de Mato Grosso, campus do Araguaia. De acordo com a metodologia CATA, os produtos foram apresentados monadicamente e de forma casualizada aos consumidores, sendo solicitado que preenchessem uma ficha contendo 18 termos descritivos ou afetivos, marcando-se qual atributo se associava ao produto. A ficha foi elaborada a partir de dados da literatura sobre caracterização de empanados (MATSUNAGA, 2007). O perfil sensorial dos *steaks* foi realizado por 70 consumidores, conforme recomendação de Ares *et al*. (2014), em cabines individuais, sob luz branca.

A análise dos resultados foi realizada por meio do teste de qui-quadrado e da técnica multivariada, Análise de Correspondência.

Resultados e Discussão

As frequências que cada atributo foi indicando para caracterizar sensorialmente cada formulação de *steak* de frango estão apresentadas nas Tabela 1. De acordo com o teste de qui-quadrado, as descrições sensoriais (18 atributos) foram significativamente diferentes (χ^2= 198,127, p<0,0001) para as quatro marcas.

Para melhor visualização das diferenças entre as percepções sensoriais dos consumidores, os dados foram submetidos à Análise de Correspondência (Figura 2). A primeira dimensão (DIM 1) explicou 67,57% da variação dos dados e a segunda dimensão 27,83%, sendo suficientes para discriminar as amostras. A separação especial das amostras sugere a formação de três grupos distintos: um formado pelas marcas A e B, o segundo pela marca C e outro pela marca D.

As marcas A e B foram caracterizadas pelos atributos: cor escura, gorduroso, sabor ruim, não compraria este produto e produto barato. Estes atributos indicam que o produto não foi bem aceito pelos consumidores.

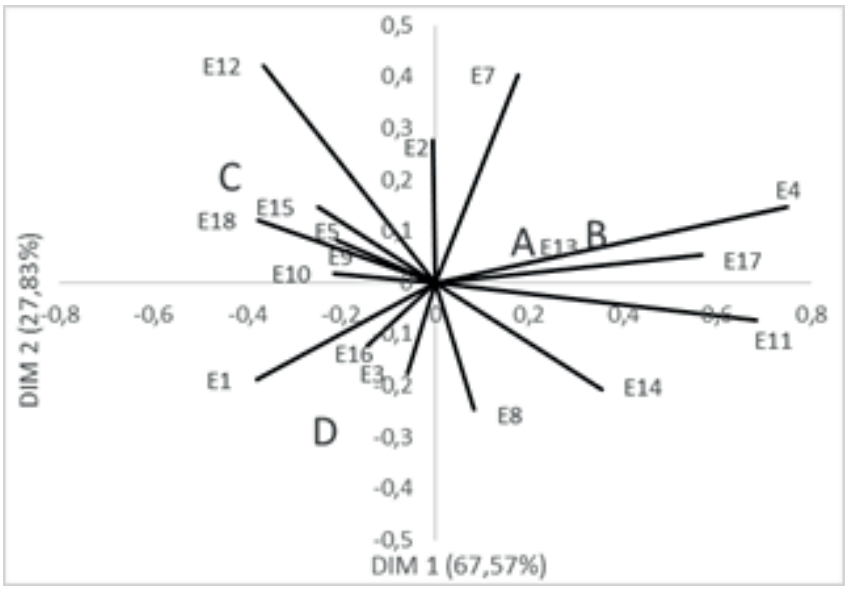
A marca C foi associada aos atributos: sabor de frango, aroma de frango, suculento, saboroso, compraria este produto e produto caro, indicando que foi bem aceita pelos consumidores. A qualidade sensorial foi relacionada com o preço elevado do produto, que pode contribuir negativamente na decisão de compra. No entanto, esta marca não é a mais cara do mercado.

A marca D foi caracterizada pelos termos descritivos: cor clara, sequinho, crocante e temperado. Essas características também são desejáveis no produto. Segundo Matsunaga (2007), a crocância é um dos atributos mais valorizados pelos consumidores de empanados de frango.

Tabela 1. Frequências dos atributos mencionados para caracterização das quatro marcas comerciais de *steak* de frango.

Atributos	Códigos	A	B	C	D
Cor clara	E1	18	8	34	42
Macio	E2	31	34	47	22
Sequinho	E3	26	27	31	48
Cor escura	E4	22	35	5	8
Aroma de frango	E5	8	13	22	17
Gosto Salgado	E6	24	16	19	20
Gorduroso	E7	18	14	17	4
Crocante	E8	38	41	29	64
Compraria este produto	E9	22	21	40	35
Saboroso	E10	23	22	44	39
Sabor ruim	E11	11	17	1	8
Suculento	E12	8	7	23	7
Produto Barato	E13	10	10	6	7
Diferente	E14	24	24	7	25
Sabor de Frango	E15	18	20	43	28
Temperado	E16	25	24	37	47
Não compraria este produto	E17	19	20	5	9
Produto Caro	E18	1	1	3	2

Figura 2. Mapa de dispersão das quatro marcas comerciais de empanado de frango (A, B, C e D) e dos atributos sensoriais em relação às duas dimensões da análise de correspondência.



Conclusão

A metodologia CATA permitiu caracterizar as marcas comerciais de *steak* de frango e indicar os atributos descritivos que favorecem a aceitação do produto, sendo eles, sabor, aroma de frango e suculência.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Os produtos empanados são muito populares entre os consumidores, principalmente pela sua praticidade e por conta de seus aspectos de textura, sabor e aparência.

A tecnologia envolvida no processo de empanamento inclui diferentes etapas que precisam ser conduzidas com cuidado e com a escolha certa de ingredientes e processos, visando alcançar um produto de alta qualidade.

Suculência, crocância e sabor e aroma característicos de carne são atributos importantes para uma maior aceitação dos produtos empanados. Hoje o desafio da indústria de alimentos se concentra em modificar esses sistemas de empanamento, com o objetivo de produzir produtos sensorialmente bem aceitos e saudáveis. Estudos mais recentes mostram que a operação de extrusão tem se mostrado uma alternativa interessante para a produção de farinhas de empanamento que apresentam boas características funcionais e de aceitação entre os consumidores. Deste modo, fica evidente que o conhecimento aprofundado do processamento de empanado e dos sistemas de cobertura é de suma importância para o desenvolvimento e inovação desses produtos não somente em termos de economia como também nutricionais.

REFERÊNCIAS

1. ARES, G.; TÁRREGA, A.; IZQUIERDO, LUIS.; JAEGER, S.R. Investigation of the number of consumers necessary to obtain stable sample and descriptor configurations from *check-all-that-apply* (CATA) questions. **Food Quality and Preference**, v.31, p.135-141, 2014.

2. BARBUT, S. Poultry products: formulations and gelation. In: BARBUT (Ed.) Poultry products processing: an industry guide. **Boca Raton**: CRC Press, 2002. p. 249-289.

3. BARBUT, S. Convenience breaded poultry meat products- New developments. **Trends in Food Science and Tecnology**. v. 26, p. 14-2-, 2012.

4. BORTOLUZZI, R. C. 2006. **O mundo do frango: cadeia produtiva da carne de frango**. Criciúma, Ed. Do Autor, p. 481-494.

5. BRASIL, REGULAMENTO TÉCNICO DE IDENTIDADE E QUALIDADE. **Instrução normativa nº 6, de 15 de fevereiro de 2001**. Portaria Ministerial nº 574, de 8 de dezembro de 1998. 2001.

6. CARVALHO, L. R.S.; SILVA, C. H. D.; GIADA, M. L. R. Physical, Chemical and Sensorial Properties of Low-Fat and Gluten-Free Chicken Nuggets. **Journal of Culinary Science & Technology**, v. 16, n. 1, p. 18-29, 2018.

7. DEGENHARDT, J. Empanamento de produtos cárneos. **Aditivos & Ingredientes**, v. 28, p. 77-79, 2003.

8. DELFINO, L. A., *et al*. Breaded tilapia burger applying different commercial breading systems. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 2, p. 32-45, 2017.

9. DILL, D.D.; SILVA, A.P., LUVIELMO,M.M. Processamento de empanados: sistemas de cobertura. **Estudos tecnológicos**, v.5, p. 33-49,2009.

10. FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: Princípios e prática**. Edição: 2ª ed.: Porto Alegre: Armed, 2006.

11. GL-LABORATORIES WORLDWIDE. 2002. **Guia completo para sistemas de cobertura**. Guarulhos, Ed. do Autor, 41 p.

12. GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação.** 1a ed. São Paulo (SP): Atheneu, 2011.

13. LOEWE, R. Ingredients selection for batters systems. In: **Batters and breadings in food processing**, Olewnik, M.; Kulp, K.; eds.; American Association of Cereal Chemists: St. Paul, MN, 1990, p.11-28.

14. MATSUNAGA, P. H. **Identificação de atributos sensoriais de pedaços empanados de frango mais valorizados pelo consumidor.** Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição. 2007.

15. MBA, O.I.; DUMONT, M.J.; NGADI, M. Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – a review. **Food Bioscience**, v. 10, p. 26-41, 2015.

16. NIELSEN, A. C. **Leitura bimestral de empanados**. Junho/julho de 2006. Disponível em: < http://www.nielsen.com/br/pt.html>

17. OLIVO, R. **O mundo do frango: cadeia produtiva de frango**. Criciúma. 2006. ORDÓÑEZ, J.A. 2005. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. 1ª ed., Porto Alegre, Editora Artmed, 293 p.

18. OWENS, C. M. Coated poultry products. In: A.R. **SAMS, Poultry meat processing**. Boca Raton, Lewis Publishers, 2001, p. 227-242.

19. SILVEIRA, E.T.F. Sistemas de cobertura. In: II Curso de Tecnologia para Aproveitamento Integral de Pescado, São Paulo, 2003. **Anais**... São Paulo, 51 p.

20. SACCOMORI,F.; WIGMANN, E.F.; BERNARDI, A.O.; ALCANO-GONZÁLEZ, M.J.; COPETTI, M. V. Influence of storage temperature on the deterioration of frozen chicken nuggets inoculated with *Penicillium polonicum and Penicillium glabrum*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 200, p. 1-4, 2015.

21. SOORGI,M.; MOHEBBI,M.; MOUSAVI,S.M.; SHAHIDI,F.; Effect of Methylcellulose, Temperature, and Microwave Pretreatment on Kinetic of Mass Transfer During Deep Fat Frying of Chicken *Nuggets*. **Food Bioprocess Technology**. v.5, p. 1521-1530, 2012.

22. TAMSEN, M.; SOLTANIZADEH, N.; SHEKARCHIZADEH, H. Evaluation of physicochemical properties of chicken nugget produced with amaranth seed flour. **Iranian Food Science and Technology Research Journal**, v. 14, p. 755-765, 2018. VEIT, J. C.; FREITAS, M. A.; REIS E. S.; MALUF, M. L. F.; FEIDEN, A.; BOSCOLO,

23. W. R. Caracterização centesimal e microbiológica de *nuggets* de mandi-pintado (*Pimelodus britskii*). **Semina**: Ciências Agrárias, v. 32, n. 3, p. 1041-1048, 2011.

31

“*Thermal pest control* em uvas "Chardonnay": caracterização físico-química e sensorial dos vinhos

- Taísa Ceratti **Treptow**
  UFSM/UFPel
- Carine Gláucia **Comarella**
  UFSM
- Fernanda Wouters **Franco**
  UFSM
- Thaís de Oliveira **Lopes**
  UFSM
- Tatiana Valesca Rodriguez **Alicieo**
  UFPel
- Cláudia Kaehler **Sautter**
  UFSM

doi 10.37885/201102204

RESUMO

A tecnologia térmica *Thermal Pest Control* aplicada em vinhedos de cultivares *Vitis vinifera* influencia o metabolismo das vinhas, e pode alterar a composição fenólica e as características sensoriais dos vinhos. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da tecnologia *Thermal Pest Control* sobre as características físico-químicas e sensoriais dos vinhos elaborados com uvas 'Chardonnay'. Os experimentos com uvas 'Chardonnay' receberam aplicações do equipamento *Thermal Pest Control*. O experimento I foi conduzido na safra 2013 com 5 aplicações somente no período da frutificação e o experimento II, na safra 2014 com um total de 19 aplicações do florescimento à colheita. As uvas de ambos os experimentos foram vinificadas em escala laboratorial e os vinhos armazenados por 12 meses. Foram realizadas as análises físico-químicas (acidez total, acidez volátil, álcool, polifenóis totais, antioxidante *DPPH*, açúcares e cor) e o perfil descritivo quantitativo. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de *tukey* com 5% de probabilidade de erro. No experimento I, as aplicações do tratamento térmico aumentaram a concentração dos compostos fenólicos, açúcares totais, antioxidante *DPPH* e do aroma caramelizado. E, no experimento II o maior número de aplicações estimulou os açúcares totais, porém reduziu compostos fenólicos e os atributos sensoriais cor, gosto caramelizado, sensações bucais de persistência e corpo. Sendo assim, conclui-se que o número de aplicações do tratamento térmico influencia nas características físico-químicas e sensoriais dos vinhos 'Chardonnay', além disso, as condições edafoclimáticas e idade das vinhas também devem ser considerados, pois podem influenciar na qualidade dos vinhos.

Palavras-chave: Thermaculture, Vitis Vinifera, Polifenóis Totais, Cor, Perfil Descritivo Quantitativo.

INTRODUÇÃO

A cultivar Chardonnay é originária da idade média em uma aldeia da França e se manteve durante séculos no topo da hierarquia dos vinhos brancos (SWEET, 2007). No Brasil é uma das principais cultivares *Vitis vinifera* de elevada produção, correspondendo a mais de 6 milhões de quilos de uva (IBRAVIN, 2018). No entanto, o clima nas regiões de cultivo da uva 'Chardonnay' é caracterizado por períodos úmidos com temperaturas elevadas, o que favorece o aparecimento das doenças fúngicas (GARRIDO; SÔNEGO, 2003) nos vinhedos. Uma tecnologia alternativa e sustentável para controlar estas doenças foi a implantação do equipamento *Thermal Pest Control (TPC)*, desenvolvido por Florêncio Lazo Barra, no Chile, que emprega ar aquecido em vinhedos de uvas *Vitis vinifera*.

A tecnologia térmica *TPC* utilizada à campo parece também estimular o metabolismo secundário das vinhas (FISCHER, 2012). Estudos indicam que tratamentos térmicos promovem um estresse na planta e induzem as enzimas com atividade chave no metabolismo secundário (DIXON; PAIVA, 1995). O tratamento térmico *TPC* em uvas tintas 'Tannat' e 'Cabernet Sauvignon' favorece a produção de vinhos com elevado teor de polifenóis totais, em especial para os pigmentos antociânicos (TREPTOW *et al*., 2017a, 2017b).

Os compostos fenólicos são o terceiro constituinte mais abundante em uvas e vinhos (GARRIDO; BORGES, 2013). Os tipos de polifenóis no vinho variam consideravelmente com o tipo de uva, composição do solo, clima, origem geográfica e práticas de cultivo (BRUNO; SPARAPANO, 2007). Em vinhos brancos, o conteúdo total de polifenóis varia de 100 a 400 mg L^{-1} (GEORGIEV; ANANGA ; TSOLOVA, 2014). Os compostos fenólicos em vinhos brancos jovens e envelhecidos são divididos no grupo dos flavonóides (monômeros de flavanol, proantocianidinas, taninos condensados), e no grupo dos não flavonóides (hidroxicinamato, ácido benzóico, estilbenos) (WATERHOUSE, 2002). Os polifenóis presentes nas cascas das uvas podem ser o ácido benzóico, ácido cinâmico, flavonóides e estilbenos, enquanto que na polpa, a predominância é dos flavonóides e ácido benzóico (RAPISARDA *et al.,* 1998). Em vinhos brancos, o contato com a casca pode favorecer as características sensoriais e a qualidade pela maior extração dos aromas floral (PALOMO *et al*., 2006) e frutado (FISCHER *et al*., 2001).

Embora os vinhos brancos não sejam tipicamente macerados como os tintos, os compostos fenólicos podem, no entanto, ser extraídos de variedades brancas (HERNANZ *et al*., 2007). Os compostos fenólicos são componentes responsáveis pelas características sensoriais do vinho, alteram o conteúdo e a composição no processo de envelhecimento (LI *et al.,* 2009). Nas características sensoriais, estes compostos alteram o aroma, o amargor (LINSKENS; JACKSON, 1988; SCALBERT, 1993), a cor, o flavor, e a adstringência (KENNEDY, 2008; DE QUIROS; LAGE-YUSTY; LOPEZ-HERNANDEZ, 2009). A adstringência

em vinhos é decorrente da presença dos taninos (KENNEDY, 2008), além disso, estes polifenóis também podem agregar o atributo amargor (KALLITHRAKA; BAKKER; CLIFFORD, 1997), no entanto, em vinhos brancos é considerada uma característica negativa (HUFNAGEL; HOFMANN, 2008). Os polifenóis também podem interagir com o flavor (JUNG; ROPP; EBELER, 2000), estes compostos aumentados em vinhos brancos também podem atuar como substâncias químicas protetoras, fornecendo antioxidantes para reagir com os radicais livres, reduzindo assim a oxidação dos compostos aromáticos (OLEJAR; FEDRIZZI; KILMARTIN, 2015), e aumentando a plenitude do paladar (CEJUDO-BASTANTE *et al*. 2011).

Os vinhos elaborados a partir de uvas 'Chardonnay' são caracterizados como vinhos brancos com características medianas a encorpados, aroma de maçã verde, abacaxi, melão e mel (AKTAN; YILDIRIM, 2014), flavor com notas de banana e mel (ELMACI *et al*., 2007). No Brasil, os vinhos 'Chardonnay' produzidos na região sul apresentam notas de frutas cítricas, frutas tropicais, floral e herbáceo (WELKE *et al*., 2012). Contudo, podem ocorrer variações sensoriais nos atributos da cultivar Chardonnay (NIIMI *et al*., 2018).

As uvas 'Chardonnay' possuem uma menor quantidade de compostos fenólicos que poderiam contribuir diretamente no perfil sensorial dos vinhos (NIIMI; BOSS; BASTIAN, 2017). Sendo assim, faz-se necessário testar tecnologias alternativas que poderiam favorecer o estímulo destes compostos. Neste contexto, não foram observados na literatura estudos sobre o efeito do tratamento térmico *TPC* nas características sensoriais do vinho 'Chardonnay' produzidos com uvas submetidas a este tratamento. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da tecnologia *Thermal Pest Control* sob as características físico-químicas e sensoriais dos vinhos elaborados com uvas 'Chardonnay'.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental

As uvas 'Chardonnay' foram cultivadas na região Sul do Brasil nas condições edafoclimáticas das safras 2013 e 2014. Os vinhedos foram divididos em duas diferentes zonas experimentais, uma para o tratamento controle e outra para o tratamento *Thermal Pest Control* (*TPC*). Cada zona experimental consistiu em seis linhas, separadas uma da outra por três linhas. Em cada linha, a cada 10 m da borda e 6 metros do início da linha, um cacho de uva foi coletado. A quantidade colhida de uvas foi de 15 kg para cada grupo experimental. Posteriormente foi homogeneizada e dividida aleatoriamente em quatro repetições de aproximadamente 3,8 kg cada.

THERMAL PEST CONTROL

O equipamento *TPC* (Lazo *TPC*, modelo GLP granel) foi rebocado por um trator (John Deere, modelo 5603) que se movia a uma velocidade constante, liberando ar aquecido nas espaldeiras. As aplicações nos vinhedos foram feitas com o intuito de reduzir o uso dos agrotóxicos. Devido, as diferenças nas condições climáticas nos diferentes anos de estudo, e condições de uso da metodologia *Thermal Pest Control*, os dados foram considerados como experimentos independentes.

O experimento I foi conduzido na safra 2013, sendo o vinhedo localizado em Palomas (30°47′39.03″S, 55°22′38.30″O, elevação 188 m), na cidade de Santana do Livramento, Rio Grande do Sul, Brasil. As plantas enxertadas em porta-enxerto SO_4, sistema cordão simples, e espaçamento de 3,5 m entre linhas e 2,0 m entre plantas, além das linhas orientadas na direção norte-sul. O tratamento *TPC* deu-se com a utilização do equipamento *TPC* que, rebocado a um trator movimentou-se a 2 km h^{-1}, liberando ar aquecido à temperatura de 140 °C, a uma distância de 20 cm das espaldeiras. No vinhedo totalizaram 5 aplicações somente no período da frutificação.

O experimento II ocorreu na safra 2014 no vinhedo localizado na Estância Leões (30°59′9.789″S, 54°29′40.751″O, elevação 260 m), na cidade de Dom Pedrito, Rio Grande do Sul, Brasil. A cultura foi enxertada com porta-enxerto SO_4, sistema cordão simples, e espaçamento de 3,3 m entre linhas e 1,0 m entre plantas. As linhas também orientadas na direção norte-sul. O equipamento *TPC* rebocado movimentou-se a 4 km h^{-1}, liberando ar aquecido à temperatura de 130 °C numa distância de 20 cm das espaldeiras. Foi realizado um total de 19 aplicações no período do florescimento à colheita.

Vinificação

Nos experimentos, a produção do vinho 'Chardonnay' foi em micro escala no Laboratório de Fermentações e Tecnologia de Bebidas da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). A microvinificação foi realizada conforme Pszczólkowski e De Lecco (2011) com modificações. O mosto foi colocado em microfermentadores (2 litros) e adicionados 50 mg/L de sulfito, 3g/hL e 1g/hL das enzimas *Lafazym extract* e *Lafazym CL* (*Laffort®, Bordeaux, France*), respectivamente. As cascas permaneceram em contato com o mosto pelo período de 3 horas, posteriormente foi realizada a descuba, adicionado 20g/hL da levedura Zymaflore® X5, 30g/hL dos probióticos *Superstart®* e 40g/hL *Bioactiv®* (*Laffort®, Bordeaux, France*). A fermentação alcoólica foi monitorada na temperatura de 16 °C, e adicionado 30 g/hL do clarificante bentonite sódica Pentagel (*Perdomini-Ioc®, Verona, Italy*). Os vinhos foram trasfegados, engarrafados e armazenados à temperatura de 20 °C durante 12 meses.

Análises físico-químicas

Os vinhos foram analisados quanto à concentração de álcool através de um destilador digital (Gibertini, modelo VAD33), acidez total titulável, acidez volátil conforme preconizado pela OIV (2011). Polifenóis totais conforme Singleton e Rossi (1965) e radical *DPPH* quantificado segundo Brand-Williams *et al.* (1995). Os açúcares totais foram analisados pela metodologia proposta por Somogyi e Nelson (NELSON, 1944), enquanto a intensidade da cor foi medida de acordo com a técnica descrita por Ribéreau-Gayon *et al.* (2006).

Perfil Descritivo Quantitativo (PDQ)

Os vinhos foram analisados usando o perfil descritivo quantitativo (PDQ) conforme preconizado pela NBR 14140 (ABNT, 1998) com modificações. Após a aprovação do comitê de ética (Protocolo: 23044813.1.0000.5346) iniciaram as sessões no laboratório de análise sensorial do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da UFSM.

Todas as sessões sensoriais foram realizadas em cabines fechadas com mesa e luz brancas. A seleção e o treinamento dos painelistas transcorreram com o teste para o conhecimento dos gostos básicos através do teste triangular discriminativo e sessões de treinamento, conforme preconizado por Behrens e Silva (2000). Os descritores de aroma foram determinados como descrito na “Terminologia Padrão do Aroma do Vinho”, descrito por Noble *et al.* (1987). O painel treinado foi composto por 8 integrantes (6 mulheres e 2 homens), com idades entre 24 e 50 anos que apresentaram 90% de precisão nas três repetições dos testes citados anteriormente.

As sessões ocorreram duas vezes na semana, com duração de 2 horas por dia, durante três semanas, totalizando seis sessões. Nesta fase, em cada sessão eram analisadas 4 amostras dos grupos experimentais, e os atributos visual, olfatório, gustatório e sensações bucais foram avaliados em uma escala não estruturada de 9 cm, com ponto mínimo, sendo descrita como “nada” e “fraco” e ponto máximo como “forte”. Os descritores sensoriais (visual, olfatório e gustatório), definições e referências do vinho ‘Chardonnay’ foram estabelecidos pelo painel treinado e estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Descritores sensoriais, definições e referências na avaliação das amostras de vinho 'Chardonnay'.

Descritor	Definição	Referência
	VISUAL	
Cor amarela	Intensidade de cor amarela, característica de vinhos brancos (ouro, dourado, palha)	Fraco: 50 mL de vinho 'Chardonnay' em 50 mL de água Forte: 100 mL de vinho 'Chardonnay' em 15 gotas de corante
Viscosidade	Percebido por lágrimas que escorrem na parede da taça	Pouco: 10 mL de aguardente (40%) em 90 mL de água Muito: 100 mL de aguardente (40%)
	OLFATÓRIO	
Álcool	Aroma de etanol	Fraco: 10 mL de etanol (5% v/v) em 40 mL água Forte: 10 mL de etanol (20% v/v) em 40 mL água
Fruta cítrica	Aroma com notas de frutas cítricas (laranja e limão)	Nada: 50 mL de água Forte: 50 mL de suco de laranja e raspas de laranja
Fruta tropical	Aroma com notas de frutas tropicais do Brasil (abacaxi, melão, maracujá)	Nada: 50 mL de água Forte: 50 g de abacaxi em calda/melão em fatias e 50 mL de suco de maracujá
Fruta de árvore	Aroma com notas de maçã verde e pêssego	Nada: 50 mL de água Forte: 50 mL de suco de maçã verde/suco pêssego
Caramelizado	Aroma de caramelo, baunilha e mel	Nada: 50 mL de água Forte: 3 gotas de solução de vanilina (0.25%)/ 10g de açúcar mascavo/ 10mL de mel silvestre.
	GUSTATÓRIO	
Frutado	Gosto associado às frutas cítricas e tropicais	Nada: 10 mL de vinho 'Chardonnay' Forte: 10 mL de vinho 'Chardonnay' com 10 g de abacaxi/melão/maçã verde
Caramelizado	Gosto associado ao mel e caramelo.	Nada: 10 mL de água Forte: 10 mL de vinho branco seco 'Moscato'
Ácido	Gosto ácido percebido nas partes laterais da boca	Fraco: 10 mL vinho branco com 0.02% v/v ácido cítrico Forte: 10 mL vinho branco com 0.9% v/v ácido cítrico
Amargo	Gosto amargo percebido na parte de trás da língua, lembrando amargura do café.	Fraco 10 mL vinho branco com 0.01% v/v cafeína Forte: 10 mL vinho branco com 0.1% v/v cafeína
Adstringência	Percepção de boca seca e áspera	Fraco: 10mL vinho branco Forte: 10 mL vinho branco com adição de 1 mL de solução de infusão de semente de uva.
Pungente	Percepção de gosto picante e acre	Fraco:10 mL vinho branco Forte: 10 mL vinho branco com 2 fatias de gengibre
Persistência e Corpo	Percepção de plenitude bucal, no gosto final.	Fraco:10 mL vinho 'Chardonnay' Forte: 10 mL vinho 'Chardonnay' reserva

Análise estatística

Os resultados dos experimentos I e II foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de *Tukey* a 5% de probabilidade de erro para a análise físico- química e os resultados do treinamento PDQ em cada painelista também foram analisados por ANOVA para determinar a capacidade discriminativa, precisão e nível de concordância entre todos os painelistas.

O teste F e a probabilidade de erro foram utilizados para avaliar a amostra (F amostra, p-valor) e entre as repetições (F repetição, p-valor) também, para cada julgador em cada atributo. Todas as análises foram realizadas com a utilização do *software Statistica*® 9.0 (*Statsoft*).

RESULTADOS

A composição físico-química, fitoquímica e cor dos vinhos 'Chardonnay" no experimento I e II estão descritas na Tabela 2. No experimento I, observa-se que os vinhos *TPC* apresentaram um aumento na concentração dos açúcares totais, polifenóis totais, atividade antioxidante *DPPH*, e diminuição tanto para o teor de álcool quanto para a absorbância 420 nm. No experimento II, os vinhos *TPC* apresentaram redução da acidez total, teor de álcool, polifenóis totais e aumento dos açúcares totais (Tabela 2).

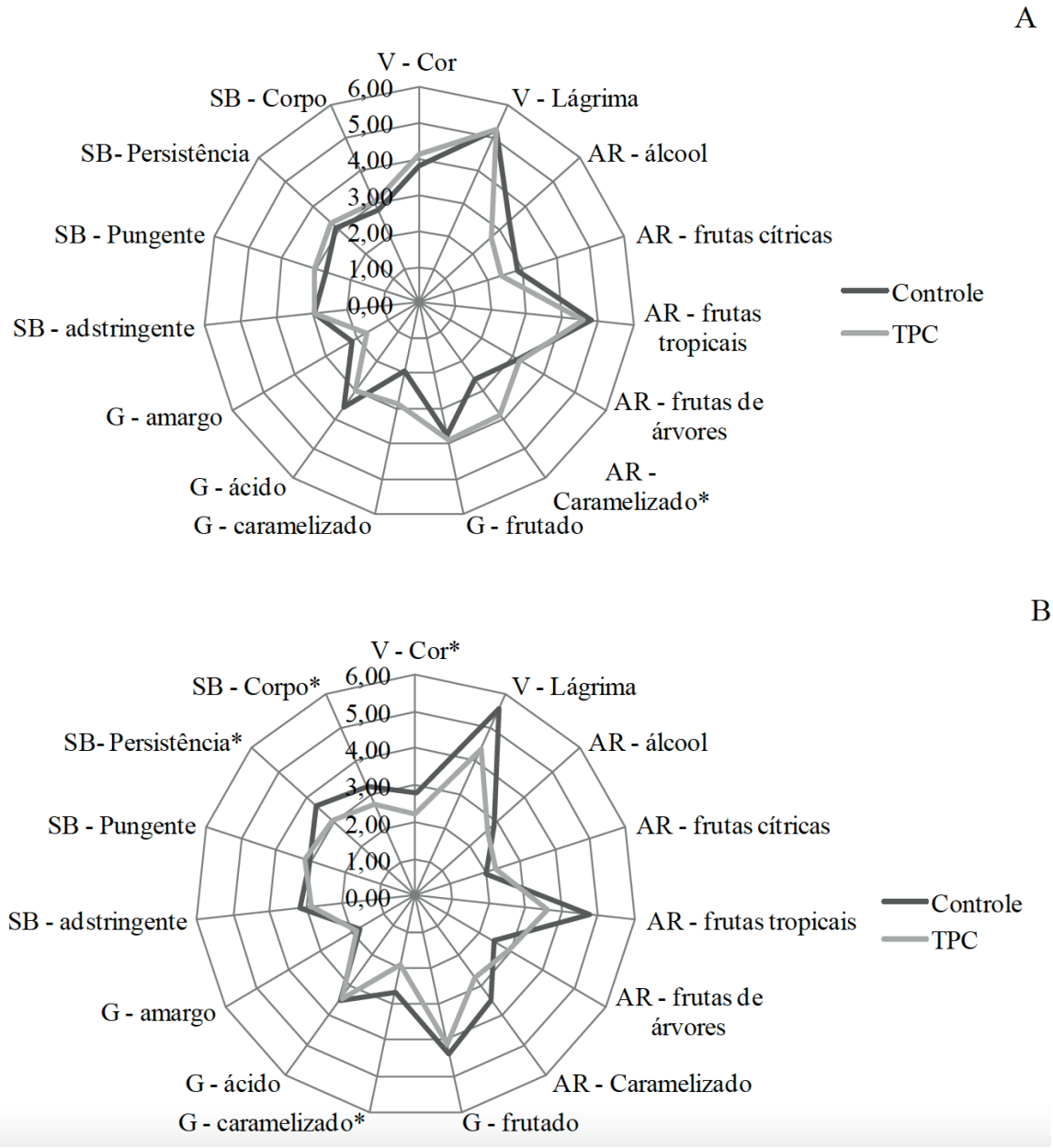
Tabela 2. Efeito do tratamento *Thermal Pest Control* na composição físico-química, fitoquímica e cor dos vinhos "Chardonnay".

Parâmetros	Experimento I		Experimento II	
	Controle	*TPC*	Controle	*TPC*
Físico-química				
Acidez total (meq L^{-1})	107,5±2,88 a	110,0±5,77 a*	106,2±1,44 a	101,2±1,44 b
Acidez volátil (meq L^{-1})	6,50±0,00 a	6,00±0,00 a	9,5±1,73 a	10,5±1,73 a
Açúcares totais (g L^{-1})	2,30±0,60 b	3,87±0,42 a	2,52±0,48 b	4,26±0,43 a
Álcool (°GL)	13,0±0,00 a	11,7±0,00 b	11,6±0,00 a	11,1±0,11 b
Fitoquímicos				
Polifenóis totais (mg L^{-1})	662,5±35,09 b	777,6±46,73 a	213,95±10,3 a	181,02±8,9 b
DPPH (trolox/mM)	0,59±0,03 b	0,67±0,03 a	0,40±0,02 a	0,37±0,02 a
Cor				
Intensidade cor (UA)	0,03±0,00 a	0,03±0,00 a	0,01±0,00 a	0,01±0,00 a
A420nm (UA)	0,02±0,00 a	0,01±0,00 b	0,01±0,01 a	0,01±0,01 a

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si na mesma linha para cada experimento pelo teste de *Tukey* ($p<0,05$). Experimento I: 5 aplicações de *TPC* na safra 2013; Experimento II: 19 aplicações de *TPC* na safra 2014.

O perfil descritivo quantitativo dos vinhos 'Chardonnay' de ambos os experimentos estão descritos na Figura 1A e 1B. No experimento I, os vinhos *TPC* apresentaram uma maior intensidade no aroma caramelizado ($p<0,05$) (Figura 1A). Quanto ao experimento II é possível observar nos vinhos *TPC* uma menor intensidade dos descritores cor, gosto caramelizado, persistência e corpo (Figura 1B).

Figura 1. Perfil descritivo quantitativo dos vinhos elaborados com uvas tratadas com *Thermal Pest Control*. A: Experimento I (5 aplicações de *TPC* na safra 2013); B: Experimento II (19 aplicações de *TPC* na safra 2014). V: visual, AR: aroma, G: gosto, SB: sensações bucais. *Significância estatística pelo teste de *Tukey* (p<0,05).



DISCUSSÕES

Os parâmetros físico-químicos (acidez total, acidez volátil, açúcares totais e álcool) dos experimentos I e II permaneceram dentro dos limites fixados pela Portaria n° 229, de 25 de outubro de 1988 (BRASIL, 1988), que aprova as normas referentes à complementação dos padrões de identidade e qualidade do vinho.

Os atributos sensoriais do vinho 'Chardonnay' no presente trabalho são semelhantes aos produzidos em outras regiões do mundo, como na Austrália que lembram os aromas de frutas e florais (GUCHU *et al.*, 2006), nos Estados Unidos com aromas de frutas tropicais, cítricas, maçã verde, pêssego e mel (HOPFER; EBELER; HEYMANN, 2012; NIIMI; BOSS;

BASTIAN, 2017; NIIMI *et al*., 2018), na Austrália e nos Estados Unidos com aroma alcoólico (HOPFER; EBELER; HEYMANN, 2012), na Espanha com aroma de frutas tropicais, cítrico e floral (HERRERO *et al*., 2016). Outros atributos sensoriais que também estiveram em concordância foram os gostos ácido, amargo e a sensação adstringente (HOPFER; EBELER; HEYMANN, 2012; NIIMI; BOSS; BASTIAN, 2017; NIIMI *et al.,* 2018).

Experimento I

O tratamento térmico *TPC* parece ter estimulado o metabolismo das videiras, visto que, houve um aumento na concentração dos açúcares totais, polifenóis totais e atividade antioxidante *DPPH* (Tabela 2). Estudos revelam que temperaturas elevadas apresentam efeito direto no metabolismo fenólico de uvas (COHEN; TARARA; KENNEDY, 2008). Teixeira *et al*. (2013) afirmam que vinhedos da uva 'Chardonnay' cultivados em condições de estresse promovem maiores concentrações de polifenóis.

As cinco aplicações do *TPC* nas uvas 'Chardonnay' promoveram uma redução no teor de álcool dos vinhos, no entanto não diferiram estatisticamente na intensidade do aroma alcoólico. Neste mesmo contexto, o tratamento *TPC* não alterou a intensidade de cor dos vinhos 'Chardonnay', mostrando concordância com a avaliação dos painelistas (Figura 1A). No entanto, o valor da absorbância em 420 nm, com referência à coloração amarela, reduziu com o tratamento térmico (Tabela 2), o que não foi observado pelos julgadores (Figura 1A).

Os vinhos elaborados com as uvas que receberam aplicações do *TPC* apresentaram maiores valores para os açúcares totais, no entanto, menores valores para o teor de álcool, o que possivelmente indica que o tratamento térmico tenha alterado a conversão dos açúcares durante a fermentação alcoólica. O estresse ocasionado pelo tratamento térmico favorece o acúmulo de diversos metabólitos primários, principalmente os açúcares (WAHID, 2007; WAHID; CLOSE, 2007; WAHID *et al*., 2008; GREER; WESTON, 2010).

O processo fermentativo do vinho gera o etanol e o CO_2, além disso, outros subprodutos também são produzidos a partir da fermentação alcoólica, tais como os ácidos orgânicos e os alcoóis superiores. Desta forma, a produção destes subprodutos, assim como o crescimento de células de levedura, inevitavelmente direcionam alguns intermediários glicolíticos para as vias metabólicas correspondentes, diminuindo o rendimento de etanol até certo ponto (INGLEDEW, 2003). Este teor reduzido de álcool tem sido preferência de muitos consumidores, sendo assim, futuramente poderá impulsionar os produtores à investirem na produção destes vinhos, o que atenderia às necessidades do mercado (PALLIOTTI *et al*., 2014).

Os vinhos elaborados com uvas tratadas termicamente apresentaram uma maior intensidade no aroma caramelizado ($p<0,05$), que foram definidos como descritor com notas

características de caramelo, baunilha e mel. Contudo, quanto ao gosto caramelizado não foi observada diferença estatística entre os tratamentos (Figura 1A).

Em resumo, as condições utilizadas no experimento I indicam que as cinco aplicações do tratamento térmico *TPC* em uvas "Chardonnay' apenas na frutificação aumentam a concentração dos compostos fenólicos e pouco alteram as características sensoriais destes vinhos.

Experimento II

Os vinhos elaborados com uvas tratadas com *TPC* apresentaram uma redução na acidez total. Em concordância com o presente trabalho estiveram Sadras, Petrie e Moran (2013) que também observaram uma redução na acidez total em uvas 'Chardonnay' em resposta as elevadas temperaturas. Os vinhos com *TPC* também apresentaram maiores valores para os açúcares totais e menores valores para o teor de álcool (Tabela 2), fato também já discutido no Experimento I.

O tratamento térmico estimulou os açúcares totais, no entanto, reduziu o teor de álcool e polifenóis totais (Tabela 2). Treptow *et al*. (2017) ao estudar vinhos elaborados com uvas 'Cabernet Sauvignon' tratadas com 19 aplicações de *TPC* também observaram uma redução no teor de álcool. No entanto, no presente trabalho não diferiu estatisticamente quanto ao aroma alcoólico (Figura 1B). Estatisticamente significativa foi a redução na intensidade de cor, gosto caramelizado, persistência e corpo do vinho observada pelos painelistas.

O aumento da amplitude térmica favorece o aumento dos compostos fenólicos (COOMBE, 1987). No entanto, no experimento II, o maior número de aplicações do *TPC* nos vinhedos não foi capaz de estimular a concentração dos compostos fenólicos (Tabela 2). Possivelmente, o período de aplicações do tratamento térmico, entre o florescimento e a colheita, tenha influenciado no metabolismo dos compostos fenólicos. Segundo Spayd *et al*. (2002) e Mori *et al.* (2007), após o período de frutificação, a utilização de altas temperaturas em uvas geralmente não favorece o desenvolvimento dos metabólitos secundários, especialmente os compostos fenólicos devido a possibilidade de degradações química e/ou enzimática.

Na análise sensorial, o tratamento térmico *TPC* não estimulou os aromas do vinho 'Chardonnay' (Figura 1B). Estudos revelam que após o estágio de maturação, a utilização de altas temperaturas no vinhedo reduz a intensidade aromática em vinhos de cultivares brancas (REYNOLDS; WARDLE, 1993; BELANCIC *et al*., 1997).

As diferenças nas análises físico-químicas e sensorial entre os experimentos I e II parecem estar relacionadas à aplicação do tratamento térmico em diferentes ciclos vegetativos. Adicionalmente, estas diferenças também podem ter ocorrido devido aos diferentes microclimas, idade dos vinhedos e composição do solo em que os experimentos foram conduzidos.

CONCLUSÃO

Nos vinhedos da cultivar Chardonnay, o tratamento *Thermal Pest Control* favorece o teor de compostos fenólicos e as características sensoriais dos vinhos com 12 meses, nas condições de cinco aplicações durante o período de frutificação. No entanto, um maior número de aplicações entre o período do florescimento até a colheita reduziu o teor dos compostos fenólicos e atributos sensoriais como a cor, gosto caramelizado, persistência e corpo.

Adicionalmente outros fatores como as condições edafoclimáticas e a idade dos vinhedos também podem ter influenciado nas características físico-químicas e sensoriais destes vinhos. Sendo, portanto, necessários mais trabalhos que evidenciem os efeitos do tratamento térmico *TPC* em uvas de diferentes regiões e condições climáticas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às vinícolas Almadén e Guatambu pelo apoio nos tratamentos à campo.

REFERÊNCIAS

1. AKTAN, N.; YILDIRIM, H. K. **Şarap teknolojisi**. 4. ed. Ankara: kavaklidere eğitim yayinlari, 2014. 584p.

2. ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **ABNT NBR 14140**: alimentos e bebidas – análise sensorial – teste de análise descritiva quantitativa (ADQ). Rio de Janeiro: ABNT, 1998. 5p.

3. BEHRENS, J. H; SILVA, M. A. A. P.. Perfil sensorial de vinhos brancos varietais brasileiros através de análise descritiva quantitativa. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 20, , p. 60-67, Apr. 2000 . DOI 10.1590/S0101-20612000000100013.

4. BELANCIC, A., E. *et al.* Influence of sun exposure on the aromatic composition of Chilean Muscat grape cultivars Moscatel de Alejandria and Moscatel rosada. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 48, p. 181–186, Jan.1997.

5. BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 28, p. 25-30, Jun.1995. DOI 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

6. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. Portaria nº 229/1988, de 25 de outubro de 1988. Normas referentes à complementação dos padrões de identidade e qualidade do vinho e dos derivados da uva e do vinho. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 out. 1988. p. 21.

7. BRUNO, G.; SPARAPANO, L. Effects of three esca-associated fungi on Vitis vinifera L.: V. Changes in the chemical and biological profile of xylem sap from diseased cv. Sangiovese vines. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 71, p. 210–229, Feb.2007. DOI 10.1016/j.pmpp.2008.02.005.

8. CEJUDO-BASTANTE, M. J. *et al*. Combined effects of prefermentation skin maceration and oxygen addition of must on color-related phenolics, volatile composition, and sensory characteristics of Airen white wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.59, p. 12171-12182, Oct. 2011. DOI 10.1021/jf202679y.

9. COHEN, S. D.; TARARA, J. M.; KENNEDY J. A. Assessing the impact of temperature on grape phenolic metabolism. **Analytica Chimica Acta**, Talanta, v. 621, p. 57–67, Jul. 2008. DOI 10.1016/j.aca.2007.11.029.

10. COOMBE, B.G. Influence of temperature on composition and quality of grapes. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 206, p. 23–36, Apr.1987. DOI 10.17660/ActaHortic.1987.206.1.

11. DE QUIROS, A. R. B.; LAGE-YUSTY, M. A.; LOPEZ-HERNANDEZ, J. Hplc-analysis of polyphenolic compounds in spanish white wines and determination of their antioxidant activity by radical scavenging assay. **Food Research International,** Canada, v. 42, p.1018– 1022, Apr. 2009. DOI 10.1016/j.foodres.2009.04.009.

12. DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism. **The Plant Cell**, Waterbury, v. 7, p. 1085-1097, Jul. 1995. DOI 10.1105/tpc.7.7.1085.

13. ELMACI, Y. *et al*. Descriptive Profiling of Flavor Attributes of White Wines From Different Grape Varieties. **International Journal of Food Properties**, Philadelphia, v.10, p. 651-659, Aug. 2007. DOI 10.1080/10942910601098072.

14. FISCHER, M. **The TPT Technology Manual**. 1 ed. California: CEO Lazo TPC Global, Inc 2012. 17p.

15. FISCHER, U. *et al*. **Weinbauliche und kellerwirtschaftliche Massnahmen zur Intensivierung des Weinaromas**. 1 ed. Darmstadt: ATW-KTBL, 2001. 106p.

16. GARRIDO, J.; BORGES, F. Wine and grape polyphenols — A chemical perspective. **Food Research International**, Canada, v.54, p.1844–1858, Dec. 2013. DOI 10.1016/j.foodres.2013.08.002.

17. GARRIDO, L. R.; SÔNEGO, O. R. Doenças fúngicas e medidas de controle. . In: MIELE, A. *et al*. (org.). **Uvas Viníferas para Processamento em Regiões de Clima Temperado**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003.

18. GEORGIEV, V.; ANANGA, A.; TSOLOVA, V. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. **Nutrients**, Switzerland, v. 6, p. 391–415, Jan. 2014. DOI: 10.3390/nu6010391.

19. GREER, D. H.; WESTON, C. Heat stress affects flowering, berry growth, sugar accumulation and photosynthesis of Vitis vinifera cv. Semillon grapevines grown in a controlled environment. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v.37, p. 206–214, Feb. 2010. DOI 10.1071/FP09209.

20. GUCHU, E. *et al.*Volatile composition and sensory characteristics of Chardonnay wines treated with American and Hungarian oak chips. **Food Chemistry**, Oxford, v. 99, p.350–359, Sep, 2006. DOI 10.1016/j.foodchem.2005.07.050

21. HERNANZ, D. *et al*. Phenolic composition of white wines with a prefermentative maceration at experimental and industrial scale. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v.80, p.327-335, Jul. 2007. DOI 10.1016/j.jfoodeng.2006.06.006

22. HERRERO, P. *et al*. Chemosensory characterization of chardonnay and pinot noir base wines of champagne. Two very different varieties for a common product. **Food Chemistry,** Oxford, v. 207, p. 239-250, Mar. 2016. DOI 10.1016/j.foodchem.2016.03.068.

23. HOPFER, H.; EBELER, S. E.; HEYMANN, H. The Combined E□ects of Storage Temperature and Packaging Type on the Sensory and Chemical Properties of Chardonnay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 60, p.10743–10754, Oct, 2012. DOI 10.1021/jf302910f .

24. HUFNAGEL, J. C.; HOFMANN, T. Orosensory-directed identification of astringent mouthfeel and bitter-tasting compounds in red wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.56, p.1376-1386, Jan, 2008. DOI 10.1021/jf073031n.

25. IBRAVIN - Instituto Brasileiro do Vinho. **Qualidade marca a safra de uva 2018 no Rio Grande do Sul**. Disponível em: <https://www.ibravin.org.br/Noticia/qualidade-marca-a- safra-de-uva--2018-no-rio-grande-do-sul/367> . Acesso em: 10 ago. 2018.

26. INGLEDEW, W. M. **Alcohol production by Saccharomyces cerevisiae: a yeast primer, in the alcohol.** 4 ed. UK: Nottingham University Press, 2003. 446p.

27. JUNG, D.M.; ROPP, J.S.; EBELER, S.E. Study of interactions between food phenolics and aromatic flavors using one- and two-dimensional 1H NMR spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.48, p. 407-412, Dec. 2000. DOI 10.1021/jf9906883.

28. KALLITHRAKA, S.; BAKKER, J.; CLIFFORD, M. N. Evaluation of bitterness and astringeney of (+)-catechin and (-)-epicatechin in red wine and in model solution. **Journal of Sensory Studies**, United States, v.12, p. 25-37, May. 1997. DOI 10.1111/j.1745- 459X.1997.tb00051.x

29. KENNEDY, J. A. Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. **Ciencia e Investigación Agraria**, Chile, v. 35, p.107–120, Ago. 2008. DOI 10.4067/S0718- 16202008000200001.

30. LI, Z. *et al*. Evolution of 49 phenolic compounds in shortly-aged red wines made from Cabernet Gernischt (*Vitis vinifera* L. cv). **Food Science and Biotechnology**, South Korea, v.18, p. 1001–1012, Jan. 2009.

31. LINSKENS, H. F.; JACKSON, J. F. **Wine analysis**. 1 ed. Berlin: Springer-Verlag Press, 1988. 381p.

32. MORI, K. *et al*. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, p.1935–1945, 2007. DOI 10.1093/jxb/erm055.

33. NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry,** United States, v.153, p. 375-380, Feb. 1944.

34. NIIMI, J.; BOSS, P. K.; BASTIAN, S. E. P. Sensory profiling and qualities of research Cabernet Sauvignon and Chardonnay wines; quality discrimination depends on greater differences in multiple modalities. **Food Research International**, Canada, v. 106, p.304-316, Dec. 2018. DOI 10.1016/j.foodres.2017.12.060.

35. NIIMI, J. *et al*. Linking the Sensory Properties of Grape Berries with Wines for Vitis vinifera cv. Chardonnay. **American Journal of Enology and Viticulture,** Davis, v 15, p. 1-45, Dec. 2017. DOI 10.5344/ajev.2017.17083.

36. NOBLE, A. C. *et al.* Modification of a Standardized System of Wine Aroma Terminology. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 38, p. 143–146, Jan. 1987.

37. OIV **-** Organisation International Vine. **Compendium of international Methods of Wine and must Analysis**. Paris: International Organisation of vine and wine, 2011. 510p.

38. OLEJAR, K. J.; FEDRIZZI, B.; KILMARTIN, P. A. Antioxidant activity and phenolic profiles of Sauvignon Blanc wines made by various maceration techniques. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Australia, v. 21, p. 57-68, Jan. 2015. DOI 10.1111/ajgw.12119.

39. PALOMO, E. S. *et al*. Contribution of free and glycosidically-bound volatile compounds to the aroma of muscat ‘‘a petit grains’’ wines and effect of skin contact. **Food Chemistry**, Oxford, v. 95, p. 279–289, Mar. 2006. DOI 10.1016/j.foodchem.2005.01.012.

40. PALLIOTTI, A. *et al.* Changes in vineyard establishment and canopy management urged by earlier climate-related grape ripening: A review. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 178, p. 43–54, Aug. 2014. DOI 10.1016/j.scienta.2014.07.039.

41. PSZCZÓLKOWSKI, P.; LECCO, C. C. **Manual de Vinificación: Guía práctica para la elaboración de vinos**. 1 ed. Chile: Ediciones Universidad católica de Chile, 2011. 124p.

42. RAPISARDA, P. *et al*. Hydroxycinnamic acids as markers of Italian blood orange juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.46, p. 464–470, Feb. 1998. DOI 10.1021/jf9603700.

43. REYNOLDS, A. G.; WARDLE, D. A. Yield component path-analysis of Okanagan Riesling vines conventionally pruned or subjected to simulated mechanical pruning. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 44, p.173–179, Jan. 1993.

44. RIBÉREAU-GAYON, P. *et al*. **Handbook of Enology: The Chemistry of Wine: Stabilization and Treatment**. 2 ed. Inglaterra: John wiley & Sons, 2006. 441p.

45. SADRAS, V.O.; PETRIE, P. R.; MORAN, M. A. Effects of elevated temperature in grapevine. II juice pH, titratable acidity and wine sensory attributes. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Australia, v. 19, p.107–115, Nov. 2013. DOI 10.1111/ajgw.12001.

46. SCALBERT, A. **Phenolics in fruits and fruit products: Progress and prospects, polyphenolic phenomena**. Paris: INRA Editions, 1993. 296p.

47. SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic- Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.16, p.144-158, Jan. 1965.

48. SPAYD, S. E. *et al*. Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot berries. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.53, p. 171–182, Jan. 2002.

49. SWEET, N. L. **Chardonnay history and selections at FPS**. Foundation Plant Services: FPS grape Program Newsletter. Disponível em: <http://iv.ucdavis.edu/files/24489.pdf > . Acesso em: 11 ago. 2018.

50. TEIXEIRA, A., J. *et al*. Berry Phenolics of Grapevine under Challenging Environments. **International Journal of Molecular Sciences**, United States, v. 14, p.18711-18739, Sep. 2013. DOI 10.3390/ijms140918711.

51. TREPTOW, T. C. *et al.* Thermal Pest Control in 'Tannat' grapes: Effect on anthocyanins, sensory and color of one-year-old wines. **Food Research International,** Canada, v. 100, p. 113–121, Aug, 2017a. DOI 10.1016/j.foodres.2017.08.011

52. TREPTOW, T. C. *et al*. Thermaculture on 'Cabernet Sauvignon' vineyard increases wine pigments and wine sensory quality. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, Portugal, v.32, p. 82-92, Jul. 2017b. DOI 10.1051/ctv/20173202082.

53. WAHID, A. Physiological implications of metabolites biosynthesis in net assimilation and heat stress tolerance of sugarcane (Saccharum officinarum) sprouts. **Journal of Plant Research**, Japan, v.120, p. 219–228, Oct. 2007. DOI 10.1007/s10265-006-0040-5.

54. WAHID, A.; CLOSE, T. J. Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves. **Biologia Plantarum**, Netherlands, v.51, p.104–109, Mar. 2007. DOI 10.1007/s10535-007-0021-0.

55. WAHID, A. *et al*. Seed pretreatment with hydrogen peroxide improves heat tolerance in maize at germination and seedling growth stages. **Seed Science and Technology**, Netherlands, v. 36, p.633–645, Oct. 2008. DOI 10.15258/sst.2008.36.3.13.

56. WATERHOUSE, A. L. Wine phenolics. **Annals of the New York Academy of Science**, United States, v.957, p. 21–36, May. 2002. DOI 10.1111/j.1749-6632.2002.tb02903.x.

57. WELKE, J. E. *et al*.Volatile Characterization by Multivariate Optimization of Headspace- Solid Phase Microextraction and Sensorial Evaluation of Chardonnay Base Wines. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Brasil, v.3, p. 678-687, Apr. 2012. DOI 10.1590/S0103-50532012000400013.

32

Utilização de farinha de casca de pitaia vermelha (*Hylocereus undatus*) na substituição parcial de gordura em biscoito tipo cookie

- Alana **Zanchet**
  UFRGS
- Simone Hickmann **Flôres**
  UFRGS
- Roberta Cruz Silveira **Thys**
  UFRGS

10.37885/201102197

RESUMO

Objetivo: Caracterizar a farinha produzida a partir da casca de pitaia vermelha e avaliar os biscoitos tipo cookies elaborados com substituição parcial de gordura por farinha de casca de pitaia hidratada, visando auxiliar no desenvolvimento de produtos com redução ou baixo teor de gordura. **Métodos:** Os biscoitos produzidos foram avaliados em relação a rendimento, diâmetro, espessura, fator de expansão, volume aparente e específico, textura e cor, além de composição centesimal, atividade antioxidante e aceitação do consumidor. A farinha de casca de pitaia foi avaliada em relação a composição centesimal, cor, propriedades funcionais (capacidade de retenção de água e de óleo) e atividade antioxidante. **Resultados:** A farinha apresentou baixo teor de proteínas, lipídios e calorias, e alto teor de fibra alimentar total. A avaliação dos cookies mostrou uma diminuição de diâmetro a partir da substituição de 37,5% da gordura, sendo que os biscoitos com redução de gordura ficaram mais macios. O biscoito com 25% de substituição de gordura, quando comparado ao padrão, apresentou aumento da capacidade antioxidante em aproximadamente 95%. Os cookies avaliados sensorialmente apresentaram boa aceitação global, com índices de aceitabilidade superiores a 70%. **Conclusão:** Formulações contendo a farinha de casca de pitaia como substituto de gordura podem ser consideradas promissoras para o desenvolvimento de produtos menos calóricos e com maior teor de fibras, sendo esta farinha interessante para ser utilizada em novos estudos.

Palavras-chave: Alimentos, Substituto. Light, Fibras, Funcional.

INTRODUÇÃO

Recentemente, a Agência Europeia de Segurança Alimentar (EFSA) recomendou que a ingestão de gordura saturada fosse a mais baixa possível, com base na relação entre a ingestão da mesma e o aumento das concentrações de colesterol (LDL) no sangue (EUROPEAN FOOD SAFETY AGENCY, 2010). No Brasil, o Ministério da Saúde divulgou dados que revelam o aumento da obesidade no país, onde uma em cada cinco pessoas está acima do peso. A prevalência da doença passou de 11,8% em 2006, para 18,9% em 2016, o que pode ter colaborado para o aumento da incidência de diabetes e hipertensão (BRASIL, 2017).

A crescente demanda por produtos alimentares funcionais que possuem benefícios específicos para a saúde tem sido estimulada pelos consumidores modernos, cada vez mais conscientes da relação entre a dieta e seu estado de saúde (PALZER, 2009). O desenvolvimento de produtos com baixo teor de gordura tornou-se uma alta prioridade para a indústria de alimentos, o que é um desafio especial, considerando a funcionalidade deste constituinte nos alimentos, que influencia a aparência desejável, sabor, aroma, textura e sensação na boca (LUCCA, TEPPER, 1994; PAREYT et al., 2009).

Dentre os produtos de panificação, os biscoitos tipo cookies estão entre os que se destacam por possuírem a textura, sabor e aparência como os principais atributos de qualidade e a gordura é um ingrediente muito importante porque contribui com a sensação de satisfação na boca e afeta positivamente a intensidade e percepção do sabor. Muitos cookies, e especialmente aqueles do tipo macio, contém grandes quantidades de gordura (ZOULIAS et al., 2002) que são utilizadas na forma sólida ou semissólida, predominantemente hidrogenada ou saturada, representando até 20% da massa de biscoito, o que implica um alto teor de ácidos graxos saturados (BALTSAVIAS et al., 1999).

Os substitutos de gordura são substâncias à base de carboidratos ou proteínas que podem ser usadas para imitar as propriedades funcionais e sensoriais proporcionadas pela gordura e ao mesmo tempo fornecer menor valor calórico (BATH; SHELKE; HOSENEY, 1992). Os subprodutos da indústria de frutas e vegetais podem ter um alto valor nutricional e poderiam ser usados como ingrediente alimentar devido às suas habilidades funcionais, como gelificação e ligação à água. Os procedimentos de preparação e processamento podem levar ao descarte de até um terço do produto, o que pode ser dispendioso para o fabricante e também pode causar um impacto negativo ao meio ambiente (O'SHEA; ARENDT; GALLAGHER, 2012). A casca de pitaia vermelha é um resíduo da indústria de polpas e bebidas e possui inúmeras qualidades, sendo um produto com potencial para ser utilizado em biscoitos como substituto parcial da gordura, na forma de pó ou farinha.

OBJETIVO

Avaliar a aplicação de farinha de casca de pitaia (hidratada) como substituto de gordura na formulação de biscoitos tipo cookies, através da substituição de 25, 37,5 e 50% da manteiga na formulação, para redução da quantidade de gordura no produto e o aumento do valor nutricional. Determinar os parâmetros de rendimento, diâmetro, espessura, fator de expansão, volume aparente e específico, textura e cor dos biscoitos produzidos. Determinar a composição centesimal, atividade antioxidante e aceitação do consumidor em relação aos biscoitos com melhores propriedades físicas e de massa. Determinar a composição centesimal, cor, propriedades funcionais (capacidade de retenção de água e de óleo) e atividade antioxidante da farinha de casca de pitaia.

MÉTODOS

Matérias Primas

As pitaias foram cedidas pela empresa Agrofrutas, localizada em Novo Hamburgo / RS. Das frutas, foram retiradas as polpas, que foram embaladas a vácuo e congeladas para o aproveitamento em outros trabalhos, sendo os resíduos (cascas) embalados à vácuo e congelados para serem utilizados na produção da farinha. Os demais ingredientes, utilizados para a produção dos biscoitos tipo cookies, foram adquiridos no comércio local em Porto Alegre/RS.

Produção da Farinha de Casca de Pitaia

As cascas de pitaia foram descongeladas, cortadas em pedaços pequenos (aproximadamente 1 cm^2), pesadas, espalhadas em bandejas metálicas e colocadas em estufa de secagem com circulação de ar (New Lab, NL-80-180) sob temperatura de 60°C, durante 9 horas. Após a secagem, foi analisado o rendimento do produto através do peso das cascas antes e depois da secagem e o teor de umidade residual segundo as normas descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), por secagem em estufa (De Leo, TLK 48) a 105 °C até peso constante.

As cascas secas foram transformadas em farinha de baixa granulometria (≤ 20 mesh) em moinho de facas (Solab Científica, SL-31). Foi analisado o rendimento do produto através do peso das cascas antes e depois da moagem.

Propriedades Funcionais e Tecnológicas da Farinha de Casca de Pitaia

As análises de Capacidade de Retenção de Água (CRA) e de Capacidade de Retenção de Óleo (CRO) foram realizadas através de técnica utilizada por Fernández-López *et al.* (2009). Foram adicionados 30 mL de água destilada/óleo de girassol a 1 grama de farinha de casca de pitaia, homogeneizada por 1 min em vórtex (QUIMIS, 0920-A2) e deixada em temperatura ambiente (≈ 25ºC) por 24 h. Após a centrifugação (Hitachi, CR21GIII, 3000 × *g* por 20 min), o sobrenadante foi removido e o resíduo pesado. A capacidade de retenção de água e óleo foi expressa em gramas de água/óleo por gramas de amostra seca.

Produção dos Cookies

Primeiramente, foi elaborada uma formulação para o biscoito padrão, baseada no manual de Serna-Saldivar (2012) para preparação de produtos à base de cereais. A partir da formulação do biscoito padrão foram feitas as demais formulações, que se diferenciaram apenas em relação à quantidade de gordura e à quantidade de água utilizada para hidratar a farinha de casca de pitaia adicionada em substituição à gordura. Esta quantidade de água foi primeiramente baseada nos resultados de CRA (Capacidade de Retenção de Água) da farinha, e posteriormente ajustada de acordo com as características desejadas à massa.

Os cookies foram identificados como: biscoito padrão (BP), ou seja, sem substituição de gordura e em biscoito 1 (B1), biscoito 2 (B2) e biscoito 3 (B3), produzidos com substituição de 25, 37,5 e 50% respectivamente, da quantidade de gordura do BP, por farinha de casca de pitaia hidratada. A Tabela 1 mostra a formulação de cada biscoito.

Tabela 1. Ingredientes e composições dos biscoitos padrão (BP) e com substituição de 25% (B1), 37,5% (B2) e 50% (B3) da gordura por farinha de casca de pitaia hidratada.

Ingredientes	Quantidades (g)			
	BP	B1	B2	B3
Farinha de trigo	100	100	100	100
Gotas de chocolate meio amargo**	50	50	50	50
Açúcar granulado	40	40	40	40
Manteiga sem sal	28	21	17,5	14
Açúcar mascavo	20	20	20	20
Ovos	20	20	20	20
Água	13	13	13	13
Fermento químico	2,5	2,5	2,5	2,5
Sal	0,7	0,7	0,7	0,7
Essência de amêndoas	0,7	0,7	0,7	0,7
Farinha de casca de pitaia	-	7	10,5	14
Água adicionada*	-	15,4	23,1	30,8

*Água adicionada em conjunto com a farinha de casca de pitaia, para hidratação da mesma.
**Ingrediente utilizado apenas nas formulações dos cookies utilizados para análise sensorial.

Optou-se por adicionar as gotas de chocolate meio amargo apenas aos biscoitos produzidos para a análise sensorial, para que este ingrediente não interferisse nos resultados das demais análises, uma vez que não compõe todas as partes do biscoito uniformemente.

As massas foram pesadas e assadas em pequenas porções de 24 gramas. Os biscoitos foram assados em forno turbo elétrico (Tedesco, FTT 150E) a 160°C por 8 minutos, com pré-aquecimento de 15 minutos a 160 ºC. Depois de assados, os biscoitos foram resfriados em temperatura ambiente por 1 hora e analisados.

Propriedades Físicas dos Cookies

As análises físicas foram feitas de acordo com os procedimentos descritos no método 10-50D da American Association of Cereal Chemists – AACC (AACC, 1995).

Foram utilizadas cinco unidades de uma mesma fornada para cada tipo de biscoito. As análises físicas determinaram o peso, diâmetro e espessura, avaliados antes e depois da cocção. A pesagem foi realizada em balança (Bel Engineering, Classe II) e o diâmetro e espessura foram medidos com paquímetro (Maub). O rendimento foi calculado a partir dos pesos antes e depois da cocção. O cálculo do fator de expansão foi feito pela razão entre o diâmetro e a espessura dos biscoitos. O volume aparente foi determinado pelo método de deslocamento de sementes de painço (DE MORAES et. al, 2010). O volume específico foi determinado pela razão entre o volume aparente e o peso dos biscoitos, expresso em $mL.g^{-1}$.

Análises de Textura dos Cookies

A textura dos biscoitos foi medida com o uso de um texturômetro TA.XT. plus (Stable Micro Systems, UK), através de sonda cilíndrica de alumínio com 2 mm de diâmetro, que penetrou 10 mm com velocidade de 1 $mm.s^{-1}$. A resistência à penetração, ou dureza, foi medida através da área total abaixo da força vs. a curva de tempo, que corresponde ao trabalho de penetração (N.s). As medidas foram feitas em triplicata.

Análises de Cor da Farinha de Casca de Pitaia e dos Cookies

As análises de cor dos cookies foram realizadas instrumentalmente através de colorímetro Minolta CR-400 (Japão). Os resultados foram expressos em termos de L*, luminosidade (valores de 0 a 100%), a*, vermelho ao verde (60 a -60, respectivamente) e b*, amarelo ao azul (60 a -60, respectivamente), de acordo com o sistema de cores CIELab. As medidas foram feitas com a utilização do branco padrão, dentro das mesmas condições de luz e temperatura, em triplicata para cada tipo de biscoito.

Composição Centesimal da Farinha de Casca de Pitaia e dos Cookies

As análises foram realizadas seguindo a metodologia descrita pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC,1995) (HORWITZ, 2005) para umidade, proteína (fator de conversão de 6,25), cinzas, lipídios e fibras alimentares. O teor de carboidratos disponíveis foi calculado por diferença: 100 – (umidade + cinzas + fibras + proteínas + lipídios). O valor calórico foi determinado por cálculo, em kcal, segundo a Equação (1).

Valor calórico (kcal) = (4 x proteínas + 4 x carboidratos + 9 x lipídeos) Equação (1)

Atividade Antioxidante da Farinha de Casca de Pitaia e dos Cookies

As análises de atividade antioxidante da farinha de casca de pitaia e dos cookies (padrão e com substituição de gordura em 25%) foram realizadas seguindo a metodologia descrita por Re et al. (1999) e Rufino et al. (2007) para dosagem de atividade antioxidante total por método ABTS. Os resultados do ensaio foram expressos em relação ao Trolox em termos de TEAC (capacidade antioxidante equivalente de Trolox).

Análise Sensorial dos Cookies

A análise sensorial foi realizada para o biscoito padrão e para o biscoito com substituição de gordura em 25% (ambas as formulações contendo gotas de chocolate). Um painel não treinado de 50 pessoas, 18 homens e 32 mulheres, com idades entre 19 e 55 anos, avaliaram os cookies em termos de aparência, cor, odor, textura, sabor, sabor residual e aceitação global. As amostras, codificadas com três dígitos, foram oferecidas aos avaliadores de forma monádica e aleatória em cabines individuais, sob iluminação branca. A escala de nove pontos foi utilizada para avaliação, onde 1 correspondeu a “desgostei muitíssimo” e 9 a “gostei muitíssimo”. A intenção de compra também foi avaliada. Para o cálculo do Índice de Aceitabilidade (%) de cada atributo, foi utilizada a equação (2), sendo consideradas bem aceitas as amostras com percentual de aceitação superior a 70% (MEILGAARD et al., 2007).

IA (%) = (Média de aceitação/9) x 100 Equação (2)

Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas através do teste de Tukey com 95% de significância. As análises foram realizadas por meio do software Statistica 12.0.

RESULTADOS

Produção e Propriedades Funcionais e Tecnológicas da Farinha de Casca de Pitaia

O rendimento da secagem da casca de pitaia foi de 8,4 %. O resultado da análise de umidade das cascas secas foi de 9,72%. O rendimento da moagem foi de 94,4%.

A Tabela 2 mostra os resultados da análise de Capacidade de Retenção de Água (CRA) e Capacidade de Retenção de Óleo (CRO) da farinha de casca de pitaia.

Tabela 2. Propriedades funcionais tecnológicas da farinha de casca de pitaia.

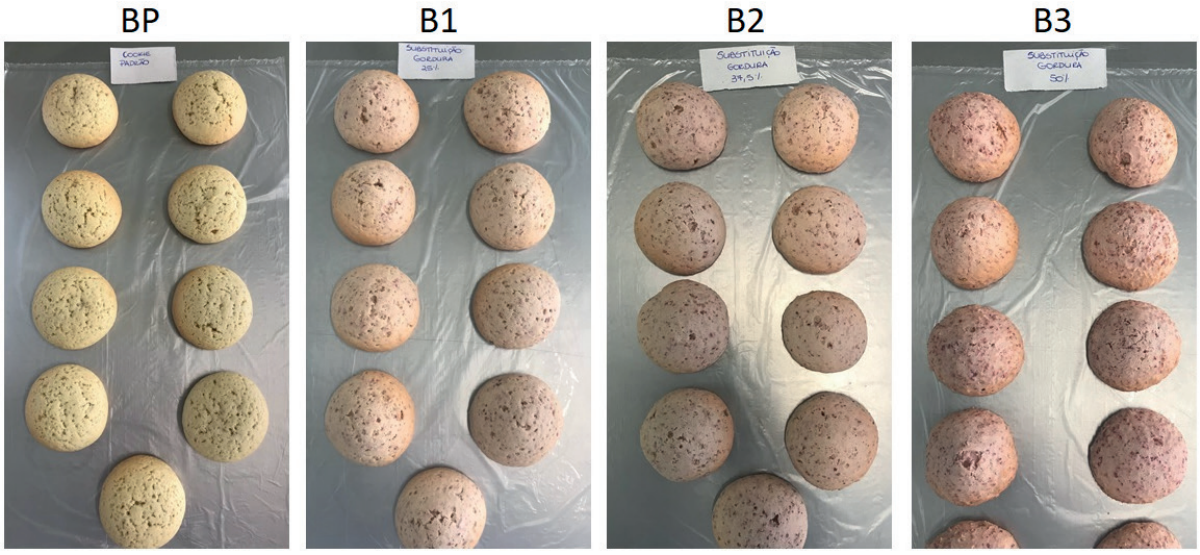
Parâmetro	Resultados
	Farinha de Casca de Pitaia
CRA (g de água / g de amostra seca)	8,16 ± 0,37
CRO (g de óleo / g de amostra seca)	2,03 ± 0,28

CRA: Capacidade de retenção de água. CRO: Capacidade de retenção de óleo. Média ± desvio padrão.

Produção, Propriedades Físicas e de Textura dos Cookies

Na Figura 1 podem ser observadas as imagens dos biscoitos prontos.

Figura 1. Biscoitos com substituição parcial de gordura através da adição de farinha de casca de pitaia vermelha: biscoito padrão (BP) e com substituição de 25% (B1); 37,5% (B2) e 50% (B3) da gordura por farinha de casca de pitaia hidratada.



A Tabela 3 apresenta os efeitos da substituição de gordura nos cookies através dos resultados da caracterização física e de textura dos mesmos.

Tabela 3. Resultados dos testes de propriedades físicas e textura do biscoito padrão (BP) e com substituição de 25% (B1), 37,5% (B2) e 50% (B3) da gordura por farinha de casca de pitaia hidratada.

Parâmetros	Resultados			
	BP	B1	B2	B3
Rendimento (%)	91,72 ± 0,01[a]	89,62 ± 0,01[b]	89,66 ± 0,01[b]	87,83 ± 0,01[c]
Aumento de Diâmetro (cm)	1,07 ± 0,01[a]	1,05 ± 0,05[a]	0,69 ± 0,05[b]	0,59 ± 0,05[b]
Aumento de Espessura (cm)	0,60 ± 0,07[b]	0,81 ± 0,02[a]	0,84 ± 0,03[a]	0,87 ± 0,04[a]
Fator de Expansão	2,45 ± 0,06[a]	2,29 ± 0,04[ab]	2,16 ± 0,07[b]	2,12 ± 0,11[b]
Volume Específico ($ml.g^{-1}$)	1,80 ± 0,13[a]	1,95 ± 0,05[a]	1,82 ± 0,05[a]	1,80 ± 0,09[a]
Dureza (kgf)	0,14 ± 1,50[a]	0,12 ± 5,50[b]	0,12 ± 1,00[ab]	0,11 ± 2,00[b]

Média ± desvio padrão. Letras diferentes em uma mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

Análises de Cor da Farinha de Casca de Pitaia e dos Cookies

Os resultados da análise de cor da farinha e das amostras de cookies se encontram na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados das análises de cor da farinha de casca de pitaia do biscoito padrão (BP) e com substituição de 25% (B1), 37,5% (B2) e 50% (B3) da gordura por farinha de casca de pitaia hidratada.

Parâmetros	Resultados				
	Farinha	BP	B1	B2	B3
L*	39,41 ± 0,18	46,21 ± 0,36[a]	39,38 ± 1,49[b]	35,50 ± 2,07[b]	37,04 ± 1,53[b]
a*	7,11 ± 0,04	2,55 ± 0,05[d]	5,68 ± 0,38[c]	7,00 ± 0,47[b]	8,41 ± 0,10[a]
b*	0,23 ± 0,05	7,69 ± 0,12[a]	5,62 ± 0,18[b]	4,72 ± 0,34[bc]	3,73 ± 0,56[c]

Média ± desvio padrão. Letras diferentes em uma mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

Composição Centesimal da Farinha e dos Cookies

A Tabela 5 mostra a composição centesimal da farinha de casca de pitaia avaliada.

Tabela 5. Composição centesimal da farinha de casca de pitaia.

Parâmetros	Farinha de Casca de Pitaia	
	(base úmida)	(base seca)
Umidade (g/100g)	9,33 ± 0,09	-
Cinzas (g/100g)	13,32 ± 0,04	14,69 ± 0,05
Proteínas (g/100g)	4,47 ± 0,16	4,92 ± 0,17
Lipídios (g/100g)	0,44 ± 0,07	0,48 ± 0,08
Fibras Alimentares (g/100g)	61,83 ± 1,43	68,19 ± 1,58
Carboidratos (g/100g)	10,75 ± 1,67	11,86 ± 1,85
Energia (kcal/100g)	64,07 ± 6,14	-

A Tabela 6 mostra a composição centesimal do biscoito padrão, em comparação com o biscoito com substituição de gordura em 25% (B1) por farinha de casca de pitaia hidratada.

Tabela 6. Composição centesimal dos biscoitos padrão (BP) e com substituição de 25% (B1) da gordura por farinha de casca de pitaia.

Parâmetros	BP		B1	
	(base úmida)	(base seca)	(base úmida)	(base seca)
Umidade (g/100g)	11,71 ± 0,92[b]		17,13 ± 0,56[a]	
Cinzas (g/100g)	1,33 ± 0,03[b]	1,50 ± 0,03	1,69 ± 0,03[a]	2,04 ± 0,04
Proteínas (g/100g)	6,39 ± 0,01[a]	7,24 ± 0,01	6,27 ± 0,16[a]	7,57 ± 0,19
Lipídios (g/100g)	8,35 ± 0,01[a]	9,45 ± 0,01	6,33 ± 0,18[b]	7,63 ± 0,22
Fibras Alimentares (g/100g)	4,42 ± 0,19[b]	5,00 ± 0,21	7,94 ± 0,45[a]	9,59 ± 0,55
Carboidratos (g/100g)	68,49 ± 0,44[a]	77,57 ± 0,50	60,11 ± 0,70[a]	72,54 ± 0,85
Energia (kcal/100g)	374,63 ± 1,70[a]		323,47 ± 3,28[b]	

Média ± desvio padrão. Letras diferentes em uma mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

Atividade Antioxidante da Farinha de Casca de Pitaia e dos Cookies

Os resultados da análise de atividade antioxidante estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Atividade antioxidante ao trolox das amostras de farinha de casca de pitaia e dos biscoitos padrão (BP) e com substituição de 25% (B1) da gordura por farinha de casca de pitaia hidratada.

Amostra	Atividade Antioxidante (μM Trolox/g amostra) (base úmida)	Atividade Antioxidante (μM Trolox/g amostra) (base seca)
Farinha de Casca de Pitaia	18,14 ± 5,06	20,01 ± 5,06
BP	1,08 ± 0,19[b]	1,22 ± 0,19[b]
B1	2,1 ± 0,61[a]	2,59 ± 0,61[a]

Média ± desvio padrão. Letras diferentes em uma mesma coluna apresentam diferenças significativas (p<0,05).

Análise Sensorial dos Cookies

Na Tabela 8 podem-se observar os resultados das avaliações sensoriais realizadas.

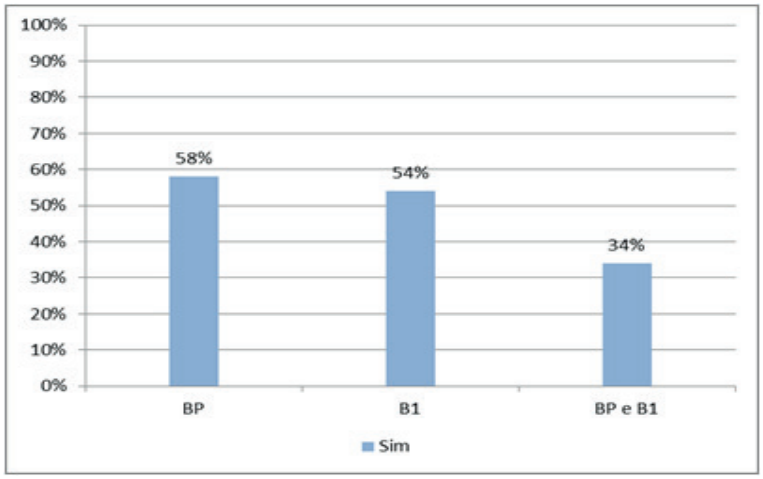
Tabela 8. Atributos sensoriais dos biscoitos padrão (BP) e com substituição de 25% (B1) da gordura por farinha de casca de pitaia hidratada e aceitabilidade.

Atributos Sensoriais	Notas		Aceitabilidade (%)	
	BP	B1	BP	B1
Aparência	7,42 ± 0,92[a]	7,04 ± 1,12[b]	82	78
Cor	7,36 ± 0,87[a]	7,32 ± 1,12[a]	82	81
Odor	7,26 ± 1,07[a]	7,32 ± 1,07[a]	81	81
Textura	7,12 ± 1,32[a]	6,84 ± 1,42[a]	79	76
Sabor	7,54 ± 1,15[a]	7,56 ± 1,15[a]	84	84
Sabor Residual	7,38 ± 1,10[a]	7,14 ± 1,20[a]	82	79
Aceitação Global	7,54 ± 0,87[a]	7,36 ± 1,12[a]	84	82

Média ± desvio padrão. Letras diferentes em uma mesma linha apresentam diferenças significativas (p<0,05).

Na Figura 2 pode-se observar os resultados de intenção de compra dos avaliadores.

Figura 2. Intenção de compra dos avaliadores em relação aos biscoitos padrão (BP) e com substituição de 25% (B1) da gordura por farinha de casca de pitaia hidratada.



DISCUSSÃO

Produção e Propriedades Funcionais e Tecnológicas da Farinha de Casca de Pitaia

O baixo rendimento da secagem da casca de pitaia se justifica pelo alto teor de umidade da casca *in natura*, que pode variar de 89,46 a 92,65% (ABREU et al., 2012; JAMILAH et al., 2011). O valor de umidade das cascas secas é considerado adequado para a produção de farinha. As perdas da moagem das cascas de pitaia ocorreram principalmente no moinho de facas.

A CRA está diretamente relacionada com o teor de fibras do alimento porque mede a quantidade máxima de água absorvida que é retida pela mesma. Além disso, a CRA é uma propriedade importante no preparo de produtos de panificação, uma vez que é necessária uma boa retenção de água para obter um produto macio e úmido por mais tempo (GIUNTINI et al., 2003).

Souza et al. (2008) estudaram a composição centesimal e as propriedades funcionais tecnológicas da farinha da casca do maracujá e encontraram valor de CRA de 4,8 ± 0,18 g de água/g de amostra seca, maior do que aqueles encontrados para as outras fontes de fibras, como farelo da casca de milho (2,32 ± 0,2 g de água/g de amostra seca), farelo da casca de trigo (2,48 ± 0,27 g de água/g de amostra seca) e farelo da casca de soja (1,27 ± 0,12 g de água/g de amostra seca). O resultado obtido deste parâmetro para a farinha de casca de pitaia foi maior que todas as fontes estudadas por Souza et al. (2008). Esse fator propicia o preparo de produtos panificados com boa retenção de água, mais macios e úmidos por mais tempo.

A CRO pode influenciar a ordem de adição dos ingredientes secos na mistura durante o processamento de alimentos e altos valores são desejáveis em produtos cárneos

e produtos emulsionados para uma melhor sensação na boca (BOBBIO, 1995). Assim, a farinha de casca de pitaia pode ter contribuído positivamente com a textura dos biscoitos devido a este parâmetro.

Produção, Propriedades Físicas e de Textura dos Cookies

A água adicionada para a hidratação da farinha de casca de pitaia, quando utilizada de acordo com o valor total de CRA (8,16 g de água/g de amostra), causou hidratação excessiva na massa teste. Assim, a quantidade de água foi reduzida para apenas hidratar superficialmente toda a farinha (2,2 g de água/g de amostra).

A formulação do biscoito padrão apresentou a característica de textura de massa ideal para a manipulação e moldagem no processamento, sendo firme, lisa e não aderente às mãos e aos utensílios. A massa do biscoito com substituição de gordura em 25% foi a que apresentou esta característica mais semelhante à massa do biscoito padrão. A massa do biscoito com substituição de gordura em 50% gerou dificuldades para manipulação e moldagem, por aderir às mãos e aos utensílios.

Segundo os resultados obtidos da caracterização física e de textura, foi observada uma diminuição do rendimento dos biscoitos com o aumento da substituição da gordura. O biscoito padrão apresentou o maior rendimento, seguido por B1 e B2, que não diferiram estatisticamente entre si, e por B3, que apresentou o menor valor. A adição de farinha de casca de pitaia hidratada como substituto da gordura nas formulações B1, B2 e B3, fez com que estas formulações tivessem um aumento gradual da quantidade de água, que se evaporou, durante a cocção, o que explica o maior rendimento de BP em relação aos demais biscoitos.

Os biscoitos BP e B1 apresentaram o maior aumento de diâmetro, não diferindo significativamente entre si, o que sugere que uma substituição de gordura por farinha de casca de pitaia (hidratada) de até 25% não altera este parâmetro nos biscoitos. Na substituição de gordura em 37,5% (B2), o aumento de diâmetro foi menor, sendo que B2 e B3 não diferiram significativamente entre si. O aumento na quantidade de gordura em biscoitos é geralmente associado a uma maior taxa de espalhamento (aumento de diâmetro) durante o assamento, o que provavelmente pode estar relacionado ao aumento da mobilidade do sistema quando a gordura derrete. Altos níveis de gordura aumentam a fase oleosa do sistema, o que aumenta a mobilidade do mesmo e, como consequência, resulta em uma taxa de espalhamento maior durante o assamento (PAREYT, 2009).

Os biscoitos com redução de gordura (B1, B2 e B3) não diferiram significativamente entre si quanto ao aumento de espessura, apresentando valores 35% mais altos que os valores de BP. O biscoito padrão apresentou o menor aumento de espessura, o que provavelmente foi consequência do seu maior diâmetro, relatado acima, mesmo que este não

tenha diferido significativamente em relação a B1. Para Pareyt et al. (2009) e Hadnadev et al. (2015), o aumento do teor de gordura em biscoitos correlacionou-se com o aumento do diâmetro e, como consequência, com a diminuição da espessura destes.

Em relação ao fator de expansão dos biscoitos, pode-se observar pequena influência da substituição de gordura por farinha de casca de pitaia, sendo significativa a diferença somente a partir de 37,5% de substituição da gordura. Segundo Moretto e Fett (1999), a gordura contribui para a maior expansão do biscoito, o que explica o menor grau de expansão quando níveis maiores de gordura foram substituídos por farinha de casca de pitaia. Os valores de volume específico, que expressa a relação entre o volume aparente e o peso do biscoito assado, não apresentaram diferença significativa entre si, porque, em geral, ocorreu uma compensação dos valores nas diferentes amostras, sendo que a diminuição do peso em um biscoito foi acompanhada por uma diminuição do seu volume aparente, ou o aumento do peso acompanhado pelo aumento do volume aparente.

Em relação à dureza, observou-se diferença significativa nos biscoitos com substituição de gordura em relação ao biscoito padrão. Os biscoitos com adição de farinha de casca de pitaia apresentaram maior maciez (menor dureza) quando comparados ao padrão. Conforme descrito por Mamat e Hill (2014), as gorduras atuam como um lubrificante durante a mistura dos ingredientes, além de impedirem a formação da rede de glúten na massa. Possivelmente a farinha de casca de pitaia hidratada permitiu uma maior fluidez da massa dos cookies do que a gordura, levando a uma menor dureza da massa. De forma similar, Giarnetti et al. (2015), ao avaliarem a substituição de 100% da gordura (manteiga) de cookies por um gel feito com emulsão à base de inulina e azeite extra virgem, observaram uma diminuição significativa na dureza, entretanto, quando 50% da manteiga foi substituída, não houve diferença significativa na dureza dos cookies em relação ao biscoito controle. Adicionalmente, Rodríguez-Garcia et al. (2013), ao substituírem gradualmente a gordura de biscoitos com quantidades crescentes de inulina, observaram um aumento da dureza com o aumento das quantidades de gordura substituídas, entretanto, no nível mais alto de substituição (40%), uma diminuição deste parâmetro foi observada. Segundo os autores, o fato ocorreu devido à insuficiência de gordura que, por sua vez, ocasionou uma escassa lubrificação da matriz e o baixo desenvolvimento da estrutura da mesma. Efeito semelhante também pode ter ocorrido pela substituição da manteiga por farinha de casca de pitaia hidratada, visto que BP continha 28% de gordura (base farinha), o que representa uma menor quantidade de gordura comparativamente aos cookies em geral, que fica entre 30 a 45% (ZOULIAS et al., 2002; LAGUNA et al., 2014; GIARNETTI et al., 2015). Além disso, a maior umidade da massa nos biscoitos com substituição de gordura, devido à hidratação da farinha, poderia ter contribuído para a menor dureza nos cookies B1, B2 e B3.

Análises de Cor da Farinha de Casca de Pitaia e dos Cookies

A casca da pitaia possui uma cor vermelho-púrpura que aumenta o interesse no seu valor econômico como ingrediente alimentar. A cor da farinha é um dos atributos mais óbvios da sua qualidade como corante natural. As betalaínas responsáveis pela cor vermelha da pitaia correspondem quase que exclusivamente a betacianinas (TZE et al., 2012). Sengkhamparn et al. (2013) mediu a cor de amostras de casca de pitaia vermelha in natura e em pó, secas em diferentes temperaturas. Para a casca de pitaia *in natura*, os valores obtidos para L*, a* e b* foram de 81.89 ± 0.23, -21.74 ± 0.31, -0.33 ± 0.26, respectivamente. Os valores de L*, a* e b* relatados para a casca de pitaia em pó, seca a uma temperatura de 60°C, foram de 84.69 ± 0.12, -17.12 ± 0.13 e 0.46 ± 0.17, respectivamente. Pode-se observar que estes valores de cor para a casca de pitaia em pó se encontram bem diferentes dos valores obtidos no presente estudo, o que pode estar relacionado ao diferente grau de maturação da fruta, ao congelamento da casca antes da secagem, ou ainda a uma degradação de pigmentos pelo contato com a luz e temperatura no processo de secagem. Sendo assim, uma análise de cor da casca in natura antes e depois destes eventos poderia ter sido feita para melhor avaliação dos resultados.

Os biscoitos com substituição de gordura (B1, B2 e B3) não diferiram significativamente entre si em relação à luminosidade (L*), porém apresentaram menores valores deste parâmetro quando comparados ao biscoito padrão, sendo estes muito semelhantes aos da farinha de casca de pitaia a partir da substituição em 25%. Isto indica que a adição deste substituto altera a luminosidade dos cookies, diminuindo-a. Este comportamento está de acordo com o esperado ao se observar os valores de luminosidade do substituto, que são mais baixos que os valores do biscoito padrão.

Nos estudos de Hadnadev et al. (2015), as medidas de cor da superfície dos biscoitos também revelaram que os valores de luminosidade (L*) diminuíram para todas as amostras reduzidas de gordura, em comparação com a amostra controle, implicando sua cor mais escura. O motivo desse comportamento pode ser o menor teor de gordura que atua como um plastificante que cobre todos os ingredientes em pó (farinha, açúcar, etc.), o que resultou em maior quantidade de açúcar envolvido na reação de Maillard. O fato de os cookies com substituição de gordura não terem apresentado diferença de luminosidade entre si pode estar relacionado à presença do substituto, que tem boa capacidade de ligação com a água, o que, portanto, causou menor disponibilidade desta e, consequentemente, menor mobilidade das espécies participantes das reações de Maillard (HADNADEV et al., 2015).

Os valores de a* (intensidade da cor vermelha) se mostraram crescentes quanto maior a substituição de gordura nos cookies e todos os valores apresentaram diferença significativa entre si. O biscoito padrão obteve o menor valor e o biscoito B3 o maior valor. O aumento

dos parâmetros a* e diminuição dos parâmetros L* também são indicadores do progresso do escurecimento (LARA et al., 2011). Além disso, este comportamento era esperado pela adição gradativa de farinha de casca de pitaia como substituto da gordura nas formulações, sendo que esta possui valores maiores do parâmetro a* em relação ao biscoito padrão. Consequentemente, observa-se a diminuição dos valores de b* (intensidade da cor amarela), que decresceram com o aumento da adição do substituto. A alteração de cor nos biscoitos pode ser favorável uma vez que o consumidor pode associar a cor à presença de corantes naturais e compostos bioativos benéficos à saúde.

No seguimento das análises dos biscoitos, a composição centesimal, capacidade antioxidante e análise sensorial foram realizadas apenas com o biscoito B1 em comparação ao padrão, devido ao fato deste apresentar uma massa bastante semelhante à padrão, sendo apta a uma linha de produção industrial. Além disso, o biscoito B1 apresentou os melhores resultados em relação ao diâmetro e fator de expansão.

Composição Centesimal da Farinha e dos Cookies

A umidade obteve um valor de 9,33 % (g/100g), que estava de acordo com o que preconiza a legislação (ANVISA, 2005), que estabelece umidade máxima 15,0 % (g/100 g) para farinhas. Os demais resultados estão de acordo com Abreu et al. (2012), que avaliaram a composição química da casca de pitaia vermelha e branca e observaram que estas apresentaram baixo teor de proteínas e lipídios, altos teores de fibra alimentar total, além de baixo valor de energia.

Em geral, as frutas e suas cascas possuem teores de fibras solúveis maiores do que os farelos de cereais e de leguminosas (JORGE; MONTEIRO, 2005). Em seus estudos sobre a farinha de casca de maracujá, Souza et al. (2008) também observaram um alto teor de fibra alimentar de 66,37 ± 0,71 g/100g em base úmida (70,67 ± 0,71 g/100g base seca). Seus valores para cinzas, lipídios, proteínas, carboidratos e valor calórico foram de 8,13 ± 0,53 g/100g base úmida (8,66 ± 0,53 g/100g base seca), 1,64 ± 0,08 g/100g base úmida (1,75 ± 0,08 g/100g base seca), 11,76 ± 1,17 g/100g base úmida (12,52 ± 1,17 g/100g base seca), 72,38 g/100g base úmida (77,07 g/100g base seca) e 85,84 kcal/100g, respectivamente.

Não foram observadas diferenças significativas entre as amostras para os valores de proteínas e carboidratos. O biscoito B1 apresentou maiores valores de umidade, cinzas e fibras alimentares totais em relação ao biscoito BP. A umidade do biscoito padrão demonstrou valor de acordo com o que preconiza a legislação (ANVISA, 1978), que estabelece umidade máxima 14,0 % (g/100 g) para biscoitos e bolachas, enquanto que a umidade do biscoito B1 obteve um valor acima deste limite. Este fato pode estar relacionado ao uso de farinha de casca de pitaia hidratada para a substituição da gordura, o que aumentou a

umidade da massa, não sendo o tempo de forneamento aplicado a estes cookies suficiente para a evaporação ideal da mesma.

O aumento significativo (aproximadamente 27%) no teor de cinzas pode ser explicado pelo fato de a farinha possuir um valor relativamente alto deste componente, o que sugere elevado conteúdo de minerais presentes. Da mesma forma, o valor de fibras alimentares totais apresentou um aumento de aproximadamente 79% em relação ao biscoito padrão. De acordo com a legislação brasileira, este produto poderia utilizar o apelo de "fonte de fibras alimentares" (mínimo de 3 g fibras/100 g, em sólidos) ou "alto teor de fibras alimentares" (mínimo de 6 g fibras/100 g, em sólidos) em sua embalagem, no caso de comercialização (ANVISA, 1998).

Como esperado, o biscoito B1 apresentou menores valores de lipídios em relação ao biscoito padrão, com redução deste componente em aproximadamente 31%. Consequentemente, o biscoito com substituição de gordura apresentou menor valor calórico em relação ao biscoito padrão. De acordo com a legislação brasileira, os cookies com redução de gordura podem ser rotulados como "light" ou "reduzido em calorias" em comparação com os cookies de controle (ANVISA, 1998).

O valor calórico dos cookies seria superior no caso da adição das gotas de chocolate meio amargo na formulação. O ingrediente utilizado na produção dos cookies para a análise sensorial possui um valor calórico aproximado de 544 kcal/100 g.

Atividade Antioxidante da Farinha de Casca de Pitaia e dos Cookies

Pode-se observar que a adição de farinha de casca de pitaia ao biscoito B1 aumentou significativamente a capacidade antioxidante deste em relação ao padrão, devido ao teor elevado de compostos bioativos presentes na farinha casca de pitaia.

Vaillant et al. (2005) estudaram as propriedades antioxidantes de três cultivares de pitaia vermelho-púrpura (*Hylocereus sp.*). A capacidade antioxidante de cada amostra foi medida pelo método de capacidade de absorção de radical de oxigênio (ORAC) e os resultados foram expressos em µmol Trolox / g de extrato da fruta. As capacidades antioxidantes totais dos sucos preparados a partir dos três cultivares de pitaia variaram de (8,8 a 11,3) µmol Trolox / g de polpa fresca sem sementes. Estes valores são quase o dobro do medido pelo mesmo método para suco comercial de maçã e suco de uva branca e são da mesma magnitude que a beterraba e o morango. Descobertas recentes classificam a beterraba entre os 10 vegetais mais antioxidantes, o que significa que o suco de pitaia vermelha pode ser considerada como um potente antioxidante (VAILLANT et al., 2005). A farinha de casca de pitaia apresentou valores de atividade antioxidante ainda mais elevados do que os do suco da fruta.

É válido salientar que, devido à complexa reatividade dos fitoquímicos, as atividades antioxidantes de alimentos e extratos alimentares não devem ser avaliadas por um único

método e pelo menos dois tipos de teste são recomendados para a determinação da atividade antioxidante para estabelecer autenticidade (SCHLESIER et al., 2002).

Análise Sensorial dos Cookies

De acordo com os resultados da análise sensorial, observou-se que os biscoitos apresentaram diferença significativa apenas no atributo de aparência, na qual o biscoito padrão obteve a maior nota. Isto pode ter ocorrido devido ao fato de os biscoitos com substituição de gordura apresentarem coloração rosa, o que pode ter interferido na aprovação dos provadores, já que difere da cor dos cookies tradicionais. Esta diferença, entretanto, não afetou a aceitação global, que não diferiu significantemente entre as amostras. Os demais atributos não apresentaram diferenças significativas entre os cookies. De forma geral, a média de aceitação dos avaliadores para os atributos, na escala hedônica, foi entre "gostei moderadamente" e "gostei muito".

Seis dos avaliadores fizeram comentários na ficha de avaliação sobre a textura dos biscoitos, dizendo que esta poderia ser mais crocante, enquanto outro avaliador comentou que a aparência do biscoito B1 lembrava um produto integral, o que o agradava bastante. As críticas em relação à textura podem estar relacionadas ao maior teor de umidade dos cookies, especialmente daqueles com substituição de gordura por farinha de casca de pitaia hidratada. O presente estudo visou avaliar biscoitos do tipo macio, entretanto esta característica chamou a atenção de alguns consumidores, visto que estes estão acostumados aos produtos comerciais disponíveis, que são mais secos e mais assados. Mesmo assim, os cookies tiveram boa aceitação global e apresentaram índices de aceitabilidade superiores a 70%.

Trabalhos anteriores também obtiveram pontuações aceitáveis para biscoitos com baixo teor de gordura. Em seus estudos de substituição de gordura em cookies por emulsões contendo 50 e 70% de óleo, Hadnadev et al. (2015) observou que todos os cookies foram sensorialmente aceitos, e os de controle obtiveram as pontuações mais altas, enquanto o aumento na redução da gordura induziu a diminuição na aceitação geral dos cookies. No entanto, a distribuição da resposta (desvios padrão) sugeriu que os cookies com a maior redução de gordura expressavam uma maior amplitude de pontuação em comparação com o controle. Isso pode estar relacionado a diferentes preferências sensoriais dos avaliadores para este tipo de produtos.

Em relação à intenção de compra (Figura 2), 58% dos avaliadores afirmaram que comprariam o biscoito BP enquanto 54% afirmaram que comprariam o biscoito B1, sendo que 34% dos avaliadores afirmaram que comprariam os dois biscoitos. Portanto, evidenciou-se

que mais da metade dos avaliadores comprariam o biscoito com redução de gordura caso este estivesse comercialmente disponível.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados deste estudo, pode-se concluir que existe o potencial para a utilização da farinha de casca de pitaia no enriquecimento de produtos, como biscoitos, como uma alternativa para reduzir o teor de gordura destes alimentos, aumentar sua capacidade antioxidante e melhorar seu valor nutritivo. Uma substituição da gordura em até 25% manteve a maior parte das propriedades estruturais e sensoriais dos cookies, além de proporcionar a elaboração de cookies "light" com alto teor de fibras. A utilização da casca de pitaia para este fim contribui também para a redução do desperdício de subprodutos da indústria alimentícia.

REFERÊNCIAS

1. ABREU, W. C. et al. Physicochemical characteristics and total antioxidant activity of red and white pitaya. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 71, n. 4, p. 656-661, 2012.
2. AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS – AACC. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 9. Ed. Saint Paul: AACC, 1995. v. 2.
3. BALTSAVIAS, A.; JURGENS, A.; VAN VLIET, T. Fracture properties of short-dough biscuits: effect of composition. **Journal of Cereal Science**, v. 29, n. 3, p. 235-244, 1999.
4. BRASIL, ANVISA. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução–CNNPA nº 12, de 1978. **Diário Oficial da União**.
5. BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Resolução RDC n. 263, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 23 set. 2005. Seção 1, p.368-369.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria SVS nº 27 de 13 de janeiro de 1998. Regulamento técnico referente à informação nutricional complementar. Disponível em: . Acesso em BRASIL. http://www.brasil.gov.br/saude/2017/04/obesidade-cresce-60-em-dez-anos-no-brasil <acesso em: 05 dez 2017>
7. BATH, D. E.; SHELKE, K.; HOSENEY, R. C. Fat replacers in high-ratio layer cakes. **Cereal foods world (USA)**, 1992.
8. BOBBIO, FO BOBBIO. PA Introdução a química de alimentos, 2. **São Paulo**, 1995.
9. DE MORAES, K. S. et al. Avaliação tecnológica de biscoitos tipo cookie com variações nos teores de lipídio e de açúcar. Ciênc. Tecnol. Aliment, v. 30, n. Supl 1, p. 233-242, 2010.

10. European Food Safety Agency. **Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol**. European Food Safety Agency Journal, 8 (2010), pp. 1461-1568

11. FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. et al. Storage stability of a high dietary fibre powder from orange by-products. **International journal of food science & technology**, v. 44, n. 4, p. 748-756, 2009.

12. GIARNETTI, M. et al. Fat replacement in shortbread cookies using an emulsion filled gel based on inulin and extra virgin olive oil. **LWT-Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 339-345, 2015.

13. GIUNTINI, E. B.; LAJOLO, F. M.; DE MENEZES, E. W. Potencial de fibra alimentar em países ibero-americanos: alimentos, produtos e resíduos. **Archivos latinoamericanos de nutrición**, v. 53, n. 1, p. 14-20, 2003.

14. HADNAĐEV, T. D. et al. Functionality of OSA starch stabilized emulsions as fat replacers in cookies. **Journal of Food Engineering**, v. 167, p. 133-138, 2015.

15. HORWITZ, W.; LATIMER, G. W. AOAC International. Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. Gaithersburg, MD: AOAC International, 2005.

16. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020. Edição Digital. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial_2008.pdf>. Acesso em: 11 out. 2017.

17. JAMILAH, B. et al. Physico-chemical characteristics of red pitaya (Hylocereus polyrhizus) peel. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 1, 2011.

18. JORGE, J. S.; MONTEIRO, J. B. R. O efeito das fibras alimentares na ingestão, digestão e absorção dos nutrientes. **Nutrição Brasil**, v. 4, n. 4, p. 218-229, 2005.

19. LAGUNA, L. et al. HPMC and inulin as fat replacers in biscuits: Sensory and instrumental evaluation. **LWT-Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 494-501, 2014.

20. LARA, E. et al. Structural and physical modifications of corn biscuits during baking process. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, n. 3, p. 622-630, 2011.

21. LUCCA, P. A.; TEPPER, B. J. Fat replacers and the functionality of fat in foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 5, n. 1, p. 12-19, 1994.

22. MAMAT, H.; HILL, S. E. Effect of fat types on the structural and textural properties of dough and semi-sweet biscuit. **Journal of food science and technology**, v. 51, n. 9, p. 1998-2005, 2014.

23. MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Overall difference tests: does a sensory difference exist between samples. **Sensory evaluation techniques**, v. 4, p. 63-104, 2007.

24. MORETTO, E.; FETT, R. **Processamento e análise de biscoitos**. Livraria Varela, 1999.

25. O'SHEA, N.; ARENDT, E. K.; GALLAGHER, E. Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 16, p. 1-10, 2012.

26. PALZER, S. Food structures for nutrition, health and wellness. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 5, p. 194-200, 2009.

27. PAREYT, B. et al. The role of sugar and fat in sugar-snap cookies: Structural and textural properties. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 3, p. 400-408, 2009.

28. RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, v. 26, n. 9, p. 1231-1237, 1999.

29. RODRÍGUEZ-GARCÍA, J. et al. Effect of fat replacement by inulin on textural and structural properties of short dough biscuits. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 10, p. 2739-2750, 2013.

30. RUFINO, M. S. M. et al. Determinação da atividade antioxidante totalem frutas pela captura do radical livre ABTS. **Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007b. 4p.(Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 128)**.

31. SCHLESIER, K. et al. Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. **Free radical research**, v. 36, n. 2, p. 177-187, 2002.

32. SERNA-SALDIVAR, S. O. Cereal grains: laboratory reference and procedures manual. CRC Press, 2012.

33. SENGKHAMPARN, N. et al. Effects of blanching and drying on fiber rich powder from pitaya (Hylocereus undatus) peel. **International Food Research Journal**, v. 20, n. 4, 2013.

34. SOUZA, M. W.S.; FERREIRA, T. B.O.; VIEIRA, I. F.R. Composição centesimal e propriedades funcionais tecnológicas da farinha da casca do maracujá. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 19, n. 1, p. 33-36, 2008.

35. TZE, N. L. et al. Physicochemical and nutritional properties of spray-dried pitaya fruit powder as natural colorant. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 675-682, 2012.

36. VAILLANT, F. et al. Colorant and antioxidant properties of red-purple pitahaya (Hylocereus sp.). **Fruits**, v. 60, n. 1, p. 3-12, 2005.

37. ZOULIAS, E. I.; OREOPOULOU, V.; KOUNALAKI, E. Effect of fat and sugar replacement on cookie properties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, n. 14, p. 1637-1644, 2002.

38. ZOULIAS, E. I.; OREOPOULOU, V.; TZIA, C. Textural properties of low-fat cookies containing carbohydrate-or protein-based fat replacers. **Journal of Food Engineering**, v. 55, n. 4, p. 337-342, 2002.

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

Ácidos Graxos: 71, 138, 143, 144, 145, 147, 188, 194, 195, 260, 261, 262, 264, 265, 266, 268, 269, 271, 272, 290, 296, 297, 298, 301, 302, 337, 338, 339, 340, 341, 357, 360, 361, 366, 370, 371, 372, 460, 485

Agentes Ligantes: 14

Alimentos Revestidos: 454

Análise Sensorial: 133, 136

Análises Físico: 87, 154, 168, 384, 385, 386, 388, 389, 392, 472

Annona Squamosa: 105, 260, 261, 262, 271, 272, 273

Antioxidante: 180, 489, 492, 498

Antioxidantes Naturais: 56

Aproveitamento de Coproduto: 107

Atividade Antimicrobiana: 92, 98, 101, 229

Atividade Antioxidante: 71, 99, 101, 103, 105, 186, 192, 275, 280, 281, 492

Aves: 122, 124, 129

B

Barra de Cereais: 14

Batata: 88, 89, 90

Batata Doce: 89

Beterraba: 133

Bioactive: 104, 199, 257, 282, 342

C

Café: 78

Capacidade Antioxidante: 62, 66, 103, 196, 278

Caprine Cheeses: 410

Características Nutricionais: 92

Caracterização Físico: 7, 29, 73, 166, 176, 178, 272, 376

Chia: 16, 357, 363, 369, 370, 371, 372, 373, 375

Chlorogenic Acids: 213, 214, 450

Clarificação: 284

Complexo Proteína: 56

Compostos Bioativos: 107

Compostos Fenólicos: 8, 61, 64, 106, 113, 114, 120, 180, 182, 185, 189, 190, 195, 275, 279, 280

Conservação: 54, 90, 105, 319

Cor: 18, 21, 140, 170, 463, 468, 473, 474, 488, 491, 492, 496

Cromatografia: 122, 265, 268

Custos: 133, 139

D

Dendê: 284, 292

Dente de Leão: 92, 100

Doença Celíaca: 107

Dumas: 396, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408

E

Empanamento: 465

Emulsões: 9, 233, 234

Emulsões Água em Água: 9, 233

Enzimas Amilolíticas: 378

Estabilidade Térmica: 260, 330

Ewe Cheese: 410

Extração Aquosa: 56, 71

F

Fenólicos: 77, 78, 171

Fermentação: 45, 378, 381, 384

Fermentação Alcoólica: 378, 384

Fibras: 78, 100, 138, 180, 184, 189, 484, 491, 492

Frangos de Corte: 124

G

Goma: 14, 16, 22

Goma Xantana: 14, 16

H

Hardness: 407, 410, 415

Hidrocoloide: 107

Hidrolases: 56

Hidrólise do Amido: 378, 388

Hipolipidêmico: 180

Hplc: 479

I

Ilex Paraguariensis: 203, 204, 213, 214, 215, 353, 442, 445

Inajá (Maximilianamaripa (Aubl: 295, 303, 304

J

Jambu: 275

K

Kjeldahl: 61, 95, 396, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 407, 408

L

Legislação: 122, 169

M

Mandioca: 378, 393

Mel de Abelha: 166, 176

Metals: 42, 43

O

Óleo de Pequi: 304, 337

Óleo Vegetal de Inajá: 295, 297

P

Parâmetros: 10, 78, 169, 171, 287, 288, 321, 325, 372, 387, 474, 491, 492

Pectinase: 323, 333, 335

Perfil Descritivo Quantitativo: 468, 475

Peroxidase: 45, 46, 47, 50, 52, 54

Phenolic Compounds: 199, 200, 201, 213, 452

Pitaia: 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 496, 498

Plantas Alimentícias: 92, 104

Polifenóis Totais: 341, 468, 472, 474

Pós: 5, 28, 53, 71, 230, 231, 281, 292, 318, 374, 392, 503

Potencial Antioxidante: 92, 104

Processo: 68, 125, 287, 367

Psyllium: 14, 16, 19, 20, 21, 27

Q

Qualidade: 21, 82, 90, 103, 120, 149, 164, 166, 176, 320, 344, 371, 405, 456, 480

Qualidade e Autenticidade: 166

Quantificação de Proteínas: 11, 395, 401

Quantification: 213, 441

Química: 27, 28, 52, 69, 77, 78, 82, 105, 136, 146, 164, 177, 231, 271, 295, 297, 304, 374, 450

R

Resíduo: 366, 393

S

Seiva: 284, 287, 288

Sistemas de Cobertura: 457, 466

Spices: 33, 43

Spreadability: 410, 416

Subprodutos da uva: 180

T

Taninos: 78, 79

Tea: 201, 216, 445

Temperatura: 231

Theobroma Cacao: 7, 44, 45, 46, 52, 53, 54

Thermaculture: 468, 482

V

Viscoelastic Behavior: 410

Viscous Modulus: 410

Vitis Vinifera: 183, 199, 200, 468, 469, 479, 480, 481

X

Xarope: 284, 288

Y

Yerba Mate: 204, 205, 209, 213, 214, 215, 445

follow us

www.editoracientifica.org contato@editoracientifica.org

ISBN 978-658719659-6

VOLUME

2

editora científica