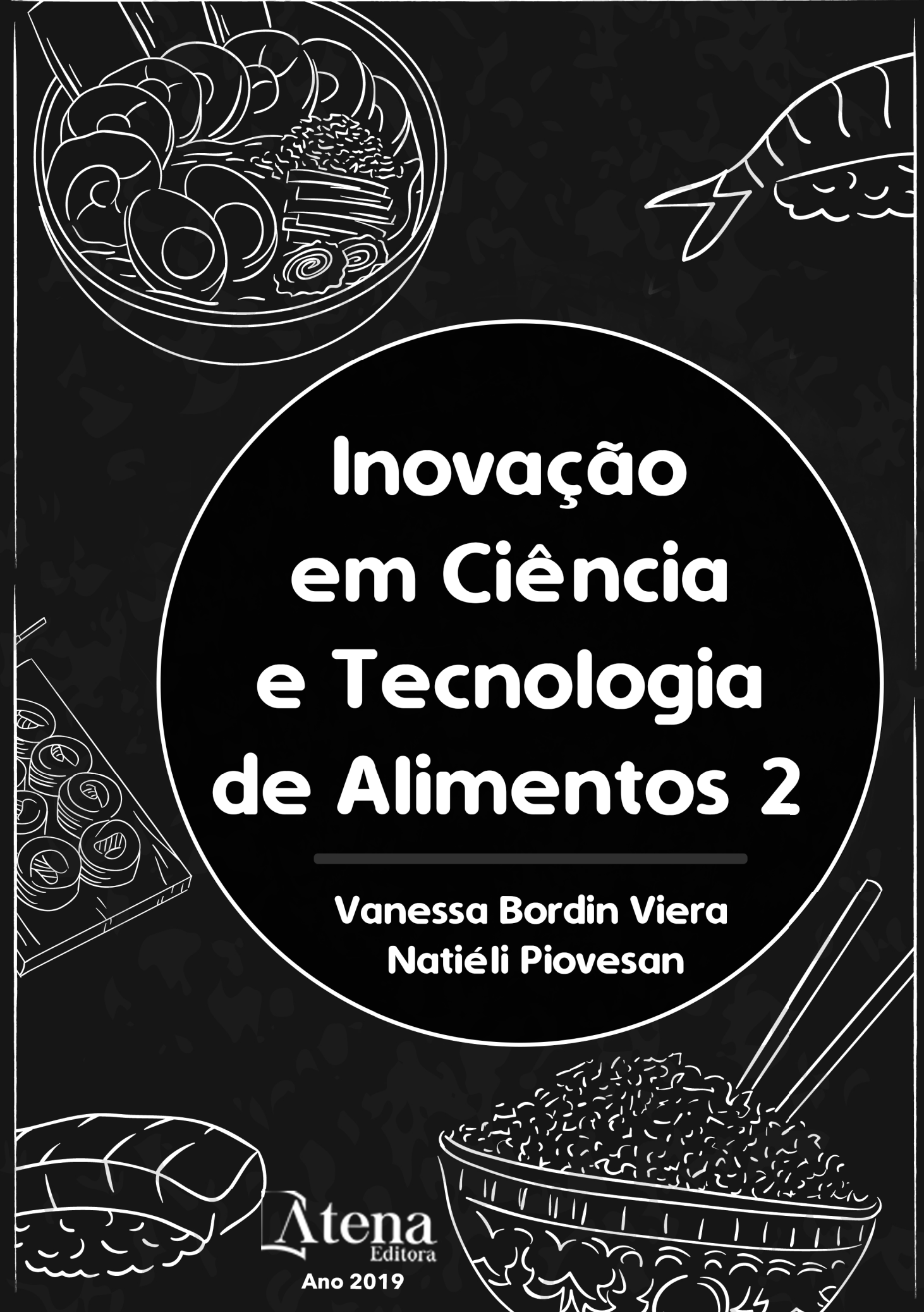


Inovação em Ciência e Tecnologia de Alimentos 2

Vanessa Bordin Viera
Natiéli Piovesan

Atena
Editora
Ano 2019



Inovação em Ciência e Tecnologia de Alimentos 2

**Vanessa Bordin Viera
Natiéli Piovesan**

Atena
Editora
Ano 2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Chefe: Prof^a Dr^a Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Natália Sandrini
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores



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

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

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof^a Dr^a Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Faria – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof^a Dr^a Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie di Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof^a Dr^a Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof^a Dr^a Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Prof^a Dr^a Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof^a Dr^a Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^a Dr^a Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof^a Dr^a Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof^a Dr^a Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^a Dr^a Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
158	<p>Inovação em ciência e tecnologia de alimentos 2 [recurso eletrônico] / Organizadoras Vanessa Bordin Viera, Natiéli Piovesan. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Inovação em Ciência e Tecnologia de Alimentos; v. 2)</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia. ISBN 978-85-7247-699-7 DOI 10.22533/at.ed.997190910</p> <p>1. Alimentos – Análise. 2. Alimentos – Indústria. 3. Tecnologia de alimentos. I. Viera, Vanessa Bordin. II. Piovesan, Natiéli. III. Série.</p> <p style="text-align: right;">CDD 664.07</p>
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

O *e-book* Inovação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Vol 1, 2 e 3, traz um olhar integrado da Ciência e Tecnologia de Alimentos. A presente obra é composta por 86 artigos científicos que abordam assuntos de extrema importância relacionados às inovações na área de Ciência e Tecnologia de alimentos.

No volume 1 o leitor irá encontrar 28 artigos com assuntos que abordam a inovação no desenvolvimento de novos produtos como sucos, cerveja, pães, *nibs*, doce de leite, produtos desenvolvidos a partir de resíduos, entre outros. O volume 2 é composto por 34 artigos desenvolvidos a partir de análises físico-químicas, sensoriais, microbiológicas de produtos, os quais tratam de diversos temas importantes para a comunidade científica. Já o volume 3, é composto por 25 artigos científicos que expõem temas como biotecnologia, nutrição e revisões bibliográficas sobre toxinfecções alimentares, probióticos em produtos cárneos, entre outros.

Diante da importância em discutir as inovações na Ciência e Tecnologia de Alimentos, os artigos relacionados neste *e-book* (Vol. 1, 2 e 3) visam disseminar o conhecimento e promover reflexões sobre os temas. Por fim, desejamos a todos uma excelente leitura!

Vanessa Bordin Viera
Natiéli Piovesan

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ANÁLISE DO TEOR DE HIDROXIMETILFURFURAL DO MEL DE <i>Melipona flavolineata</i> NO DECURSO DO PROCESSO DE DESUMIDIFICAÇÃO POR AQUECIMENTO	
Adriane Gomes da Silva Marcos Enê Chaves Oliveira Mozaniel Santana de Oliveira Cláudio José Reis de Carvalho Daniel Santiago Pereira	
DOI 10.22533/at.ed.9971909101	
CAPÍTULO 2	6
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIFÚNGICA E ANTIBACTERIANA DO COGUMELO <i>Agaricus sylvaticus</i> : UMA AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i>	
Naiane Rodrigues Ferreira Joice Vinhal Costa Orsine Thaís Diniz Carvalho Abdias Rodrigues da Mata Neto Milton Luiz da Paz Lima Maria Rita Carvalho Garbi Novaes	
DOI 10.22533/at.ed.9971909102	
CAPÍTULO 3	18
AUTOCHTHONHUS MICROBIOTA OF THE COCONUT SPROUT (<i>Cocos nucifera</i> L.: Arecaceae)	
Anna Luiza Santana Neves Amanda Rafaela Carneiro de Mesquita Edleide Freitas Pires	
DOI 10.22533/at.ed.9971909103	
CAPÍTULO 4	26
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DETERMINAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE QUEIJO COLONIAL	
Janaina Schuh Cecília Alice Mattiello Mariane Ferenz Marina Ribeiros Silvani Verruck Nei Fronza Álvaro Vargas Júnior Fabiana Bortolini Foralosso André Thaler Neto Sheila Mello da Silveira	
DOI 10.22533/at.ed.9971909104	

CAPÍTULO 5	36
AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE QUALIDADE DE DOCE CREMOSO, GELEIAS, CHUTNEY E RELISH DE VEGETAIS	
Felipe de Lima Franzen Tatiane Codem Tonetto Marialene Manfio Janine Farias Menegaes Marlene Terezinha Lovatto Mari Silvia Rodrigues de Oliveira	
DOI 10.22533/at.ed.9971909105	
CAPÍTULO 6	45
AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE VIDA DE PRATELEIRA ACELERADA EM PÃO DE ALHO	
Thainá Rodrigues Stella Jessica Basso Cavalheiro Jéssica Loraine Duenha Antigo Leticia Misturini Rodrigues Jane Martha Graton Mikcha Samiza Sala Michelin Grasiele Scaramal Madrona	
DOI 10.22533/at.ed.9971909106	
CAPÍTULO 7	54
AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE CAFÉS SOLÚVEIS COMERCIAIS	
Lívia Alves Barroso Iara Lopes Lemos João Vinícios Wirbitzki da Silveira Tatiana Nunes Amaral	
DOI 10.22533/at.ed.9971909107	
CAPÍTULO 8	59
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS ETAPAS DE PRODUÇÃO DE ALIMENTO INSTANTÂNEO PRODUZIDO A PARTIR DE RESÍDUOS DE PEIXES	
Daniela Fernanda Lima de Carvalho Cavenaghi Aurélia Regina Araújo da Silva Bruna Rosa dos Anjos Aryadne Karoline Carvalho Santiago Carolina Balbino Garcia dos Santos Wander Miguel de Barros Luzilene Aparecida Cassol	
DOI 10.22533/at.ed.9971909108	
CAPÍTULO 9	65
CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DA FARINHA DE ORA-PRO-NÓBIS (<i>Pereskia aculeata</i> mil.)	
Márlia Barbosa Pires Ana Karoline Silva dos Santos Keila Garcia da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.9971909109	

CAPÍTULO 10 77

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE LARVAS DE TENÉBRIO (*Tenebrio molitor* L.) CRIADO PARA CONSUMO HUMANO

Daniela Fernanda Lima de Carvalho Cavenaghi

Juracy Caldeira Lins Junior

Juliana Maria Amabile Duarte

Wander Miguel de Barros

Neidevon Realino de Jesus

DOI 10.22533/at.ed.99719091010

CAPÍTULO 11 85

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICAS DE DIFERENTES VARIEDADES DE OLIVAS PRODUZIDAS NA UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Lívia Alves Barroso

Iara Lopes Lemos

Gustavo de Castro Barroso

Tatiana Nunes Amaral

DOI 10.22533/at.ed.99719091011

CAPÍTULO 12 90

COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTAS ORGÂNICAS E CONVENCIONAIS

Júlia Montenegro

Renata dos Santos Pereira

Joel Pimentel Abreu

Anderson Junger Teodoro

DOI 10.22533/at.ed.99719091012

CAPÍTULO 13 98

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE HERBICIDA (FITOTÓXICA) DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia thymoides* Mart. & Schauer (VERBENACEAE)

Sebastião Gomes Silva

Renato Araújo da Costa

Jorddy Neves da Cruz

Mozaniel Santana de Oliveira

Lidiane Diniz do Nascimento

Wanessa Almeida da Costa

José Francisco da Silva Costa

Daniel Santiago Pereira

Antônio Pedro da Silva Sousa Filho

Eloisa Helena de Aguiar Andrade

DOI 10.22533/at.ed.99719091013

CAPÍTULO 14 108

CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM EXTRATOS DE PÉTALAS DE ROSA (*ROSA X GRANDIFLORA* HORT.), OBTIDOS POR EXTRAÇÃO COM ULTRASSOM

Felipe de Lima Franzen

Juciane Prois Fortes

Jéssica Righi da Rosa

Giane Magrini Pigatto

Janine Farias Menegaes

Mari Sílvia Rodrigues de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.99719091014

CAPÍTULO 15 116

DESIDRATAÇÃO DE FRUTAS PELO MÉTODO DE CAMADA DE ESPUMA

Heloisa Alves de Figueiredo Sousa
Josemar Gonçalves Oliveira Filho
Edilsa Rosa da Silva
Ivanete Alves de Santana Rocha
Rosenaide Dias Braga de Sousa
Isac Ricardo Rodrigues da Silva
Diana Fernandes de Almeida
Helloyse Eugênia da Rocha Alencar
Mariana Buranelo Egea

DOI 10.22533/at.ed.99719091015

CAPÍTULO 16 128

EFEITO DE TRÊS MÉTODOS DE ABATE SOBRE OS INDICADORES DE QUALIDADE DA CARNE DA TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) RESFRIADA

Elaine Cristina Batista dos Santos
Paulo Roberto Campagnoli de Oliveira Filho
Elisabete Maria Macedo Viegas

DOI 10.22533/at.ed.99719091016

CAPÍTULO 17 140

EFEITOS CITOHEMATOLÓGICOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM AGARICUS BRASILIENSIS NA CRIAÇÃO DE TILÁPIAS DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

Flávio Ferreira Silva
William César Bento Regis

DOI 10.22533/at.ed.99719091017

CAPÍTULO 18 152

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO PROFILÁTICA COM AGARICUS BRASILIENSIS EM DE TILÁPIAS DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) DESAFIADAS POR *AEROMONAS HYDROPHILA*

Flávio Ferreira Silva
William César Bento Regis

DOI 10.22533/at.ed.99719091018

CAPÍTULO 19 160

EFEITOS DE DIFERENTES MÉTODOS DE COZELHO NAS CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS E FÍSICO-QUÍMICAS DE CENOURAS (*Daucus carota* L.) PRONTAS PARA CONSUMO

Fabiana Bortolini Foralosso
Cauana Munique Haas
Maria Eduarda Peretti
Alvaro Vargas Júnior
Sheila Mello da Silveira
Nei Fronza

DOI 10.22533/at.ed.99719091019

CAPÍTULO 20 172

ERVAS AROMÁTICAS E ESPECIARIAS COMO FONTE DE ANTIOXIDANTES NATURAIS

Aline Sobreira Bezerra
Angélica Inês Kaufmann
Maiara Cristíni Maleico
Mariana Sobreira Bezerra

DOI 10.22533/at.ed.99719091020

CAPÍTULO 21 181

EVALUATION OF THE PROCESS OF DESPECTINIZATION OF CUPUAÇU PULP (*Theobroma grandiflorum*)

Luana Kelly Baltazar da Silva
Lenice da Silva Torres
Tatyane Myllena Souza da Cruz
Layana Natália Carvalho de Lima
Rayssa Silva dos Santos
Adriano César Calandrini Braga

DOI 10.22533/at.ed.99719091021

CAPÍTULO 22 188

EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM PARA OBTENÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE CASCA DE ATEMOIA (*Annona cherimola* Mill x *Annona squamosa*)

Caroline Pagnossim Boeira
Déborah Cristina Barcelos Flores
Bruna Nichelle Lucas
Claudia Severo da Rosa
Natiéli Piovesan
Francine Novack Victoria

DOI 10.22533/at.ed.99719091022

CAPÍTULO 23 197

FARELO DE MILHO: UM INGREDIENTE PARA DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS E PROCESSOS ALIMENTÍCIOS

Tainara Leal de Sousa
Milena Figueiredo de Sousa
Rafaiane Macedo Guimarães
Adrielle Borges de Almeida
Mariana Buranelo Egea

DOI 10.22533/at.ed.99719091023

CAPÍTULO 24 209

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FILMES BIOPOLIMÉRICOS CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE OURO

Maicon Roldão Borges
Carla Weber Scheeren

DOI 10.22533/at.ed.99719091024

CAPÍTULO 25 216

MALDI-TOF MS BIOSENSOR IN MICROBIAL ASSESSMENT OF KEFIR PROBIOTIC

Karina Teixeira Magalhães-Guedes
Roberta Oliveira Viana
Disney Ribeiro Dias
Rosane Freitas Schwan

DOI 10.22533/at.ed.99719091025

CAPÍTULO 26 223

META-ANÁLISE COMO FERRAMENTA PARA AVALIAÇÃO DE DIFERENTES COPRODUTOS UTILIZADOS EM DIETAS PARA COELHOS DE CORTE

Diuly Bortoluzzi Falcone
Ana Carolina Kohlrausch Klinger
Amanda Carneiro Martini
Geni Salete Pinto de Toledo
Luciana Pötter
Leila Picolli da Silva

DOI 10.22533/at.ed.99719091026

CAPÍTULO 27 228

MODELAGEM TERMODINÂMICA E DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DO ÓLEO DE BACABA (*Oenocarpus bacaba*) E UCUÚBA (*Virola surinamensis*) COM DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO

Eduardo Gama Ortiz Menezes
Jhonatas Rodrigues Barbosa
Leticia Maria Martins Siqueira
Raul Nunes de Carvalho Junior

DOI 10.22533/at.ed.99719091027

CAPÍTULO 28 237

PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DAS SEMENTES DE CAFÉ (*Coffea arabica*, L.) EM FUNÇÃO DE DA ADUBAÇÃO NITROGENADA

Danilo Marcelo Aires dos Santos
Enes Furlani Júnior
Michele Ribeiro Ramos
Eliana Duarte Cardoso
André Rodrigues Reis

DOI 10.22533/at.ed.99719091028

CAPÍTULO 29 249

PRÉ-TRATAMENTO DE CASCAS DE AMENDOIM COM ULTRASSOM DE ALTA INTENSIDADE: EFEITO ESTRUTURAL E LIBERAÇÃO DE AÇÚCARES

Tiago Carregari Polachini
Antonio Mulet
Juan Andrés Cárcel
Javier Telis-Romero

DOI 10.22533/at.ed.99719091029

CAPÍTULO 30 264

QUALIDADE DA FIBRA DO ALGODOEIRO (*Gossypium hirsutum* L.) EM FUNÇÃO DA ADUBAÇÃO FOLIAR

Danilo Marcelo Aires dos Santos
Michele Ribeiro Ramos
Bruna Gonçalves Monteiro
Enes Furlani Júnior
Anderson Barbosa Evaristo
Marisa Campos Lima
Gustavo Marquardt
Geovana Alves Santos
Leticia Marquardt

DOI 10.22533/at.ed.99719091030

CAPÍTULO 31	274
RESULTADOS A PARTIR DE EQUIPAMENTO PORTÁTIL E DE BAIXO CUSTO DESENVOLVIDO PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÕES EM LEITE	
Wesley William Gonçalves Nascimento	
Mariane Parma Ferreira de Souza	
Ana Carolina Menezes Mendonça Valente	
Virgílio de Carvalho dos Anjos	
Marco Antônio Moreira Furtado	
Maria José Valenzuela Bell	
DOI 10.22533/at.ed.99719091031	
CAPÍTULO 32	282
TEOR DE CAFÉINA E RENDIMENTO DE SEMENTES DE CINCO CULTIVARES DE GUARANAZEIRO COLHIDAS EM TRÊS ESTÁGIOS DE MATURAÇÃO E SUBMETIDAS A SEIS PERÍODOS DE FERMENTAÇÃO	
Lucio Pereira Santos	
Lucio Resende	
Enilson de Barros Silva	
DOI 10.22533/at.ed.99719091032	
CAPÍTULO 33	296
VALORIZATION OF WASTE COFFEE HUSKS: RECOVERY OF BIOACTIVE COMPOUNDS USING A GREEN EXTRACTION METHOD	
Ádina Lima de Santana	
Gabriela Alves Macedo	
DOI 10.22533/at.ed.99719091033	
CAPÍTULO 34	305
VIABILIDADE DE <i>BACILLUS CLAUSII</i> , <i>BACILLUS SUBTILIS</i> E <i>BACILLUS SUBTILIS</i> VAR NATTO EM NÉCTAR E POLPA DE CAJU	
Adriana Lucia da Costa Souza	
Luciana Pereira Lobato	
Rafael Ciro Marques Cavalcante	
Roberto Rodrigues de Souza	
DOI 10.22533/at.ed.99719091034	
SOBRE AS ORGANIZADORAS	319
ÍNDICE REMISSIVO	320

ANALISE DO TEOR DE HIDROXIMETILFURFURAL DO MEL DE *Melipona flavolineata* NO DECURSO DO PROCESSO DE DESUMIDIFICAÇÃO POR AQUECIMENTO

Adriane Gomes da Silva

Faculdade Integrada Brasil Amazônia, Av. Gentil Bitencourt, 1144 - Nazaré, Belém - PA, 66040-174 - Belém, PA – Brasil.

Marcos Enê Chaves Oliveira

Embrapa Amazônia Oriental Tv. Dr. Enéas Pinheiro - Curió Utinga, Belém - PA, 66095-903: - Belém, PA – Brasil.

Mozaniel Santana de Oliveira

Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Corrêa - até 937 - lado ímpar Guamá. 66075-110 - Belém, PA – Brasil.

Cláudio José Reis de Carvalho

Embrapa Amazônia Oriental Tv. Dr. Enéas Pinheiro - Curió Utinga, Belém - PA, 66095-903 - Belém, PA – Brasil.

Daniel Santiago Pereira

Embrapa Amazônia Oriental, Tv. Dr. Enéas Pinheiro - Curió Utinga, Belém - PA, 66095-903 - Belém, PA – Brasil.

RESUMO: O mel de abelhas nativas em destaque auruçua amarela (*Melipona flavolineata*) tem algumas particularidades no seu sabor sendo levemente ácido em relação aos méis de abelhas africanizadas. O valor do produto varia muito do produtor até os consumidores, e o seu preço chega a quadruplicarem relação ao mel das abelhas com ferrão (*Apis mellifera* L.). O mel de uruçua amarela apresenta teor de água que pode variar de 23 a 36%, isso o que deixa

de fora da legislação estabelecida para este parâmetro. Tendo em vista esta característica, alguns processos podem ser adotados para reduzir a atividade de água nestes méis para adequar o produto à legislação vigente no Brasil, como a pasteurização e a desumidificação através da desidratação a banho-maria ou à vácuo. Entretanto, tratamentos que utilizem aquecimento tendem a provocar alterações nos teores de Hidroximetilfurfural (HMF). Considerando que a tecnologia de desumidificação por banho-maria seja uma das mais utilizadas pelos meliponicultores por conta da facilidade de aplicação, o objetivo do estudo foi analisar como o processo de desumidificação forçada por banho-maria provoca alterações nos teores de Hidroximetilfurfural (HMF). Constatou-se que o método utilizado para desumidificação dos méis de abelhas *Melipona flavolineata* neste estudo não provocaram alterações no HMF acima do estabelecido na legislação brasileira.

PALAVRAS-CHAVE: Abelhas sociais; Análise de qualidade; Hidroximetilfurfural

ANALYSIS OF HYDROXYMETHYLFURFURAL HONEY CONTENT OF *Melipona Flavololatre* IN THE COURSE OF THE HEATING

DEHUMIDIFICATION PROCESS

ABSTRACT: Native bee honey, especially yellow uruçu (*Melipona flavolineata*), has some peculiarities in its flavor, being slightly acidic in relation to Africanized bee honeys. The value of the product varies greatly from producer to consumer, and its price is quadrupled from stinging honey (*Apis mellifera* L.). Yellow uruçu honey has a water content that can vary from 23 to 36%, which is beyond the established legislation for this parameter. Given this feature, some processes can be adopted to reduce water activity in these people to adapt the product to current legislation in Brazil, such as pasteurization and dehumidification through dehydration in water bath or vacuum. However, treatments that use heating tend to cause changes in the levels of hydroxymethylfurfural (HMF). Considering that the water bath dehumidification technology is one of the most used by meliponiculturists due to its ease of application, the objective of the study was to analyze how the process of forced water bath dehumidification causes changes in the hydroxymethylfurfural (HMF) levels. It was found that the method used for dehumidifying honey honeys *Melipona flavolineata* in this study did not cause changes in HMF above the established in Brazilian legislation.

KEYWORDS: Social bees; Quality analysis; Hydroxymethylfurfural

1 | INTRODUÇÃO

Para ser comercializado o mel precisa atender requisitos técnicos de qualidade, que no momento só existe na legislação para *Apis mellifera*, e o valor máximo estabelecido em 20% (Brasil, 1985), sendo que os méis de abelhas nativas a atividade de água pode variar de 23 a 36% de umidade (Menezes et al., 2018). Para que este produto chegue a prateleira os meliponicultores utilizam alguns tratamentos, sendo a desumidificação um destes, porém o aquecimento do mel pode provocar o aumento do teor de HMF (Hidroximetilfurfural) acima do permitido na legislação que é de 60 meq.kg-1 (Brasil, 1985). O Hidroximetilfurfural (HMF) é um aldeído cíclico que se forma por desidratação da frutose em meio ácido (pH 3,9), cujo processo é acelerado pelo calor (Passamani, 2005).

É permitido o aquecimento do mel até o máximo de 70°C, desde que seja mantida a sua atividade enzimática. É proibida a adição de corantes, aromatizantes, espessantes, conservadores e edulcorantes de qualquer natureza, naturais e sintéticos, conforme a resolução nº 12, 24 de julho de 1978 (BRASIL, 1978) em conformidade com o artigo nº 64, do Decreto-lei nº 986, de 21 de outubro de 1969 e de acordo com o que foi estabelecido na Sessão Plenária, realizada em 30/03/78, resolve aprovar as seguintes NORMAS TÉCNICAS ESPECIAIS, do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas).

Deste modo, este trabalho tem por objetivo avaliar o teor de HMF (Hidroximetilfurfural) do mel de abelha nativa uruçu amarela (*Melipona flavolineata*)

submetido ao processo de desumidificação por aquecimento em banho-maria de acordo com exigências da legislação da comissão nacional de normas e padrões para alimentos.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado durante o período de janeiro a junho de 2018, nos Laboratórios de Agroindústria e de Análises de Sistemas Sustentáveis (LASS), na Embrapa Amazônia Oriental.

O mel de abelhas urucu amarela foi disponibilizado por meliponicultores do município de Curuçá-PA. O processo de desidratação foi realizado em banho maria sob agitação constante, em temperatura fixa de 55°C. A cada 12 horas foram coletadas amostras que foram avaliadas em triplicata quanto ao HMF. Tratamento em paralelo foi aplicado em mel de *A. mellifera*, originado de Ourém-PA. Este mel foi submetido a tratamento de desumidificação em estufa à temperatura de 65°C, e a cada 12 horas foram coletadas amostras que foram avaliadas em triplicata quanto ao HMF.

As análises físico-químicas foram realizadas de acordo com Zenebon et al. (2008) e são descritas a seguir:

Pesaram-se 5 g de cada amostra em béquer identificado, adicionaram-se 25 mL de água e transferiram-se para um balão de 50 mL. Posteriormente, adicionou-se 0,50 mL da solução de Carrez 1 – Ferrocianeto de Potássio {15 g de $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ em 100 mL de H_2O } e misturou-se; o mesmo foi feito com a solução de Carrez 2 – Acetato de Zinco {30g de $Zn(Oac)_2 \cdot 2H_2O$ } e completou-se o volume com água destilada. Realizou-se a filtração com papel de filtro as amostras e descartaram-se os primeiros 10 mL. Pipetaram-se 5 mL do filtrado em dois tubos de ensaio, adicionando-se, no primeiro, 5 mL de H_2O , e no segundo, 5 mL de $NaHSO_3$ como referência. Mediu-se a absorvância da amostra, utilizando um espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 284 e 336 nm. Para o cálculo da quantidade de HMF, utilizou-se a fórmula:

$$HMF \text{ mg/kg} = \frac{(A_{284} - A_{336}) \times 149,7 \times 5}{p}$$

Sendo: Fator = 149,7 = (126/16830) (1000/10) (1000/5) onde: 126 = Peso molecular do HMF; 16830 = Absortividade molecular do HMF a 284 nm; 1000 = conversão de g para mg; 10 = diluição de 5 g de mel para 50 ml; 100 = conversão de g para Kg; P = massa da amostra em g, A_{284} = leitura da absorvância a 284 nm, A_{336} = leitura da absorvância a 336 nm, 5 = massa nominal da amostra.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após as análises foi observado que as amostras apresentaram resultados abaixo do máximo indicado na legislação, em comparação com o produto comercial, e por período de tratamento do alimento para os méis de abelhas nativas, para o parâmetro de HMF, após a aplicar a metodologia os resultados obtidos de Hidroximetilfurfural, com base o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do mel (Ministério de Agricultura e Abastecimento).

O mel de referência *A. mellifera* se enquadrado na padronização de qualidade exigido pelo mercado do consumidor, o mel da *M. flavollineata* tento no tempo zero (T0) quanto no período de processamento de desumidificação este alimento também se enquadrado na padronização exigida pelo mercado do consumidor.

Sendo o limite máximo, segundo regulamento técnico de identidade e qualidade do mel, é de 60 meq.kg-1 de HMF, o mel da *A. mellifera*, apresentou resultado de 24,2 (DV± 0,42) HMF mg/kg.

Para as amostras de Mel da *M. flavollineata* houveram quatro temperaturas distintas, tais quais: 45°C, 50°C, 55°C e 65°C (obedecendo o limite de até 70°C estabelecido pela ANVISA), com o intuito de observar qual temperatura o alimento se adequaria sem que houvesse o comprometimento da alteração do resultado. Vale ressaltar que a amostra tratada por 65°C foi aquecida por equipamento de estufa. Cada amostra teve seu período de tratamento diferente de dois a cinco dias, os que tiveram um período longo foi porque apresentaram fermentação no alimento dificultando a retirada da umidade do mel.

4 | CONCLUSÕES

Diante dos resultados exposto observou-se que as amostras de méis de abelha nativas uruçu amarela avaliados que passaram pelo processo de tratamento de desumidificação por aquecimento proporcionou um aumento gradativo do HMF diariamente, onde sua cor mudava para uma tonalidade mais escura gradativamente conforme sua umidade fosse diminuindo, constatou se que o tratamento não provocou aumento do HMF, mesmo que algumas amostras tenham fermentado, superior ao estabelecido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do mel da normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Sendo desse modo, para esta característica, o mel passou na avaliação de qualidade para a comercialização.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Peabiru pelo financiamento da pesquisa e articulação com os meliponicultores paraenses para o fornecimento do mel para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Resolução nº 12, 24 de jul. 1978. Estabelece fixar padrões de identidade e qualidade para alimentos e bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1978. p. 61.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Inspeção de Produto Animal. Portaria nº 6, de 25 de julho de 1985. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 jul. 1985. Seção 1, p. 14.

MENEZES, B. A. D.; MATTIETTO, R. A.; LOURENÇO, L. F. H. Avaliação da qualidade de méis de abelhas africanizadas e sem ferrão nativas do nordeste do Estado do Pará. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, p. 1-13, 2018.

PASSAMANI, L. **Estudo das características físicas, químicas e microbiológicas de compostos de mel produzidos no estado do Rio de Janeiro**. 2005. 70 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Tecnologia, Rio de Janeiro.

ZENEBO, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (Coord.). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIFÚNGICA E ANTIBACTERIANA DO COGUMELO *Agaricus sylvaticus*: UMA AVALIAÇÃO *IN VITRO*

Naiane Rodrigues Ferreira

Tecnóloga em alimentos. Instituto Federal Goiano – campus Urutaí.

Joice Vinhal Costa Orsine

Professora do Instituto Federal Goiano – campus Urutaí.

Thaís Diniz Carvalho

Engenheira de alimentos. Assistente de laboratório do Instituto Federal Goiano – campus Urutaí.

Abdias Rodrigues da Mata Neto

Graduando em Biologia. Instituto Federal Goiano – campus Urutaí.

Milton Luiz da Paz Lima

Professor do Instituto Federal Goiano – campus Urutaí.

Maria Rita Carvalho Garbi Novaes

Professora. Escola Superior de Ciências da Saúde - ESCS/FEPECS e da Pós-graduação *Strictu Sensu* em Ciências para a Saúde da FEPECS e da Universidade de Brasília.

RESUMO: Objetivou-se com este trabalho realizar a análise da atividade antioxidante, antifúngica e antibacteriana do cogumelo *Agaricus sylvaticus*. Para avaliação da atividade antioxidante, foi utilizado o método do DPPH. A atividade antifúngica do extrato aquoso do cogumelo *A. sylvaticus* (T1 = 0,01%, T2 = 0,1%, T3 = 1%, T4 = 10%, T5 = 0%) foi determinada sobre os fungos *Fusarium subglutinans*,

Alternaria brassicae, *Pestalotiopsis*, *Penicillium* sp, *Bipolaris sacharum* e *Colletotrichum* sp.. A atividade antibacteriana do extrato aquoso do cogumelo *A. sylvaticus* em diferentes concentrações (T1= 0,01%, T2= 0,1%, T3= 1%, T4= 10%, T7= 100%) foi determinada sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Xanthomonas* e *Masterfix*. Para o controle positivo foi empregada água destilada e, para o controle negativo, o ácido acético, identificados respectivamente como T5 e T6. Através do presente estudo pôde-se concluir que o cogumelo *A. sylvaticus* apresenta-se como um agente antioxidante natural promissor, visto que grande parte dos componentes com propriedades antioxidantes foram solubilizados pela água. Porém, o extrato aquoso deste cogumelo não possui atividade antibacteriana ou antifúngica satisfatória.

PALAVRAS-CHAVE: Cogumelo do sol; antioxidantes; efeito antimicrobiano; alimento funcional; cogumelos medicinais.

ANTIOXIDANT, ANTIFUNGICAL AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Agaricus sylvaticus* MUSHROOM: AN *IN VITRO* EVALUATION

ABSTRACT: The objective of this work to perform the analysis of the antioxidant, antifungal

and antibacterial activity of *Agaricus sylvaticus*. To evaluate the antioxidant activity, the DPPH method was used. The antifungal activity of the aqueous extract of the mushroom *A. sylvaticus* (T1 = 0.01%, T2 = 0.1%, T3 = 1% = 10% T4, T5 = 0%) was determined on the *Fusarium fungi subglutinas*, *Alternaria brassicae*, *Pestalotiopsis*, *Penicillium sp*, *Bipolaris Sacharum* and *Colletotrichum sp* .. the antibacterial activity of aqueous *A. sylvaticus* mushroom extract in different concentrations (0.01% = T1, T2 = 0.1%, 1% = T3, T4 = 10%, T7 = 100%) was determined on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Xanthomonas* and *Masterfix*. For positive control, and distilled water was used for the negative control, acetic acid, identified as T5 and T6 respectively. Through this study it was concluded that the mushroom *A. sylvaticus* is presented as a promising natural antioxidant, since most of the components with antioxidant properties were solubilized by water. However, the aqueous extract of this mushroom does not have satisfactory antibacterial or antifungal activity.

KEYWORDS: Mushroom sun; antioxidants; antimicrobial effect; functional food; medicinal mushrooms.

INTRODUÇÃO

O cogumelo *Agaricus sylvaticus* é encontrado de forma nativa no interior do Brasil, cujo nome popular é Cogumelo do Sol. Pertence à taxonomia: super-reino Eucariota, reino Fungi, divisão Basidiomycota, subdivisão Homobasidiomycetidae, ordem Agaricales, família Agaricaceae e gênero *Agaricus* (Taveira et al., 2007).

Diversas pesquisas vêm sendo conduzidas no sentido de estudar o cogumelo *A. sylvaticus*, desvendando suas características físico-químicas (Orsine et al., 2012a), atividade antioxidante dos extratos aquoso, etéreo e alcoólico (Costa et al., 2011), concentração letal (Orsine et al., 2012b) e citotoxicidade (Orsine et al., 2013). Além disso, existe uma série de estudos referentes aos efeitos à saúde humana relacionados à suplementação dietética do cogumelo *A. sylvaticus* em pacientes com câncer colorretal (Fortes et al., 2008; Fortes et al., 2010; Fortes et al., 2011; Novaes et al., 2006), indicando a melhoria da qualidade de vida destes pacientes (Taveira et al., 2007).

A atividade antimicrobiana de produtos naturais com características medicinais tem sido pesquisada em várias espécies (Loguercio et al., 2005). Os princípios ativos obtidos a partir de produtos naturais têm sido cada vez mais utilizados no preparo de remédios, venenos e cosméticos tornando-se uma das mais antigas formas de cura e prevenção de doenças (Maciel et al., 2002).

Os testes de sensibilidade *in vitro*, para fungos, não têm sido empregados rotineiramente, contudo, eles são de grande importância para a verificação de resistência destes micro-organismos, para o controle da terapêutica antimicótica e para pesquisa de novas substâncias alternativas para o tratamento, como por exemplo, a utilização de extratos vegetais (Oliveira et al., 2006). Nesse sentido,

objetivou-se com o presente estudo avaliar a atividade antioxidante, antifúngica e antibacteriana do cogumelo *Agaricus sylvaticus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção da matéria-prima e preparo do extrato

O cogumelo *A. sylvaticus* foi obtido de um produtor do Estado de Minas Gerais na forma desidratada e triturada. O extrato aquoso não fracionado do cogumelo *A. sylvaticus* foi preparado seguindo metodologia proposta por Costa *et al.* (2011), sendo esterilizado posteriormente em autoclave por 15 minutos. A concentração final do extrato foi de 200 mg.mL⁻¹.

Avaliação do potencial antioxidante

A atividade antioxidante do extrato aquoso do cogumelo *A. sylvaticus*, foi determinada conforme a metodologia proposta por Borguini (2006), com modificações, utilizando-se o método do DPPH (2,2-difenilpicril-Hydrazyl), seguindo a técnica descrita por Brand-Williams *et. al* (1995). Foi utilizado o BHT (butylatedhydroxytoluene) como padrão antioxidante e o DPPH (2, 2-difenilpicril-hydrazyl) como oxidante. Para leitura no espectrofotômetro UV-VIS (Marca Spectrum, modelo SP 2000 UV), foi utilizado comprimento de onda de 517nm e as leituras foram realizadas nos tempos 0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 e 20 minutos após o início da reação.

Para avaliar a atividade antioxidante, os valores observados no espectrofotômetro foram inseridos na fórmula:

$$\% \text{ descoloração} = \{1 - [\text{Abs. amostra} + \text{Abs. branco amostra}] / \text{controle}\} \times 100$$

Os valores obtidos foram convertidos numa escala de porcentagem, a qual 0% equivale a não inibição de radicais livres formados na reação entre o cogumelo e o DPPH e 100% indica a completa inibição destes radicais livres.

Avaliação da atividade antifúngica – Procedimento experimental

As análises microbiológicas foram conduzidas no laboratório de Fitopatologia, do Instituto Federal Goiano - campus Urutaí. As análises foram realizadas em duplicata, e o resultado foi expresso como média dos resultados das duplicatas. Utilizou-se o meio de cultura *Potato Dextrose Agar* (BDA) e água destilada para a elaboração dos meios de cultura, em frascos de 500 mL, empregados no experimento. Ao ágar BDA foi adicionado o extrato aquoso não fracionado do cogumelo *A. sylvaticus* em

diferentes concentrações: T1 = 0,01%, T2 = 0,1%, T3 = 1%, T4 = 10%, T5 = 0% (controle). Os meios de cultura foram então autoclavados em temperatura de 121°C por 20 minutos. Os meios de cultura referentes aos tratamentos T1, T2, T3, T4 e T5 foram vertidos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, previamente esterilizadas, em capela de Fluxo Laminar (Marca Pachane, Modelo FL 7752). Como culturas de teste foram utilizados gêneros e espécies de fungos, *Fusarium subglutinans*, *Alternaria brassicae*, *Pestalotiopsis*, *Penicillium* sp, *Bipolaris sacharum* e *Colletotrichum* obtidos da micoteca do EcoCentro. O método utilizado foi o bioanalítico *in vitro*, a partir da observação do desenvolvimento ou inibição dos microrganismos em diferentes concentrações do extrato aquoso do cogumelo *A. sylvaticus*. Cada fungo foi inoculado, individualmente, em uma placa de Petri, contendo uma diluição diferente do extrato aquoso do cogumelo *A. sylvaticus* ou o controle. Um disco de micélio de 8 mm de diâmetro, contendo cada fungo em estudo, foi transferido para o centro das placas. A incubação ocorreu em capela de Fluxo Laminar (Marca Pachane, Modelo FL 7752), e as placas de Petri foram encaminhadas para câmara de germinação (Marca Pachane, Modelo TE 401), em temperatura de 25 °C, durante seis dias. Após o período de desenvolvimento dos fungos, foram efetuadas medições ortogonais do diâmetro das colônias tendo como referência o desenvolvimento da placa controle (T5), onde não houve adição do extrato aquoso do cogumelo *A. sylvaticus*. O esquema fatorial adotado foi com duas repetições, em delineamento inteiramente casualizado, obtendo-se assim, a taxa de desenvolvimento micelial.

Avaliação da atividade antimicrobiana – Procedimento experimental

As culturas dos microrganismos utilizados foram obtidos no laboratório de Fitopatologia do IFGoiano – campus Urutaí. As análises foram realizadas em duplicata, e o resultado foi expresso como média dos resultados das duplicatas. Para o crescimento e manutenção das culturas bacterianas também empregou-se o ágar BDA. Os discos de papel foram preparados com papel A4, com aproximadamente 5 mm de espessura. Os materiais foram autoclavados em temperatura de 121°C por 20 minutos. Foram utilizadas diferentes concentrações do extrato aquoso do cogumelo *A. sylvaticus*: T1= 0,01%, T2= 0,1%, T3= 1%, T4= 10%, T7= 100%. Para o controle positivo foi empregada água destilada e, para o controle negativo, o ácido acético, identificados como: T5= água e T6= ácido acético. O procedimento foi realizado em capela de Fluxo Laminar (Marca Pachane, Modelo FL 7752). Após a esterilização do meio de cultura em autoclave a 121°C por 20 minutos, o ágar foi vertido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, previamente esterilizadas. Foram utilizados cinco microrganismos *E. coli*, *S. aureus*, *S. cerevisiae*, *Xanthomonas* e *Masterfix*. Em cada placa de Petri, contendo a cultura individual dos microrganismos, foram adicionados 1000µL de água destilada, com o auxílio de uma alça de Drigalski, obtendo-se um caldo. Com o auxílio de uma pipeta automática, adicionou-se 500µL da suspensão

bacteriana de cada microrganismo na superfície do meio de cultura (BDA). O caldo foi então espalhado sobre o ágar BDA, e esperou-se até que ocorresse a total absorção do mesmo. Após a secagem do inóculo, com o auxílio de uma pinça previamente flambada, foram aplicados discos de papel imersos, individualmente, nas diferentes concentrações do extrato do cogumelo *A. sylvaticus*, controle positivo e controle negativo: T1, T2, T3, T4, T5, T6 e T7. Posteriormente, as placas foram identificadas a partir do T1, em sentido horário, na parte inferior da placa. As placas foram então encaminhadas para estufa de cultura bacteriológica (Marca NovaTécnica, Modelo NT 524) em temperatura a 37°C por 48h. Após este tempo, foi verificada a presença ou ausência de halos de crescimento dos microrganismos.

Análise estatística

Os resultados obtidos da análise antifúngica foram analisados através da análise de variância, Teste de Tukey, a 5% de probabilidade, com auxílio do programa de comparação de médias Assistat.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação do potencial antioxidante

Foram obtidos os seguintes valores de absorbância: Metanol (0,041nm), Controle: 750 μ L + 1,5 mL de DPPH (0,411nm), Branco: 750 μ L + 1,5mL de metanol (0,030nm), Branco da amostra (0,323nm). Para a solução padrão de BHT, um poderoso antioxidante sintético, foi observada atividade antioxidante, após o período de 20 minutos de reação com o DPPH de 87,1%. Já o extrato aquoso não fracionado do cogumelo *A. sylvaticus*, na concentração de 200mg.mL⁻¹, apresentou atividade antioxidante, nas mesmas condições que o BHT, de 75,4%, conforme apresentado na Figura I.

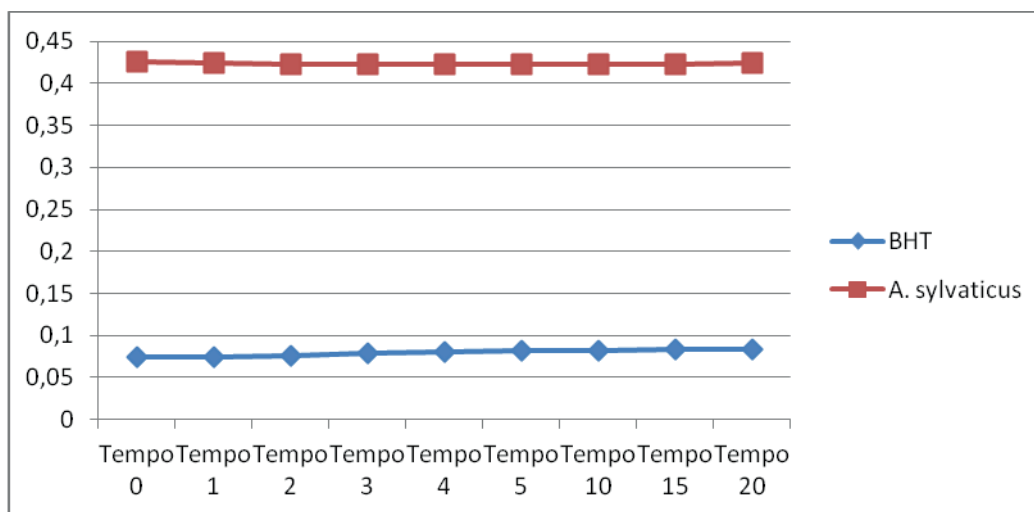


Figura I. Comportamento da solução de BHT e do extrato aquoso do cogumelo *A. sylvaticus*, após 20 minutos de reação com o DPPH.

* $\lambda = 517 \text{ nm}$ ** Os resultados referentes ao extrato aquoso do cogumelo *A. sylvaticus* referem-se à média das triplicatas realizadas.

Em trabalho realizado por Costa *et al.* (2011), verificou-se que os extratos etéreo, alcoólico e aquoso (fracionados) do cogumelo *A. sylvaticus* apresentavam atividade antioxidante de 14,6%; 75,6% e 14,6%, respectivamente. Estes autores observaram que os compostos antioxidantes do cogumelo *A. sylvaticus* poderiam ser mais facilmente diluídos em álcool. Já no presente trabalho verificou-se que a água também funciona como eficaz solvente para a extração de componentes antioxidantes do cogumelo *A. sylvaticus*, desde que não sejam utilizados outros produtos de extração, como o metanol, éter, hexano ou álcool antes do procedimento de extração com água.

Segundo Piljac-Žegarac *et al.* (2011), a água em comparação ao metanol, é o melhor solvente de extração de compostos fenólicos para os cogumelos medicinais *Auricularia auricula-judae*, *Sarcoscypha austriaca* e *Strobilurus esculentus*, cultivados na Croácia, e *Agaricus bisporus*, Imbach (nas cores marrom e branco), *Pleurotus ostreatus* e *Lentinus edodes*.

Elmastas *et al.* (2007), analisaram os extratos metanólicos de várias espécies de cogumelos. Por apresentarem significativa atividade antioxidante *in vitro*, os autores sugeriram que os cogumelos podem ser usados como fonte natural de antioxidantes, como suplemento alimentar ou na indústria farmacêutica, sendo os compostos fenólicos os principais responsáveis pela atividade antioxidante dos extratos.

Avaliação da atividade antifúngica

O efeito fungitóxico *in vitro* dos cogumelos é utilizado com o objetivo de buscar medidas alternativas para o controle de fungos e bactérias indesejáveis em determinados substratos (FIORI-TUTIDA *et al.*, 2007). Na Tabela 2 foi apresentado o efeito fungitóxico do cogumelo *A. sylvaticus*, sobre diferentes isolados.

Isolados	T1	T2	T3	T4	T5
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	75,00 aA	59,50 aBC	69,00 aAB	50,00 bC	75,00 aA
<i>A. brassicae</i>	51,50 bcA	50,50 abA	47,00 bcAB	32,50 cdB	48,00 bcA
<i>B. sacharum</i>	37,00 cA	39,00 bA	44,00 cA	46,00 bcA	36,00 cA
<i>Colletotrichum</i> sp.	65,50 abA	66,50 aA	64,50 aA	71,50 aA	64,00 abA
<i>F. subglutinans</i>	64,50 abA	62,50 aA	61,50 abA	40,50 bcB	59,50 abA
<i>Penicillium</i> sp.	20,50 dA	17,00 cA	18,50 dA	20,00 dA	19,00 Da

Tabela II. Crescimento micelial (mm) de isolados fúngicos quando combinados com diferentes concentrações de extrato aquoso do cogumelo *A. sylvaticus* (CV% = 8.74).

*As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas nas linhas, e minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. T1 = 0,01%; T2 = 0,1%, T3 = 1%, T4 = 10%; T5 = 0%.

Estatisticamente, o isolado fúngico que apresentou menor crescimento micelial no tratamento T1 (concentração 0,01%) foi *Penicillium* sp., apresentando ao final de seis dias 20,5 mm. Os isolados que apresentaram maior crescimento micelial no tratamento T1 foram: *Pestalotiopsis* sp (75 mm), *Colletotrichum* sp. (65,5 mm), e *Fusarium subglutinans* (64,5 mm), conforme visualizado na Tabela 2.

Para o tratamento T2, cuja concentração do extrato do cogumelo *A. sylvaticus* no ágar BDA é de 0,1%, foi observado que o *Penicillium* sp. apresentou menor crescimento micelial (17 mm), seguido por *Bipolaris sacharum* (39 mm). Os demais isolados fúngicos foram estatisticamente iguais no tratamento T2.

Penicillium sp. apresentou menor crescimento micelial no tratamento T3 (concentração 1% do cogumelo *A. sylvaticus* no Agar BDA), apresentando 18,5 mm de diâmetro. Já os isolados *Pestalotiopsis* sp., *Colletotrichum* sp. e *Fusarium subglutinans* apresentaram maior crescimento micelial no T3, com valores de 69, 64,5 e 61,5 mm respectivamente.

Para o T4 (concentração 10%), o fungo *Penicillium* sp. também apresentou menor crescimento micelial em relação aos demais isolados fúngicos, com 20 mm de crescimento. Por sua vez, o fungo *Colletotrichum* sp. apresentou maior crescimento, com diâmetro final de 64,5 mm.

Quando avaliado o tratamento T5 (concentração 0% - controle), os fungos *Pestalotiopsis* sp., *Colletotrichum* sp., e *Fusarium subglutinans* apresentaram maior crescimento micelial entre os isolados fúngicos, com valores de 75, 64 e 59,5 mm respectivamente. *Penicillium* sp. novamente apresentou menor crescimento micelial entre os isolados fúngicos.

Observou-se neste estudo que o fungo *Penicillium* sp. foi o isolado que apresentou menor crescimento micelial e *Colletotrichum* sp. apresentou maior crescimento micelial, quando comparado com todos os outros isolados fúngicos analisados no presente estudo para todas as concentrações de extrato aquoso não fracionado de *A. sylvaticus* (Tabela 2).

Sasaki *et al.* (2001), em experimento avaliando a ação antifúngica de extrato de *Lentinula edodes* sobre o crescimento micelial de dois fitopatógenos, incorporaram ao ágar BDA, as concentrações de 10, 20 e 30% do extrato do cogumelo. Comparando-se com a testemunha (ou controle, com concentração de 0% de extrato), os autores verificaram que o ágar BDA adicinado do cogumelo *L. edodes* apresentou um efeito antagônico sobre os fungos do gênero *Helminthosporium* sp. e *Fusarium solani*, ou seja, inibiu seu crescimento micelial.

De acordo com Tonucci (2004), o extrato aquoso de basidiocarpos de *L. edodes* não demonstrou efeito inibitório do crescimento micelial e germinação de conídios de fungos do gênero *Alternaria*, podendo ser explicados pela baixa concentração ou qualidade das substâncias inibitórias produzidas por *L. edodes*.

Em estudo realizado por Mazzutti (2012), o autor comprovou que o extrato obtido por extração supercrítica do cogumelo *A. brasiliensis* apresentou uma fraca atividade antifúngica frente à espécie *Candida albicans*.

Um resultado negativo quanto ao uso de cogumelos no controle de fungos pôde ser observado em estudo realizado por Camili *et al.* (2009). Os autores verificaram a partir de seus resultados que os extratos de *A. blazei* e *L. edodes* não controlaram a podridão causada por *Botrytis cinerea* em uva 'Itália', quando aplicados antes ou após a inoculação do fungo. Nos ensaios *in vitro*, ambos os extratos dos basidiocarpos estimularam a germinação dos conídios de *B. cinerea* em todas concentrações testadas. Quando avaliado o crescimento micelial, *L. edodes* retardou, enquanto *A. blazei* estimulou o crescimento de *B. cinerea*.

Assi (2005) utilizou extratos aquosos de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus* para o controle de *Colletotrichum lindemuthianum* em ensaios *in vitro* e no cultivo do feijoeiro. O autor observou que houve controle do patógeno em estudo, tanto por atividade antimicrobiana direta, através da inibição da germinação de conídios, quanto por indução de resistência local e sistêmica, através da ativação de peroxidases.

Avaliação da atividade antibacteriana

Para o microrganismo *Xantomonas* sp., observou-se que nenhum dos tratamentos foi eficiente para inibição do crescimento da bactéria através da observação do halo de inibição apenas no tratamento T6, quando foi utilizado ácido acético. Dessa forma, observou-se que o cogumelo *A. sylvaticus* não possui atividade antibacteriana contra *Xantomonas* sp.

Para o micro-organismo *Masterfix*, pode-se observar que todos os tratamentos exerceram fraco efeito antimicrobiano, através da formação de um fino halo de inibição, inclusive no T6, quando foi utilizado ácido acético. Sendo assim, o cogumelo *A. sylvaticus* possui fraca atividade antibacteriana contra *Masterfix*.

Nas placas de Petri com cultura de *S. cerevisiae* e *S. aureus*, observou-se que

apenas o tratamento T6, referente à aplicação de ácido acético foi eficiente para a inibição do crescimento da levedura e da bactéria patogênica, respectivamente. Sendo assim, o cogumelo *A. sylvaticus* não apresenta atividade antimicrobiana contra *S.cerevisae* ou *S. aureus*.

Para o micro-organismo *E. coli*, observou-se que apenas o tratamento T6, referente à aplicação de ácido acético, e o T7, em menor proporção, foram eficientes para inibição do crescimento da bactéria, através da formação de um halo. Sendo assim, o extrato aquoso não fracionado do cogumelo *A. sylvaticus* possui fraca atividade antibacteriana contra *E. coli* apenas quando altamente concentrado.

Segundo estudo realizado por Bento (2001), extratos aquosos de *L. edodes*, correspondentes a 40 mg de matéria seca de cogumelos shiitake, são capazes de inibir o crescimento tanto de *Bacillus subtilis*, como de *E. coli*. Porém, a fração do extrato solúvel em acetato de etila, nas concentrações equivalentes a 150 µg e 300 µg da matéria seca do cogumelo, não inibiram o crescimento de nenhum dos dois isolados bacterianos.

Em estudo realizado por Godoy (2008), o autor observou que o extrato aquoso de diferentes linhagens de *L. edodes*, na concentração de 4,5mg/mL, inibiu o crescimento da bactéria *Xanthomonas axonopodis*. Os resultados dos diâmetros dos halos de inibição obtidos neste ensaio, não diferiram significativamente entre si entre as diferentes linhagens do cogumelo utilizadas, mas apresentaram diferença significativa em relação aos tratamentos controles (testemunhas).

De acordo com estudo realizado por Régis *et al.* (2012), os extratos de *A. blazei* obtidos através da extração com metanol, etanol, propanol e butanol, apresentaram atividade antimicrobiana contra 12 linhagens de bactérias testadas (*Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *Shigella flexneri*, *B. cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *Citrobacter freundii* e *Proteus mirabilis*). Os melhores halos de inibição foram obtidos no extrato utilizando-se o propanol na extração que foi capaz de inibir significativamente, em diferentes graus.

Öztürk *et al.* (2011), avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos metanólicos de três espécies de *Agaricus* (*Agaricus essettei*, *Agaricus bitorquis* e *Agaricus bisporus*) e verificaram que, em geral, as bactérias Gram-positivas foram mais sensíveis ao extrato de cogumelo do que as bactérias Gram-negativas.

CONCLUSÃO

O extrato aquoso não fracionado do cogumelo *A. sylvaticus* apresenta elevado potencial antioxidante, visto que grande parte dos componentes com propriedades antioxidantes foram solubilizados pela água.

Foi observada fraca atividade antifúngica do extrato aquoso não fracionado do

cogumelo *A. sylvaticus*, na concentração de 10% sobre esporos de *Pestalotiopsis* sp., *Alternaria brassicae* e *Fusarium subglutinans*. Porém, para *Penicillium* sp., *Bipolaris sacharum* e *Colletotrichum* sp. não foi observada redução no crescimento micelial destes fungos.

Na avaliação da atividade antimicrobiana, observou-se que todas as concentrações testadas exerceram efeito antimicrobiano sobre *Masterfix* sp., *S. aureus*, *Saccharomyces cerevisiae*. Para *E. coli*, foi observada que apenas a maior concentração do cogumelo *A. sylvaticus*, constituída por 100% do extrato aquoso, inibiu o crescimento da bactéria, visualizado a partir da formação de um halo característico. A avaliação da atividade antimicrobiana sobre *Xantomonas* sp., *S. cerevisiae* e *S. aureus* não apresentou efeito com as concentrações testadas do extrato aquoso não fracionado do cogumelo *A. sylvaticus*.

REFERÊNCIAS

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of analysis**. 15° ed., Washington, D.C., AOAC, 1995.

ANDREA PINTO LOGUERCIO, ALICE BATTISTIN, AGUEDA CASTAGNA DE VARGAS, ANDRÉIA HENZEL, NIURA MAZZINI WITT. **Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells)**. Ciência Rural, v.35, n.2, p.371-6, 2005.

ASSI, L. **Controle de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. Et Magn.) Scrib na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo extrato do cogumelo *Pycnoporus sanguineus* (L.ex Fr.)**. 51p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná/UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon, 2005.

BENTO, K.B.P. **Atividade antimicrobiana e composição mineal do cogumelo shiitake produzido em diferentes substratos**. Tese (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola. Universidade Federal de Viçosa. 2001.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie – Food Science and Technology**, London, v.28, n.1, p.25-30, 1995.

CAMILI, E.C; BENATO, E.A; PASCHOLATI, S.F; CIA, P. **Extrato de *Agaricus blazei* e *Lentinula edodes* no controle pós-colheita de mofo cinzento em uva 'Itália'**. Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia v2 n2 Mai.- Ago. 2009.

COSTA J.V., NOVAES M.R., ASQUIERI E.R. **Chemical and Antioxidant Potential of *Agaricus sylvaticus* Mushroom Grown in Brazil**. J Bioanal Biomed.3:49-54. 2011

ELMASTAS M.; ISILDAK, O. Turkecul I, Temur N. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. J Food Compos Anal 2007;20(3-4):337-45.

FORTES RC, MELO AL, RECÔVA VL, NOVAES MR. Alterações lipídicas em pacientes com câncer colorretal em fase pós-operatória: ensaio clínico randomizado e duplo-cego com fungos *Agaricus sylvaticus*. **Rev Bras Coloproct**. 2008;28(3):281-8.

FORTES. R.C.; NOVÁIS. M.R. C. G. Efeitos da suplementação dietética com cogumelos *Agaricales* e outros fungos medicinais na terapia contra o câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v.52, p.

FORTES, R. C. **Efeitos metabólicos da suplementação dietética com *Agaricus sylvaticus* em pacientes com câncer colorretal em fase pós-operatória.** 2011. p.287. Tese (Doutorado em Nutrição Humana), Faculdade de Ciências da Saúde Humana, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

GODOY, M.F.P. **Atividade antimicrobiana de extratos e frações do cultivo *in vitro* de *Lentinula edodes*, contra *Xanthomonas axonopodis*, *Guignardia citricarpa*, *Colletotrichum sublineolum* e *Tabaco masaic virus*.** Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola. Escola Superior de Agricultura Luíz de Queiroz. Piracicaba-SP. 2008.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas Medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*, v.25, n° 3, p.429-438, 2002.

MATTILA, P.; SUONPAA, K.; PIIRONEN, V. Functional properties of edible mushrooms. *Nutrition*. v. 16 (7/8), p. 694-696, 2000.

MAZZUTTI, S. **Obtenção de extrato de cogumelo do sol (*Agaricus brasiliensis*): atividade antioxidante, antibacteriana e antifúngica.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC. 2012.

MOURA, P. L. C. **Determinação de elementos essenciais e tóxicos em cogumelos comestíveis por análise por ativação com nêutrons.** 2008. 3f. . Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear-Aplicações), Autarquia Associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

NOVAES, M. R. G. et al.; Efeitos do cogumelo *Agaricus sylvaticus* no sistema hematopoético de ratos com tumor Ascítico de Walker 256. *Rev. Bras. Cancerologia*. v. 54, n. 2, p. 147-152, 2008.

OLIVEIRA, R.A.G., LIMA, E.O., VIEIRA W.L., FREIRE K.R.L., TRAJANO V.N., LIMA I.O., SOUZA E.L., TOLEDO M.S., SILVA-FILHO R.N.. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. *Rev Bras Farmacogn* 16: 77-82, 2006.

ORSINE, J. V. C.; BRITO, L. M.; NOVAES MRCG. Cogumelos comestíveis: uso, conservação, características nutricionais, farmacológicas e toxicológicas. *Rev. HCPA*, v. 32. n. 4, p. 456, 2012.

ORSINE, J.V.C.; BRITO, L. M.; SILVA, R.C. ; ALMEIDA, M.F.M.S.; NOVAES MRCG. Cytotoxicity of *Agaricus sylvaticus* in non-tumor cells (NIH3T3) and tumor (OSCC-3) using tetrazolium (MTT) assay. *Nut. Hosp.* 2013;28(4), 1244-54p.

ÖZTÜRK, M. et al. *In vitro* antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. *Food and Chemical Toxicology*, v. 49, n. 6, p. 1353-1360, 2011.

REGIS, W.C.B.; ROSA, A.A.; PEREIRA, N.C.J. **Avaliação dos potenciais benefícios da ingestão do cogumelo *Agaricus blazei* para a microbiota endógena:** análise de efeitos *in vitro* e *in vivo* sobre diferentes linhagens bacterianas. *Percurso Acadêmico*. Belo Horizonte. v.2, n.3, p. 10-18. 2012.

SALES-CAMPOS, C.; OLIVEIRA, L. A.; ARAUJO, L. M.; VAREJÃO, M. J. C.; ANDRADE, M. C. N. Composição mineral de uma linhagem de *Pleurotus ostreatus* cultivada em resíduos madeiros e agroindustriais da região amazônica. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v.29(4), p. 868-872, out.-dez. 2009.

SASAKI, S.H.; LINHARES, R.E.C.; NOZAWA, C.M.; MONTALVÁN, R.; PACCHOLA-MEIRELLES, L. **Strains of *Lentinula edodes* suppress growth of phytopathogenic fungi and inhibit *Alagoas serotype* of vesicular stomatitis virus.** *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, n.32, p.52-55, 2001.

SILVA, M. M. **Cultivo de cogumelos pela técnica Jun-Cao**. 2011. 7f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialista em Microbiologia)-Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

TAVEIRA, V. C. et al. Efeitos do tratamento com *Agaricus sylvaticus* sobre a anemia e os níveis de proteína C reativa em animais com tumor sólido de Walker 256. **Ciências Saúde**, Brasília, p. 222-223, julh/Marc, 2007.

TONUCCI, N.M. **Efeitos de extratos aquosos do basidiocarpo de micélio de *Lentinula edodes* (Shiitake) sobre *Colletrichum sublineolum*, *Alternaria solani*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflirae* e *Tobacco mosaic virus* (TMV)**. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luíz de Queiroz. Piracicaba. 2004.

REGIS, W.C.B.; ROSA, A.A.; PEREIRA, N.C.J. **Avaliação dos potenciais benefícios da ingestão do cogumelo *Agaricus blazei* para a microbiota endógena: análise de efeitos in vitro e in vivo sobre diferentes linhagens bacterianas**. Percurso Acadêmico. Belo Horizonte. v.2, n.3, p. 10-18. 2012.

AUTOCHTHONOUS MICROBIOTA OF THE COCONUT SPROUT (*Cocos nucifera* L.: Arecaceae)

Anna Luiza Santana Neves

Master science student - Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

Amanda Rafaela Carneiro de Mesquita

Laboratório de processamento e análise de alimentos – Departamento de Tecnologia Rural - DTR, UFRPE

Edleide Freitas Pires

Laboratório de processamento e análise de alimentos – Departamento de Tecnologia Rural - DTR, UFRPE

ABSTRACT: Coconut sprout, originated from *Cocos nucifera* L., known as apple or coconut bread is used in gastronomy. Besides flavor enricher, other benefits can be attributed considering the current microbiota. The purpose of this research was to evaluate the coconut sprout microbiota in search of microorganisms that are considered beneficial. There were used 7 fruits with 12 weeks after blooming with the developed sprout. Samples were analyzed accordingly to the validated methodology. The results showed that mesophilic aerobic bacteria, molds, yeast and lactobacilli, compose the coconut sprout microbiota. Thus allowed us to conclude that: the identified microbial load is considered normal for a fresh vegetable product; coliforms are not part of the normal microbiota of the coconut sprout and that the coconut sprout

can be a natural source of *Lactobacillus* spp. being able to use as functional food enricher.

KEYWORDS: coconut sprout, lactobacilli, vegetable autochthonous microbiota

1 | INTRODUCTION

The coconut tree, *Cocos nucifera* L., belongs to the Aracaceae family and is a vast monocotyledon very well explored in the Brazilian bay area, due to the product and sub products multi functionality (Lima et al, 2015). The industrial use of the coconut sprout for feeding purpose is possible through the solid endosperm process or albumen which can be submitted to dryness to the copra obtainment (coconut dry pulp), from where is extracted the coconut oil, or destined to the coconut milk and grated coconut fabrication. The liquid endosperm is commercialized in the natural form as coconut water (Debmandal & Mandal, 2011).

Next to one of the endocarp holes and protected by the solid albumen is the embryo (coconut sprout), which, in its development, consumes all the liquid albumen (Passos, 1998). The use of the coconut embryo, also known as coconut apple, coconut bread or coconut sprout, still is insipient, in spite of the use in culinary. Due to its sensorial and nutritive

characteristics, the coconut sprout is used, mainly by the idealizer gastronomists of dietetic formulations.

In the sprout formation, the fallen coconuts from the coconut tree germinate in the same location. The fruit in this germination state contains water (liquid albumen), which are consumed to feed the embryo that develops in the form of a soft and spongy substance of ivory color, located where before was filled with water (Silva, 2000). The Fig. 1 shows the embryo formation.

The rise of the population interest for natural and functional foods have propelled the food companies in the search for new products with preventive actions in the attempt to guarantee the well-being, health and a lower risk of diseases developments (Achi & Asamudo, 2018). This is the base for the search of products containing lactobacilli and probiotics, mainly of vegetable origin. Therefore, we bet on the possibility of the coconut sprout being used as a new non lacteal vehicle for the lactobacilli consume, with the purpose to reach the special needs consumers, such as the intolerant or allergic to lactose patients or even the vegans and strict vegetarians.

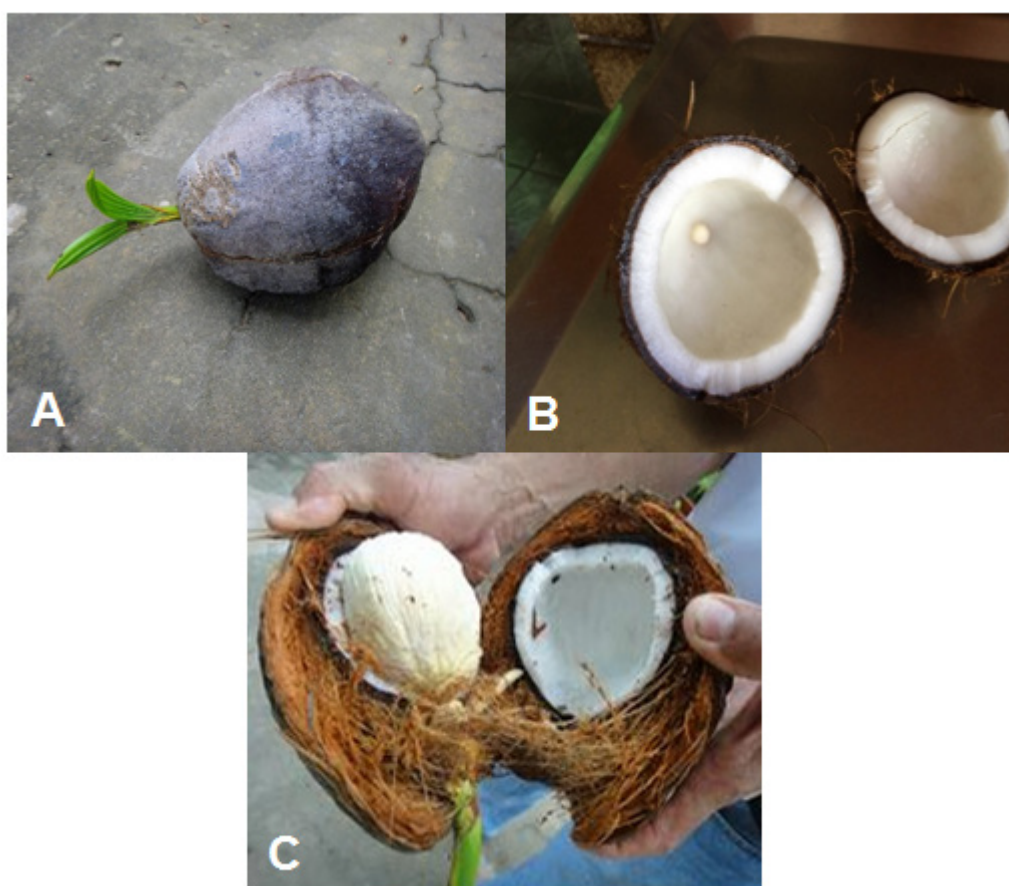


Figure 1: A) Blomming, B) Beginning of the coconut embryo formation; C) Embryo in the advanced stage

The use of the coconut sprout for feeding do not compromise the species maintenance. Laboratorial techniques were used for the cultivation, such as in vitro micro propagation, which guarantee the preservation of each matrix plant. From sections in its embryo axis, there are 5 explants (clones) generated, producing health

seeds with guarantee of greater uniformity in the plantation (GOMES et al, 2004).

2 | MATERIAL AND METHODS

There were used 7 fruits from the dwarf coconut tree 12 months after the floral bunch opening originated from the Vila Verde farm, located in the Goiana/PE- Brazil country. The fruits were randomly selected due to showing browning shell which indicates the fruit dryness and strong weight loss (FONTES, 2002).

To promote the embryo development, the coconuts were stocked on open air, side by side and covered with dirt until two thirds of its height, protected from the sun light direct incidence, during 10 days until the epicotyl showing. In this germination producer, the fruits were kept in 1 meter width lots and irrigation process of mini effusion and with 6 meters radius extension. The plants were irrigated daily with 7 L/ m² by micro sprinkler to guarantee the constant humidity in order to accelerate the rooting process (FONTES, 2002).

The selected fruits (seven) were identified and opened for the embryo removal, which were weighted. For the microbiological analysis of each sample there was taken an analytic unity with 10g dilution in 90mL of saline solution at 0,85%. The mixture was rightfully homogenized in sterile plastic bag (sample bag – 3M) for the preparation of successive dilutions until 10⁻². From each dilution, 1mL portions were inoculated in different culture mediums: Potato Dextrose Agar-PDA acidified, Plate Count Agar-PCA, Petrifilm CC and MRS Broth, for the determination of molds and yeasts, mesophililes, coliforms and lactobacilli, respectively. The plates were incubated in recommended temperatures by validated protocols (PDA at 25°C ± 1°C/3 to 5 days, PCA and Petrifilm CC at 35°C ±1°C/24-48hs and MRS broth in anaerobiosis at 30°C±1°C/7 days) (AOAC, 2002; Silva et al., 2007).

The developed colonies counting in plates were performed after the incubation period and the tubes with MRS broth that showed turbidity were rechouped in MRS agar for the microorganisms identification. Colonies of different morphologies were isolated in MRS plates and characterized by the methodology described in the Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Hammes and Hertel, 2009). Gram-positive, non-sporulating, catalase negative, oxidase negative and rod-shaped bacteria were assumed as being lactobacilli.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Sprout Massa

In spite of controls observed between blossoming and development of the sprout, it was observed great mass variation and in the sprout volume (47,07g to

81,18g, Average = 51,32g) as shown in Fig. 2. This is attributed to variations that usually occur with fruits in general.



Figure 2: Coconut Sprout

3.2 Coconut sprout microbiota

Several kinds of microorganisms were observed in different culture mediums used in the research, accordingly results shown on Table 1.

Although total coliforms were frequent in plant products (Franco, 2008; Jay, 2005), the presence of this group of bacteria in the samples was not observed. This indicates that this group is not part of the autochthonous microbiota of the coconut bud. According to the legislation (BRASIL, 2002), it is expected an absence of coliforms in the microbiological analyzes of fruit pulps, which was evidenced in the present study, possibly due to the internal location of the sprout, which has no direct contact with the culture environment.

SAMPLES	MC (Log CFU.g ⁻¹)	COLIFORMS (Log CFU.g ⁻¹)	MOLDS (Log CFU.g ⁻¹)	YEAST (Log CFU.g ⁻¹)	LACTOBACILLI
A	3.25	<1	3.17	<1	Presence
B	3.67	<1	2.40	<1	Presence
C	3.83	<1	3.32	<1	Presence
D	3.36	<1	2.90	<1	Presence
E	3.85	<1	2.90	<1	Presence
F	4.14	<1	3.54	1	Presence
G	3.55	<1	3.14	1.30	Presence

Tabela1. Coconut sprout autochthonous microbiota

MC= mesophiles counting, CFU= Colony Forming Units. Express results as <1 represent absence of development in the plate considering the method limit.

Express Results with <10 represent absence of development considering method limit.

Low levels of microorganisms in fresh fruits are considered normal (Franco and Landgraf, 2008). Our results were also considered within the expected, once the samples did not present alterations which corroborate Ferreira-Marçal et al (2013) analyzing frozen fruit pulps commercialized in Governador Valadares, Brazil found counts of molds and yeasts that ranged from 1×10^0 to 2.1×10^3 CFU / g.

Of the developed colonies in Agar MRS, two were considered lactobacilli for showing capable characteristics, with the ones described by researchers as

demonstrated by Table 2 (Tabasco et al., 2007).

As stated by Kandler and Weiss (1986), stick shaped bacteria, Gram positive, negative catalase and negative oxidase are suggestive characteristics of *Lactobacillus spp.* Such resemblance rises the interest by the characterization of isolated microorganisms of vegetable products in the coconut sprout since this kind of lactobacilli represents industrial interest.

LAB	Colony aspect	Cell form	Gram	Catalase	Oxidase
1	Whitish coloring, irregular edges, pale with approximately 2mm.	Long bacillus	Positive	Negative	Negative
2	Discoid colonies, whitish coloring, milky, regular edges in diagonal position	Long bacillus	Positive	Negative	Negative

Table 2: Isolated Lactic Acid Bacteria (LAB) characterization

LAB = Lactic Acid Bacteria

Several authors relate the presence of LAB as predominant in natural fermentation (Obilie et al., 2004; Lacerda et al. 2005; Kostinek et al., 2007; Lucena, 2010; Oguntoyinbo & Dodd, 2010; Lacerda et al., 2011). Therefore, it is admitted the presence of lactobacilli and even with probiotic characteristics in the coconut sprout, since it relates equally to a product of vegetable origin. (Lucena et al., 2010)

Coulin et al. (2006) characterized the microbiota of a fermented cassava African product (attiéké). LAB were the predominant microorganisms throughout the fermentation with counts of 1.2×10^9 CFU.g⁻¹. Padanou et al. (2009) studying the fermentation of lafun, another African product obtained from cassava fermentation, also found LAB counts higher than yeast counts.

The most studied microorganisms in food fermentation are the lactic acid bacteria. During fermentation, these bacteria synthesize vitamin and minerals, produce biologically active components with enzymes such as proteinase and peptidase, and remove some non-nutrients (Marsh et al., 2014).

Lactobacilli are often added to beverages to make them probiotic, such as juice and coconut water (Bujna et al., 2017; Giri et al. 2018; Nguyen et al., 2019; Wang et al., 2019). However, the use of lactobacilli from the autochthonous microbiota of the coconut sprout can provide better results since coconut water and coconut sprout already contains beneficial nutrients, it may serve as an ideal food matrix for carrying probiotic bacteria.

4 | CONCLUSIONS

The obtained results of this study indicated that the coconut sprout microbiota is composed by aerobic mesophilic bacteria, molds, yeasts and lactobacilli. The found microbial load was considered normal for a fresh vegetable product; not being an isolated bacteria of coliform group. Suggestive colonies of *Lactobacillus spp.* were founds being part of the autochthonous microbiota of the coconut sprout, being able to be used for enrichment of the foods considered functional, increasing nutritional values of foods as well as to provide protection against some diseases. Besides that, coconut sprout will serve the persons who are unable to consume probiotic dairy products due to severe lactose intolerance and/or milk protein allergy.

REFERENCES

- Achi, O.K.; Asamudo, N.U.; (2018) Cereal-Based Fermented Foods of Africa as Functional Foods. Springer International Publishing. J.-M. Mérillon, K.G. Ramawat (eds.), Bioactive Molecules in Food, Reference Series in Phytochemistry. ISBN online: 978-3-319-54528-8 DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-54528-8_31-1
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists- (2002) Official methods of analysis. 17. Edition, Revision 1: AOAC.
- Bujna, E.; Farkas, N. A.; Tran, A. M.; Dam, M. S.; Nguyen, Q. D. (2017) Lactic acid fermentation of apricot juice by mono- and mixed cultures of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. Food Sci Biotechnol. 27(2):547-554.
- BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS n. 352, de 23 de dezembro de 2002. Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de frutas e/ou hortaliças em conserva e a lista de verificação das boas práticas de fabricação para estabelecimento produtores/industrializadores de frutas e/ou hortaliças em conserva. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 dez. 2002. Seção 1.
- Coulin, P., Farah, Z., Assanvo, J., Spillmann, H., Puhan, Z. (2006) Characterization of the microflora of attiéké, a fermented cassava product, during traditional small-scale preparation. International Journal of Food Microbiology, v. 106, p. 131-136
- Debmandal, M., Mandal, S. (2011) *Coconut (Cocos nucifera L.: Arecaceae): in health promotion and disease prevention*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, v. 4, n. 3, p. 241-247
- Ferreira-Marçal, P.H.; Dias-Souza, M.V.; Villela, E.G.; Luz, L.M.; Pereira, M.K.; Vale, C.H.B.; Rabelo, F.L.A. (2013) Qualidade físico-química, microbiológica e microscópica de polpas de frutas congeladas comercializadas no município de Governador Valadares, MG. NOVA Revista Interdisciplinar de Ciência da Saúde, v.2, n.2
- Fontes, H.R.R.; FERREIRA, J.M.S.; SIQUEIRA, L.A.; (2002) Sistema de produção para a cultura do coqueiro. Aracaju SE. Embrapa Tabuleiros Costeiros. Sistemas de Produção 01.
- Franco, B.D.G.M., Landgraf, M. (2008) Microbiologia dos Alimentos. Colaboradora Maria Teresa Destro/- São Paulo: Editora Atheneu.
- Giri SS, Sukumaran V, Sen SS, Park SC.(2018) Use of a Potential Probiotic, *Lactobacillus casei* L4, in the Preparation of Fermented Coconut Water Beverage. Front Microbiol. doi: 10.3389/fmicb.2018.01976.

Gomes, K.K.P., Oliveira de, V.C., Ledo, A. da S., Ângelo, P.C. da A., Costa, J.L. da S. (2004) Indução de calo a partir de eixo embrionário de coqueiro (*Cocos Nucifera L.*) Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal - SP, v. 26, n. 1, p. 124-126.

Hammes WP, Hertel C (2009). Genus I. *Lactobacillus* Beijerinck 1901. In: De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whitman WB, editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed. Springer Science Business Media, New York, pp. 465-510

Jay, J.M. (2005), *Microbiologia de Alimentos*/ trad. Eduardo Cesar Tondo...[et al]- 6.ed- Porto Alegre: Artmed.

Kandler, O., Weiss, N. (1986) Regular, nonsporing Grampositive rods. In: KRIEG, N.R., HOLT, J.G. (Eds.). *Bergey's Manual of determinative bacteriology*. 9 ed. Baltimore, The Williams and Wilkins Co. p.1208-1234.

Kostinek, M., Spetch, I., Edward, V. A., Pinto, C., Egounlety, M., Sossa, C., Mbugua, S., Dortu, C., Thonart, P., Taljaard, L., Mengu, M., Franz, C. M. A. P., Holzapfel, W. H. (2007) Characterization and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures. *International Journal of Food Microbiology*, v. 114, p. 342–351.

Lima, E.B.C., Sousa, C.N.S., Menezes, L.N., Ximenes, N.C., Júnior, M.A.S., Vasconcelos, G.S., Lima, N.B.C., Patrocínio, M.C.A., Macedo, D., Vasconcelos, S.M.M., (2015) *Cocos nucifera* (L.) (*Arecaceae*): *Uma revisão fitoquímica e farmacológica*. *Braz J Med Biol Res* v.48 n.11

Lacerda, I.C.A.; Miranda, R.L.; Borelli, B.M.; Nunes, A.C.; Nardi, R.M.D.; Lachance, M.A.; Rosa, C.A. (2005) Lactic acid bacteria and yeast associated with spontaneous fermentations during the production of sour cassava starch in Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, v. 105, p. 213-219.

Lacerda, I. C.A., Gomes, F. C. O., Borelli, B. M., Faria JR., C. L. L., Franco, G. R., Mourão, M. M., Morais, P. B., Rosa, C. A. (2011) Identification of the bacterial community responsible for traditional fermentation during sour cassava starch, cachaça and minas cheese production using culture-independent 16S rRNA gene sequence analysis. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 42, p. 650-657.

Lucena, B. T. L. (2010) Diversidade genética de bactérias lácticas presentes em destilaria de álcool combustível nos estados da Paraíba e Pernambuco. 117 f. Tese (Doutorado) - Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco.

Marsh A.J, Hill C.R, P Cotter P.D (2014) Fermented beverages with health-promoting potential: past and future perspectives. *Trends Food Sci Tech*, v. 38, n.2, p. 113–112.

Nguyen, B.T.; Bujna, E.; Fekete, N.; Tran, A. T. M.; Rezessy-Szabo, J. M.; Prasad, R.; Nguyen, Q. D. (2019) Probiotic Beverage From Pineapple Juice Fermented with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Front Nutr*. 2019 May 9;6:54. Obilie, E., Tano-Debraha, K., Amoa-Awua, W. K. (2004) Souring and breakdown of cyanogenic glucosides during the processing of cassava into akyeke. *International Journal of Food Microbiology*, v. 93, p. 115-121.

Oguntoyinbo, F. A., Dodd, C. E. R. (2010) Bacterial dynamics during the spontaneous fermentation of cassava dough in gari production. *Food Control*, v. 21, p. 306-312.

Padanou, S. W., Nielsen, D. S., Hounhouigan, J. D., Thorsen, L., Nago, M. C., Jakobsen, M. (2009) The microbiota of Lafun, an African traditional cassava food product. *International Journal of Food Microbiology*, v. 133, p. 22-30.

Passos, E. E. M., et al. (1998) A cultura do coqueiro no Brasil. 2.ed. Brasília: Embrapa - Serviço de Produção de Informação, p.57-64.

Silva, N, Junqueira, V.C.A., Silveira, N.F.A. (2007) Manual de métodos de análise microbiológica de

alimentos. 3. Ed. São Paulo : Livraria Varela.

Silva, R. I. (2000) Amazônia, Paraíso e Inferno: como sobreviver na selva e no mar. 4 ed. Ed. Catavento, 337p.

Tabasco, R., Paarup, T., Janer, C., Peláez, C., Requena, T. (2007). Selective enumeration and identification of mixed cultures of *S. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. International Dairy Journal, v. 17, n. 9, p. 1107 – 1114.

Wang, K.; Ma C; Gong, G.; Chang, C. (2019) Fermentation parameters, antioxidant capacities, and volatile flavor compounds of tomato juice-skim milk mixtures fermented by *Lactobacillus plantarum* ST-III. Food Sci Biotechnol. 6;28(4):1147-1154.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E DETERMINAÇÃO DE PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE QUEIJO COLONIAL

Janaina Schuh

Instituto Federal Catarinense – Campus
Concórdia
Concórdia – Santa Catarina

Cecília Alice Mattiello

Universidade Estadual de Santa Catarina
Lages – Santa Catarina

Mariane Ferenz

Instituto Federal Catarinense – Campus
Concórdia
Concórdia – Santa Catarina

Marina Ribeiros

Instituto Federal Catarinense – Campus
Concórdia
Concórdia – Santa Catarina

Silvani Verruck

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC
Florianópolis – Santa Catarina

Nei Fronza

Instituto Federal Catarinense – Campus
Concórdia
Concórdia – Santa Catarina

Álvaro Vargas Júnior

Instituto Federal Catarinense – Campus
Concórdia
Concórdia – Santa Catarina

Fabiana Bortolini Foralosso

Instituto Federal Catarinense – Campus
Concórdia
Concórdia – Santa Catarina

André Thaler Neto

Universidade Estadual de Santa Catarina
Lages – Santa Catarina

Sheila Mello da Silveira

Instituto Federal Catarinense – Campus
Concórdia
Concórdia – Santa Catarina

RESUMO: A qualidade do queijo depende diretamente da qualidade do leite, sendo necessário um rígido controle durante todas as fases de processamento. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do queijo colonial, através da enumeração de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli*, contagens de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* sp. e presença de *Salmonella* sp., produzido por um laticínio com Inspeção Federal no oeste de Santa Catarina e também determinar os parâmetros físico-químicos de pH e umidade do produto. Tendo em vista os resultados encontrados, de três lotes avaliados, somente o lote B estava apto para o consumo, de acordo com a legislação vigente. Os lotes A e C apresentaram-se em desacordo com legislação, sob o ponto de vista da contaminação por coliformes termotolerantes e quanto às análises físico-químicas estavam de acordo com a literatura pesquisada.

PALAVRAS-CHAVE: queijo colonial;

contaminação microbiológica; análises físico-químicas.

EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF COLONIAL CHEESE AND DETERMINATION OF PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES

ABSTRACT: The quality of the cheese depends directly on the quality of milk, requiring a strict quality control during all stages of processing. This study aimed to evaluate the contamination of colonial cheese, produced by a dairy plant with Federal Inspection in western Santa Catarina, by coagulase-positive *Staphylococcus* and *Staphylococcus* sp., total and thermotolerant coliforms, presence of *Salmonella*, and also to determine the parameters of pH and moisture of the product. According to the results, only the batch B was suitable for consumption. Batches A and C did not meet the microbiological parameters established by the current legislation for thermotolerant coliforms. Concerning the physical-chemical analysis, all batches were consistent with the literature.

KEYWORDS: colonial cheese; microbiological contamination; physicochemical analysis.

1 | INTRODUÇÃO

O queijo é um alimento de grande comercialização, apresentando vantagens do ponto de vista tecnológico: é um produto de fácil aceitação, apresenta elevado rendimento na fabricação, o que implementa o seu escoamento e distribuição no mercado (FURTADO, 1991).

O queijo colonial, produzido e comercializado na região Sul do Brasil, é um produto de grande aceitação, consumo e produção em quase todo o país. O processo de fabricação inclui a pasteurização rápida (75°C/15 s) do leite integral e o uso de fermento láctico (LÜBECK et al., 2001).

A fabricação de queijos consiste em uma série de operações desde a produção do leite até o último dia de maturação e expedição para o mercado. A qualidade do queijo depende diretamente da qualidade do leite, sendo necessário um rígido controle durante todas as fases de processamento. O que se busca atualmente é a qualidade e segurança dos alimentos, dessa forma a avaliação da qualidade microbiológica do queijo é de primordial importância (FURTADO, 1991).

Os coliformes são membros da família *Enterobacteriaceae* e incluem os coliformes totais, os coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* (FORSYTHE, 2002). Os coliformes são indicadores das condições sanitárias durante o processamento, produção ou armazenamento, pois são facilmente inativados pelos sanitizantes e capazes de colonizar vários nichos das plantas de processamento, quando a sanitização é falha. Também podem ser indicadores de falha pós-processo em alimentos pasteurizados, porque são facilmente destruídos pelo calor e não

devem sobreviver ao tratamento térmico. Além de fornecerem informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento (FRANCO e LANDGRAF, 2005; SILVA *et al*, 2010)

Staphylococcus aureus é uma bactéria patogênica, com reservatório em seres humanos e animais de sangue quente. A doença transmitida por *S. aureus* é uma intoxicação, provocada pela ingestão de toxinas pré-formadas no alimento. As toxinas são resistentes à cocção e às enzimas proteolíticas. *S. aureus* não é resistente ao calor, sendo facilmente destruído na pasteurização eficiente ou na cocção dos alimentos. As toxinas, ao contrário, são altamente resistentes, suportando tratamentos térmicos. Os manipuladores são a fonte mais frequente de contaminação, embora os equipamentos e superfícies do ambiente também possam contaminar os alimentos (SILVA *et al.*, 2010).

A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva está relacionada com a saúde pública, para confirmar o possível envolvimento do produto em surtos de intoxicação alimentar, pois este microrganismo é classificado como causador de doença transmitida por alimentos (DTA). Já a contagem do gênero *Staphylococcus* sp. está relacionada com o controle de qualidade higiênico-sanitária dos processos de produção de alimentos, indicador pós-processo ou das condições de sanificação das superfícies destinadas ao contato com alimentos (SILVA *et al.*, 2001).

As bactérias do gênero *Salmonella* spp. são patogênicas e são responsáveis pelas maiores causas de surtos de toxinfecções alimentares. A contaminação ocorre devido ao controle inadequado de temperatura, de práticas de manipulação incorretas, por contaminação cruzada de alimentos crus com alimentos processados, durante a fabricação ou pela utilização de matéria prima contaminada em processos anteriores à elaboração do queijo (FRANCO e LANDGRAF, 2005; PERESI *et al.*, 2001).

O queijo denominado como “colonial” não possui regulamento técnico de identidade e qualidade (RTIQ) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o que faz com que ainda não se tenha parâmetros definidos a serem seguidos pelos laticínios, mas pode ser enquadrado como um queijo de média umidade (entre 36,0 e 45,9%), de massa semi-dura, de coloração amarelo amanteigada, ligeiramente ácido, com casca fina e amarelada (BRASIL, 1996).

A umidade é um fator intrínseco que está relacionado ao desenvolvimento do sabor e da textura e também ao tempo de maturação dos queijos. Esses fatores podem implicar importantes alterações nas suas características físico-químicas, microbiológicas e organolépticas (TAMIME, 2006).

O valor do pH, ou seja, do potencial hidrogeniônico de um determinado meio, interfere de maneira significativa no crescimento ou no desenvolvimento de microrganismos e, portanto, na seleção da microbiota deteriorante e ou patogênica presente em um alimento. Assim sendo, cada microrganismo tem um valor de pH de crescimento ótimo. Em geral, as bactérias crescem em pH variando de 4,5 a 7,5,

com ótimo oscilando entre os valores 6,5 e 7,0 (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do queijo colonial, produzido a partir de leite pasteurizado por um laticínio de médio porte do oeste catarinense e determinar os parâmetros físico-químicos de pH e umidade do produto.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram coletadas em um laticínio da região oeste de Santa Catarina com registro no SIF (Sistema de Inspeção Federal), aos quinze dias de fabricação (tempo mínimo exigido pelo SIF para a maturação do produto), e transportadas em caixa isotérmica para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Instituto Federal Catarinense – Campus Concórdia. As unidades amostrais foram armazenadas a 8°C, simulando a temperatura de refrigeração de um supermercado, por um período adicional de 30 dias. Foram coletados três lotes diferentes de queijo colonial (denominados A, B e C) com duas peças de queijo de cada lote, e de cada peça foram pesadas duas alíquotas, analisadas individualmente (n=4).

Para o preparo das amostras foram retiradas, assepticamente, porções de várias regiões da peça, totalizando 25g, adicionados de 225 mL de água peptonada 0,1% e homogeneizados em bag mixer, resultando na diluição ou 10^{-1} . A partir desta foram feitas as diluições sucessivas até 10^{-4} .

Foram enumerados coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* pelo método clássico do Número Mais Provável (NMP), conforme a Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2003). Este método inclui o teste presuntivo, em que três alíquotas de três diluições da amostra são inoculadas em uma série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) contendo tubos de Durham. A leitura foi feita a partir do crescimento com produção de gás após 24 – 48 horas de incubação a 35°C, em estufa.

Para a confirmação dos coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli*, uma alçada de cada tubo com produção de gás no caldo LST foi transferida, respectivamente, para tubos de caldo verde brilhante Bile 2% (VB), caldo *E. coli* (EC) e caldo EC adicionado de 4-metilumbeliferil- β -D-glucuronídeo (EC - MUG), incubados nas temperaturas adequadas.

Para o Caldo EC - MUG foi realizada a leitura em câmara com lâmpada de luz ultravioleta para verificar a presença de fluorescência, confirmando ainda a presença de *E. coli* através do teste de indol (SILVA *et al.*, 2010).

A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e do gênero *Staphylococcus* sp. foram realizadas conforme a Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2003). Para tanto, foi realizada a inoculação em Ágar Baird Parker, e as placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Após este período foi realizada a contagem das colônias típicas e atípicas e, na contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, prosseguiu-se com

a inoculação de colônias em caldo BHI e a realização do teste de coagulase.

Para a pesquisa de *Salmonella* sp. foi realizado um pré-enriquecimento da amostra em água peptonada tamponada, com incubação a 35°C por 24 horas. Após, procedeu-se o enriquecimento seletivo em caldo Rappaport Vassiliadis (RV) e caldo Selenito Cistina (SC), incubados a 41,5°C por 24 horas, em banho maria. Para o plaqueamento seletivo e diferencial utilizou-se o ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e o ágar Verde Brilhante (BPLS), com incubação a 35°C por 24 horas. Após, e quando necessário, realizou-se os testes bioquímicos para confirmação de *Salmonella*, de acordo com a Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2003).

A determinação do pH foi realizada pelo método potenciométrico e a umidade foi determinada em estufa a 105°C de acordo com as metodologias preconizadas pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). As análises físico-químicas foram feitas em triplicata.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, estão apresentados os resultados das análises microbiológicas do queijo colonial, para os lotes A, B e C.

Análises microbiológicas	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	C ₁	C ₂
Coliformes Totais (NMP/g)	>1100	>1100	166	268	>1100	>1100
Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	>1100	>1100	166	121	>1100	>1100
<i>E. coli</i> (NMP/g)	>1100	>1100	166	121	>1100	>1100
<i>Staphylococcus</i> sp. (UFC/g)	2,4 x10 ⁵	1,6 x10 ⁵	2,5 x10 ⁵	3,5 x10 ⁵	2,3 x10 ⁵	3,3 x10 ⁵
<i>Staphylococcus</i> coag. Pos. (UFC/g)	<100	<100	<100	<100	<100	<100
<i>Salmonella</i> sp. (25 g)	Aus.	Aus.	Aus.	Aus.	Aus.	Aus.

Tabela 1: Resultados da avaliação microbiológica do queijo colonial ^a.

^aOs resultados referem-se à média da duplicata analisada de cada peça de queijo.

A resolução RDC nº12 (BRASIL, 2001) estabelece padrões microbiológicos para queijos de média umidade, quanto aos coliformes termotolerantes (permitindo um máximo de 5x10² NMP/g para amostra indicativa), estafilococos coagulase positiva (até 10³ UFC/g) e *Salmonella* sp. (ausência em 25 g de amostra). Dessa forma, apenas o lote B se enquadrou dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação vigente, pois os lotes A e C apresentaram resultados superiores ao máximo permitido para coliformes termotolerantes, que são indicadores de contaminação de origem

fecal e condições de higiene dos processos de fabricação (FRANCO, 2005).

Resultados semelhantes foram encontrados na pesquisa realizada por Oliveira et al. (2017), que analisaram 50 amostras de queijo, sendo 14 de queijo mussarela e 36 de queijo Minas Frescal, e observaram que 27,8% das amostras de queijo Minas Frescal estavam em desacordo com a legislação devido à elevada contaminação por coliformes termotolerantes. Para coliformes totais, 55,6% das amostras desse mesmo queijo apresentaram resultados superiores a 1×10^3 NMP/g.

Saleh et al. (2019) avaliaram 19 amostras de queijo Minas Frescal e observaram que 10 amostras (52,6%) apresentaram resultados acima do estabelecido pela legislação para coliformes termotolerantes, e em todas foi confirmada a presença de *E. coli*, detectada pelo teste do Indol.

Na pesquisa feita por Lisita (2005), que analisou queijos Minas também de média umidade em um laticínio com SIF, detectou-se amostras já condenadas antes da comercialização, com contagem de $1,1 \times 10^8$ NMP/g de coliformes termotolerantes.

Sangaletti (2009), estudando a vida útil de queijo Minas, detectou em um dos lotes analisados, $1,7 \times 10^4$ NMP/g de *E. coli*, enquadrando o referido lote como impróprio para o consumo. A presença de coliformes termotolerantes, especialmente de *E. coli* em números elevados, além de indicar más condições higiênicas, evidencia a possibilidade do produto veicular microrganismos patogênicos ao homem (PEREIRA et al., 1999).

Passos et al. (2009) analisaram 45 peças de queijo Minas, sendo 30 queijos com SIF e 15 sem SIF. Observaram que 100% dos queijos sem SIF analisados e 90% dos queijos com SIF, apresentaram contagens superiores a 10^3 NMP/g para o grupo de coliformes a 35°C e *E. coli*. Dessa forma, nota-se a importância da higiene e boas práticas de fabricação em todo o processo.

Para estafilococos coagulase positiva, todos os lotes avaliados no presente estudo enquadraram-se dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação vigente.

Koelln, Mattana e Hermes (2009) observaram contagens inferiores a 10^2 UFC/g de estafilococos coagulase positiva em todas as sete marcas analisadas de queijo tipo mussarela, resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho.

Resultados diferentes foram observados na pesquisa de Carvalho, Viotto e Kuaye (2007), que avaliaram 97 amostras de queijo Minas Frescal comercializadas na cidade de Campinas, SP, e 12,9% das amostras foram condenadas por elevada contaminação por estafilococos coagulase positiva. Saleh et al. (2019), que avaliaram a qualidade microbiológica de queijo Minas Frescal comercializado na cidade de Duque de Caxias – RJ, encontraram 100% de positividade das amostras avaliadas quanto à contaminação por estafilococos coagulase positiva.

Para estafilococos sp., Rocha, Buriti e Saad (2006) reportaram contagens de até $7,83 \times 10^7$ em todas as sete marcas analisadas de queijo Minas Frescal, sendo que todas as amostras apresentavam SIF (Serviço de Inspeção Federal), resultados semelhantes aos encontrados no presente trabalho. Reges et al. (2017), que

avaliaram a qualidade microbiológica do queijo mussarela comercializado a granel no município de Jataí – GO, observaram 40% de contagens superiores à legislação vigente quanto à contaminação por estafilococos sp.

A contaminação das amostras de queijos coloniais por *Staphylococcus* sp. pode ser explicada pelo fato de as principais fontes de contaminação do queijo serem a matéria-prima e a manipulação por pessoas portadoras desses microrganismos (BRANT; FONSECA; SILVA, 2007).

Salmonella sp. não foi detectada em nenhuma das amostras analisadas, estando as mesmas de acordo com a legislação vigente. O mesmo resultado foi encontrado por Reginato et al. (2019), que avaliaram a qualidade do queijo mussarela fatiado comercializado em supermercados no município de Ji-Paraná – RO e também obtiveram resultados satisfatórios nas 20 amostras analisadas. Resultados diferentes foram observados por Castro et al. (2012) que ao avaliar a qualidade microbiológica do queijo mussarela comercializado no CEASA de Vitória da Conquista – BA, observaram presença de *Salmonella* sp. em 33,3% das amostras analisadas.

Na Tabela 2, estão apresentados os resultados das análises físico-químicas dos queijos, para os lotes A, B e C.

Os resultados obtidos para a umidade das amostras analisadas variaram entre 40,86 e 43,39 e denotam que o produto avaliado pode ser enquadrado como um queijo de média umidade.

Lote	pH	Umidade (%)
A ₁	6,06	40,86
A ₂	5,98	41,65
B ₁	5,63	43,39
B ₂	5,58	41,73
C ₁	5,68	41,76
C ₂	5,76	41,81

Tabela 2: Resultados das análises físico-químicas do queijo colonial.^a

^aOs resultados referem-se à média da triplicata analisada de cada peça de queijo.

Os resultados observados foram semelhantes aos encontrados por Ide e Benedet (2001), que avaliaram o queijo colonial serrano no estado de Santa Catarina. Das 25 amostras avaliadas por estes autores no lote A, quatorze queijos apresentaram teor de umidade entre 40 e 45% e quatro entre 35 e 40%. Das 25 amostras coletadas no período B, sete apresentaram umidade variando entre 40 e 45% e quatro entre 35 e 40%. De acordo com Hosken e Furtado (1983), o teor de umidade dos queijos influencia sobremaneira a textura e o sabor do produto.

Os resultados foram semelhantes também aos encontrados por Castro et al., (2014), que observaram um valor médio de umidade de 43,60% para o queijo

Mussarela com leite que apresentava elevada CCS, e um valor médio de 44,14% para o queijo Prato produzido com elevada CCS. A umidade é um fator intrínseco de extrema importância para a vida de prateleira dos alimentos, pois traduz maior predisposição para o crescimento microbiano, devido ao aumento da atividade de água no produto (COELHO, 2007).

Com relação à análise de pH, houve uma variação de 5,58 a 6,06 entre as amostras analisadas. Esta variação pode ocorrer devido à matéria-prima utilizada para a fabricação do queijo, já que os lotes foram fabricados em dias diferentes.

Na pesquisa realizada por Pizaia et al., (2003), ao estudarem queijos Mussarela, observou-se um pH em torno de 5,3. Já Sangaletti (2009) encontrou valores de pH entre 6,66 e 5,85, para o queijo Minas.

O pH é considerado uma determinação importante para caracterizar queijos devido à sua influência sobre a textura, o sabor, a atividade microbiana e a maturação, já que ocorrem reações químicas que são catalisadas por enzimas provenientes do coalho e da microbiota, que dependem do pH para o seu desenvolvimento (FURTADO, 1991).

4 | CONCLUSÃO

Tendo em vista os resultados obtidos neste trabalho, somente um dos lotes analisados (B) estava apto para o consumo de acordo com a legislação vigente, devido à elevada contaminação dos lotes A e C por coliformes termotolerantes.

Por outro lado, as amostras de queijo colonial analisadas estavam adequadas sob o ponto de vista da contaminação por *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella* sp.

Para os parâmetros físico-químicos, o queijo colonial analisado estava de acordo com o estabelecido pela legislação vigente para queijos de média umidade.

Verifica-se a necessidade de atenção constante às boas práticas de fabricação (BPF), em aspectos como uma higienização eficiente, a qualidade da matéria-prima utilizada e a higiene e controle durante todo o processamento. O investimento em técnicas de manipulação adequadas e o treinamento de manipuladores de alimentos são imprescindíveis para a obtenção de alimentos seguros.

5 | AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto.

REFERÊNCIAS

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Ateneu,

1998.

BRANT, L. M. F.; FONSECA, L. M.; SILVA, M. C. C. **Avaliação da qualidade microbiológica do queijo de minas artesanal do Serro-MG.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v. 59, n. 6. p. 1570-1574, 2007.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2001.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento. Secretária de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal, gabinete do ministro. **Aprova Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos.** Portaria de 07 de Março de 1996. Diário Oficial de União, 1996.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2003.

CARVALHO, J. D. G.; VIOTTO, W. H.; KUAYE, A. Y. **The quality of Minas Frescal cheese produced by diferente technological processes.** FoodControl, v. 18, n. 3, p. 262-267, 2007.

CASTRO, A. C.; PINTO JÚNIOR, W. R.; TAPIA, D. M.; CARDOSO, L. G. **Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de queijos do tipo mussarela comercializados no CEASA de Vitória da Conquista – BA.** Alim. Nutr., Araraquara, v. 23, n. 3, p. 407-413, jul/set. 2012.

CASTRO, A. K.; SILVA, L. A. K.; PEREIRA, A. I. A.; ORSINE, V. C. J. **Efeito da contagem de células somáticas sobre a qualidade dos queijos prato e mussarela.** Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. v. 08, n. 01, p. 1237-1250, 2014.

COELHO, K.O. **Efeito da contagem de células somáticas no leite sobre o rendimento e a qualidade do queijo mussarela.** Goiânia, 2007. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Departamento da Escola de Veterinária – Universidade Federal de Goiás, 2007.

FORSYTHE, S, J. **Microbiologia da segurança alimentar.** Porto Alegre: Artmed, 2002.

FRANCO, B. D.; G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2005.

Furtado, M.M. **A arte e a ciência do queijo.** 2.ed. São Paulo: Globo, 1991.

HOSKEN, F.S.; FURTADO, M.M. **Tecnologia de fabricação de queijos.** 3.ed. Juiz de Fora: EPAMIG, 1983.

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

IDE, A. P. L.; BENEDET, D. B. **Contribuição ao conhecimento do queijo colonial produzido na região serrana do estado de Santa Catarina, Brasil.** Ciênc. agrotec., Lavras, v. 25, n. 6, p. 1351-1358, dez, 2001.

KOELLN, S.T.F.; MARRANA, A.; HERMES, E. **Avaliação microbiológica do queijo tipo mussarela e queijo colonial comercializado na região oeste do Paraná.** Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 03, n. 02, p. 66-74. 2009.

LISITA, M. O. **Evolução da população bacteriana na linha de produção do queijo Minas Frescal em uma indústria de laticínios.** Piracicaba, SP. 2005. 61 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

- LÜBECK, G. M.; LARA, J. A. F.; BAGATINI, L.; KAMIKAZE, N. K. K.; MIGLIORANZA, L. H.S. **Avaliação de características físico-químicas e microbiológicas de algumas marcas de queijo tipo colonial produzido no sudoeste do estado do Paraná.** Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v. 56. n. 321. p. 185-193, 2001.
- OLIVEIRA, A.M.; KURIHARA R.Y.; SILVA, F.F.; SILVA F.G.; RIBEIRO- JÚNIOR, J.C.; BELOTI, V. **Condições higiênico-sanitárias da produção de queijos tipo mussarela e minas frescal comercializados no norte do Paraná.** Revista do instituto de laticínios Cândido Tostes. v. 72, n. 1, p. 40-47, 2017.
- PASSOS, A. D.; FERREIRA, G. K.; JULIANI, G. L.; SANTANA, W. H., ARAGON-ALEGRO, L. C. **Avaliação microbiológica de queijos Minas Frescal comercializados nas cidades de Arapongas e Londrina – PR.** Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”, n. 369. v. 64. p. 48-54 jul-ago, 2009.
- PEREIRA, M.L. *et al.* **Estafilococos e alimentos:** possibilidades de disseminação através do portador humano e animal. Higiene Alimentar. São Paulo, v. 13, n. 66/67, p. 48-55, 1999.
- PERESI, J.T. M.; GRACIANO, R.A.S.; ALMEIDA, I.A.Z.C. *et al.* **Queijo Minas tipo frescal artesanal e industrial:** qualidade microscópica, microbiológica e teste de sensibilidade aos agentes antimicrobianos. Rev Hig Alimentar, v.15, p.63-70, 2001.
- PIZAIA, P. D.; SPADOTI, L. M.; NARIMATSU, A.; DORNELLAS, J. R. F.; ROIG, S. M. **Composição, proteólise, capacidade de derretimento e formação de “blisters” do queijo mussarela obtido pelos métodos tradicional e de ultrafiltração.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 23, n. 3, p. 485-491, 2003.
- REGES, J. T.; RODRIGUES, A. C.; SILVA, C. J.; SANTOS, S. M.; MARIA, A. C.; TAVARES, W. R.; JESUS, M. N.; SILVA, S. D. **Qualidade microbiológica e físico química do queijo mussarela a granel comercializadas em Jataí (Goiás, Brasil).** Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales. v. 4, p. 69-77, 2017.
- REGINATO, A. M.; VILIATTI, T. B.; SOBRAL, F. O.; ROMÃO, N. F. **Avaliação microbiológica de queijo tipo mussarela fatiado comercializado em supermercados do município de Ji-Paraná – Rondônia.** Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal. v.13, n.1. p. 89 – 97 jan – mar, 2019.
- ROCHA, J.S.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. **Condições de processamento e comercialização de queijo-de-minas frescal.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v. 58, n. 2, p. 263-272, 2006.
- SALEH, M. M.; VARGAS, D.F.; BASTOS, I.S.; BAPTISTA, R.F.; COSTA, A.P.; KASNOWSKI, M. C.; FRANCO, R. M. **Avaliação microbiológica de queijo Minas Frescal comercializado no município de Duque de Caxias/RJ.** Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal. v. 13, n. 1. p. 78 – 88, 2019.
- SANGALETTI, N.; PORTO, E.; BRAZACA, G.C.S.; YAGASAKI, C. A; DALLA DEA, C. R.; SILVA, M. V. **Estudo da vida útil de Queijo Minas.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 29. n. 2. p. 262-269, abr.-jun, 2009.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A. & SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água.** 4 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F.A., **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** 2 ed. São Paulo: Varela, 2001
- TAMIME, A. Y. **Brined Cheese.** Iowa: BlackwellPublishing. Disponível em: <<http://books.google.com/books>>. Acesso em: 17 de maio de 2016, 2006.

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE QUALIDADE DE DOCE CREMOSO, GELEIAS, CHUTNEY E RELISH DE VEGETAIS

Felipe de Lima Franzen

Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP,
Faculdade de Engenharia de Alimentos,
Departamento de Alimentos e Nutrição
Campinas – São Paulo

Tatiane Codem Tonetto

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM,
Colégio Politécnico da UFSM,
Santa Maria – Rio Grande do Sul

Marialene Manfio

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM,
Centro de Ciências Rurais, Departamento de
Tecnologia e Ciência dos Alimentos
Santa Maria – Rio Grande do Sul

Janine Farias Menegaes

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM,
Centro de Ciências Rurais, Departamento de
Fitotecnia
Santa Maria – Rio Grande do Sul

Marlene Terezinha Lovatto

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM,
Colégio Politécnico da UFSM,
Santa Maria – Rio Grande do Sul

Mari Silvia Rodrigues de Oliveira

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM,
Centro de Ciências Rurais, Departamento de
Tecnologia e Ciência dos Alimentos
Santa Maria – Rio Grande do Sul

produtos passou a ser essencial para a indústria de alimentos, sobretudo, no processamento de frutas e hortaliças. Em que o gerenciamento das etapas produtivas busca evitar perdas e contaminações dos alimentos processados. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar o controle na qualidade dos processados de vegetais, como, doce cremoso, geleias, molhos, chutney e relish. Foram realizadas análises físico-químicas (atividade de água e pH) e microbiológicas (contagem de microrganismos mesófilos aeróbios e de bolores e leveduras). Observou-se variação na atividade de água dos produtos forma de 0,71; 0,92; 0,96; 0,97 e 0,99 para geleia de cebola, doce cremoso, chutney, relish e molho de tomate, respectivamente. E, os valores de pH variaram de 3,34 e 3,87 para geleia de cebola e doce cremoso e 4,15 e 5,39 para chutney e molho de tomate, respectivamente. Os resultados microbiológicos mostraram que o doce cremoso apresentou maior contagem de bolores e leveduras (2,079 log UFC g⁻¹), mas todos os produtos apresentaram as mesmas contagens de microrganismos mesófilos (< 1 log UFC g⁻¹). Deste modo, conclui-se que todos os produtos analisados estão dentro dos padrões de qualidade segundo as legislações, ou seja, todos estão aptos para o consumo.

PALAVRAS-CHAVE: Qualidade alimentar, análises microbiológicas, análises físico-químicas.

RESUMO: O controle de qualidade dos

ABSTRACT: The quality control of products has become essential for the food industry, especially in the processing of fruits and vegetables. In the management of productive steps seeks to avoid loss and contamination of processed foods. In this context, the objective of this study was to evaluate the control on the quality of processed vegetables such as sweet cream, jellies, sauces, chutney and relish. physicochemical analysis (water activity and pH) and microbiological (count mesophilic aerobic microorganisms and molds and yeasts). There was variation in the water activity of the product as 0.71; 0.92; 0.96; 0.97 and 0.99 for onion jelly, creamy sweet, chutney, relish and tomato sauce, respectively. The pH values ranged from 3,34 and 3,87 to jam and candy and 4,15 and 5,39 for chutney and tomato sauce, respectively. The microbiological results showed that the creamy candy showed higher count of molds and yeasts (2,079 log CFU g⁻¹), but all the products had the same counts of mesophilic (< 1 log CFU g⁻¹). Thus, it is concluded that all the products analyzed are within the quality standards according to the laws, that is, all are fit for consumption.

KEYWORDS: Feed quality, microbiological analysis, physicochemical analysis.

1 | INTRODUÇÃO

A higiene industrial tem como principal objetivo a inocuidade sanitária dos alimentos e a minimização ou exclusão de influências que prejudiquem a qualidade e identidade dos mesmos, ou seja, envolve um conjunto de medidas que devem ser adotadas visando impedir a contaminação, a deterioração ou a adulteração de um alimento. Estas medidas tem seu início com a qualidade da matéria-prima, no caso das frutas e hortaliças, deve apresentar características apropriadas ao fim a que se destina, considerando que as etapas tecnológicas posteriores não são capazes de melhorar sua condição inicial (TONDO e BARTZ, 2012).

Várias são as ferramentas, técnicas, métodos e sistemas utilizados pelas empresas na busca da garantia e gestão da qualidade nos diversos âmbitos de produção e serviços, destacando-se a técnica 5S, a qual pode ser usada como apoio, as Boas Práticas (BP), o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), o processo de Análise de Riscos, as normas ISO (International Organization for Standardization), entre outros como os Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) e os Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO), implantados isoladamente ou de maneira integrada (GALLI et al., 2012).

Em que, gerenciar eficazmente cada etapa do processo produtivo, evita contaminações, perdas ou falhas e mantendo a qualidade do produto, o que confere uma necessidade e diferencial na indústria de frutas e hortaliças. Contudo, considerando que estes produtos in natura, minimamente transformados e/ou processados envolvem uma diversidade de estabelecimentos e produtos cujas peculiaridades não podem ser generalizadas (FELLOWS, 2006). As análises de qualidade físicoquímicas e microbiológicas são realizadas para detectar alterações

em um alimento, ou seja, todas as mudanças que tornam o alimento indesejável ou inadequado ao consumo, pela modificação parcial ou total de suas características fundamentais. Além disso, essas análises de qualidade não se restringem somente aos aspectos de modificações que comprometem a qualidade do alimento, mas também à possibilidade desse alimento incorrer em danos à saúde do consumidor (GALLI et al., 2012).

Todos os produtos que serão processados e manipulados podem ser considerados matérias-primas. Estas devem receber muita atenção em relação ao controle higiênico-sanitário, principalmente os produtos proteicos e perecíveis, como os vegetais que merecem atenção devido aos contaminantes degradadores ou patogênicos que podem carregar (TONDO e BARTZ, 2012). As matérias-primas constituem o material básico para a elaboração de alimentos prontos para consumo ou produtos industrializados de qualidade, logo devem ser cuidadosamente selecionadas. Alguns especialistas dizem que nenhuma indústria consegue melhorar uma matéria-prima, mas é fácil piorá-la (TONDO e BARTZ, 2012).

Os alimentos são compostos de proteínas, carboidratos e gorduras, todos possíveis substratos nutritivos para um ou outro tipo de microrganismo. Este conjunto de substratos, junto com a diversidade de atividades metabólicas, sugere grande variedade de tipos de deterioração alimentar. Os métodos de conservação dos alimentos empregam processos físicos ou químicos. Alguns microrganismos são úteis na preparação de itens alimentares de produtos fermentados, como, pickles, iogurte, queijo, salame, entre outros (EVANGELISTA, 2008).

A capacidade de sobrevivência ou de multiplicação dos microrganismos que estão presentes em um alimento depende de uma série de fatores os quais, estão relacionados com as características próprias do alimento (fatores intrínsecos) e os relacionados com o ambiente em que o alimento se encontra (fatores extrínsecos). São considerados fatores intrínsecos a atividade de água (A_a ou A_w), a acidez (pH), o potencial de oxi-redução (Eh), a composição química e a presença de fatores antimicrobianos naturais nos alimentos. Entre os fatores extrínsecos, os mais importantes são a umidade, a temperatura ambiental e a composição química da atmosfera que envolve o alimento (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

O controle de qualidade é um sistema de proteção ao produtor e ao consumidor, pois seu principal objetivo é o de assegurar ao industrial a fabricação de alimentos de excelente padrão e de propiciar ao consumidor produtos em condições de cumprir sua finalidade de alimentar e nutrir (EVANGELISTA, 2008).

Sabe-se que os alimentos podem ter um efeito benéfico ou maléfico sobre a saúde das pessoas. Portanto, a proteção da saúde pública envolve o controle de qualidade dos alimentos, antes de serem consumidos. O número e a severidade de casos de enfermidades transmitidos por alimentos aumentaram muito na última década e são inúmeros os casos de doenças crônicas como alergias e neoplasias (FORSYTHE, 2002; FRANCO; LANDGRAF, 2005; EVANGELISTA, 2008).

Alimentos de qualidade dependem de matérias-primas de qualidade e se, em algumas situações, as matérias-primas não são ideais devido a problemas de mercado ou falta de fornecedores qualificados, a busca por matérias-primas de qualidade e entregues em condições apropriadas, deve ser um dos objetivos dos profissionais da área de alimentos (TONDO e BARTZ, 2012).

A Normativa nº15/78 da Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação (ABIA, 2001), diz que geleias deve ser um produto preparado com frutas, sucos ou extratos aquosos das mesmas, onde podem apresentar frutas inteiras, partes ou pedaços, podendo ter varias formas. Os quais podem ser adicionados açúcares, água, pectina, ácidos, entre outros ingredientes permitidos, de forma, a assegurar sua conservação (RORIZ, 2010).

Os doces em pasta são classificados como cremoso quando a pasta for homogênea e de consistência mole, não devendo oferecer resistência nem possibilidade de corte, resultante do processamento de vegetais com açúcares, adição de água, pectina, entre outros (BRASIL, 1978; ABIA, 2001).

O molho não é apenas um somatório de insumos, que termina em estado líquido ou pastoso, mas sim uma alquimia de elementos que serão harmonizados com os pratos. E, tem como função dar sabor, textura, cor, apelo visual e umidade às preparações (IAC, 2009; KÖVESI et al., 2007). Cada tipo de molhos possui características, formas e técnicas determinadas preparações, onde raramente ocorrem derivações, por exemplo, o chutney e o relish (KÖVESI et al., 2007). Em que o chutney é um molho picante de origem indiana usado no acompanhamento de alimentos como carnes frias, carnes assadas, grelhadas e fondues. Composto por condimento de derivado das frutas, legumes e especiarias (BARREVELD, 1993; MADAKADZE et al., 2004; RIBEIRO et al., 2013). Já o relish é similar à aparência de uma geleia pastosa (SEBESS, 2010; LOVATTO e TONETTO, 2015).

Dentro deste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o controle de qualidade de processados de frutas e hortaliças como doce cremoso, geleias, molhos de tomate, chutney e relish.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

As análises de qualidade dos produtos foram realizadas nos laboratórios do Colégio Politécnico e do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, ambos da Universidade Federal de Santa Maria. Os produtos analisados foram geleia de maçã, geleia de cebola, geleia de uva, doce cremoso de manga, molho de tomate, chutney de abacaxi e relish de manga com pimenta. A partir destes produtos foram feitas análises de controle de qualidade, como análises físicoquímicas (atividade de água e pH) e microbiológicas (contagem de microrganismos mesófilos aeróbios e contagem de bolores e leveduras).

As análises físicoquímicas seguiram os métodos preconizados pela Association

of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005) e as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). As análises foram realizadas em triplicatas, calculada a média dos resultados e o desvio-padrão no Excel®.

A atividade de água (Aa) foi avaliada pelo equipamento Aqualab - Decagon Devices através da quantificação da fugacidade de água e constante dielétrica. O aparelho possui exatidão $\pm 0,015$ e resolução 0,001. O pH foi avaliado por potenciometria, pelo equipamento pHmetro Digimed.

A avaliação da qualidade microbiológica seguiu a Resolução - RDC n.º 12 de 2001, do regulamento técnico para os padrões microbiológicos para alimentos (BRASIL, 2001) e, as análises microbiológicas seguiram a metodologia recomendada pela American Public Health Association (APHA, 1992), nas quais foram preparados os meios de culturas adequados para cada análise, bem como a esterilização dos materiais necessários para as análises.

Para a contagem de microrganismos mesófilos aeróbios, pesou-se 10 g de amostra, adicionou-se 93 mL de água peptonada 0,1% e homogeneizou por aproximadamente 60 segundos em “BagMixer”, em diluição de 10^{-1} . A partir da diluição inicial (10^{-1}), efetuaram-se as demais diluições desejadas em solução salina peptonada 0,1%. Foi semeado 1 mL de cada diluição selecionada em placas de Petri estéreis, adicionando cerca de 15 a 20 mL de meio Ágar padrão para contagem (PCA) fundido e mantido em banho-maria a 46 - 48 °C. Após, as placas foram homogeneizadas adequadamente em forma de oito, o ágar com o inóculo e deixado solidificar em superfície plana. As placas foram incubadas invertidas a 36 °C por 48 h. Após o período de incubação, realizou a leitura das placas contando as colônias presentes nas placas. A partir desta leitura, calculou-se o número de microrganismos presentes na amostra e o resultado expresso em UFC g⁻¹.

Para a contagem de bolores e leveduras, utilizou-se fundido de Ágar batata dextrose 2% (BDA), resfriado em banho-maria até 46 - 48 °C. O meio foi acidificado com pH de 3,5, adicionando 1,5 mL de solução de ácido tartárico 10% para cada 100 mL de meio. Verteu-se nas placas entre 15 a 20 mL e, posto a solidificar em superfície plana. Na sequência foram preparadas as diluições como descrito na análise anteriormente. Inoculou-se 0,1 mL das diluições selecionadas sobre a superfície seca de ágar batata dextrose acidificado a pH 3,5 e com o auxílio de alça de Drigalsky, espalhando o inóculo por toda a superfície do meio, até sua completa absorção. Utilizaram-se duas diluições decimais ou duplicata da mesma diluição. Foi distribuído 1 mL da diluição 10^{-1} em 3 placas (0,4 mL, 0,3 mL e 0,3 mL).

Incubaram-se as placas, sem inverter, a 25 °C, por 5 a 7 dias, em estufa incubadora. Após o período de incubação, realizou-se a leitura das placas em um contador de colônias e calculado o número de microrganismos presentes na amostra e expresso em UFC g⁻¹.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

O comportamento dos resultados dos valores médio das análises físicoquímicas realizadas nos produtos geleias, doce cremoso, molho de tomate, chutney e relish podem ser visto na Tabela 1. Observou-se variação na atividade de água e pH para as geleias, corroboram com o trabalho de Franco e Landgraf (2005) que indicam a atividade de água de ideal para geleias é de 0,70 a 0,80 e valor de pH entre 3,5 a 4,0. A atividade de água obteve variação entre 0,71 para a formulação de geleia de cebola e 0,99 para a formulação de molho de tomate. Esta variação pode ser justificada pelos diferentes tempos de cocção e teor de sólidos solúveis em comparação as outras formulações.

A umidade é um parâmetro de qualidade para os alimentos processados. O excesso de umidade favorece deteriorações no alimento influenciando diretamente na sua conservação. As variações de umidades dos produtos ocorreram provavelmente devido às diferenças das ligações químicas para formação do gel, que é influenciada por diferentes ânions e suas frações iônicas em direção à capacidade de se ligar a água no gel devido à presença de cálcio e/ou açúcar (SANTOS, 2012).

Amostras	Análises Físicoquímicas*	
	Aa	pH
Geleia de maçã	0,81±0,001	3,51±0,010
Geleia de cebola	0,71±0,003	3,34±0,146
Geleia de uva	0,75±0,003	3,40±0,015
Doce cremoso de manga	0,92±0,001	3,87±0,200
Chutney de abacaxi	0,96±0,001	4,15±0,035
Chutney de maçã com pimenta	0,96±0,001	4,31±0,262
Relish de manga com pimenta	0,97±0,001	4,56±0,030

Tabela 1 – Resultados da atividade de água (Aa) e pH realizadas em geleia de maçã, geleia de cebola, geleia de uva, doce cremoso de manga, molhos Chutney e Relish.

* Médias ± Desvio Padrão. Aa = Atividade de água. pH = Potencial Hidrogênico. Fonte: Elaborada pelos autores.

As formulações das geleias e do doce cremoso tiveram o mesmo tempo de cocção, contudo, obteve acréscimo de agentes de corpo, favorecendo a redução da umidade, além disto, a capacidade de retenção do açúcar reduz a concentração de água livre, refletindo os parâmetros de atividade de água e umidade. Ressalta-se que a legislação brasileira vigente para produtos de frutas estabelecidos pela Agência Nacional da Vigilância Sanitária não estabelece valor limite para umidade de geleia (BRASIL, 2005).

Os valores de pH variaram entre 3,3 a 5,3, valores menores que os valores de pH ótimos para o desenvolvimento de bactérias, ou seja, a probabilidade de crescimento bacteriano é pequena mesmo com a atividade de água alta de alguns produtos. Os valores de pH das formulações de geleias e do doce variaram entre 3,3 e 3,8.

Todas as formulações exceto a formulação de geleia de cebola obtiveram valores de pH acima dos valores encontrados por Lago et al. (2006) e Prati et al. (2009) que trabalhando com geleias elaboradas com yacon, goiaba e acerola, caracterizando o valor de pH ideal acima de 3,0.

Os valores das formulações desenvolvidas estão dentro da faixa recomendada por Seravalli e Ribeiro (2004) de 2,5 a 6,5 para formação de gel com pectinas de baixa metoxilação. A pectina de baixa metoxilação é menos sensível a variação de pH que a pectina alta metoxilação (SANTOS, 2012). Para os produtos vegetais como os molhos, chutney e relish o valor de pH máximo é 4,5 (BRASIL, 2005).

Os resultados das análises microbiológicas realizadas nos produtos geleias, doce cremoso, molhos de tomate, chutney e relish estão demonstrados na Tabela 2.

Os resultados das análises microbiológicas demonstraram que os produtos analisados encontram-se dentro dos padrões mínimos aceitáveis pela legislação (BRASIL, 2001). Foi encontrado, por meio de contagem de microrganismos mesófilos aeróbios, $< 1 \log \text{ UFC g}^{-1}$ para todos os produtos e, a maior contagem de bolores e leveduras foi $2,079 \log \text{ UFC g}^{-1}$ para o doce cremoso de manga.

Amostras	Análises Microbiológicas*	
	Contagem mesófilos aeróbios	Contagem bolores e leveduras
Geleia de maçã	$< 1 \times 10^1$	6×10^1
Geleia de cebola	$< 1 \times 10^1$	4×10^1
Geleia de uva	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Doce cremoso de manga	$< 1 \times 10^1$	$1,2 \times 10^2$
Chutney de abacaxi	$< 1 \times 10^1$	2×10^1
Chutney de maçã com pimenta	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Relish de manga com pimenta	$< 1 \times 10^1$	4×10^1

Tabela 2 – Resultados das contagem de microrganismos mesófilos aeróbios, bolores e leveduras em geleia de maçã, geleia de cebola, geleia de uva, doce cremoso de manga, molhos *Chutney* e *Relish*.

* = UFC g^{-1} ou mL^{-1} . Fonte: Elaborada pelos autores.

Para produtos de frutas como geleias, doces e similares os limites aceitáveis pela legislação são de $< 4 \log \text{ UFC g}^{-1}$, os quais mostraram estar dentro do padrão microbiológico estabelecido pela legislação (BRASIL, 2001). Os limites aceitáveis pela legislação para contaminação microbiológica em outros produtos de vegetais como molhos, chutney e relish são de $< 2 \log \text{ UFC g}^{-1}$ (BRASIL, 2001; 2005).

4 | CONCLUSÕES

Na produção de alimentos, é essencial que medidas apropriadas sejam tomadas para garantir a segurança e a estabilidade do produto durante toda a sua vida de prateleira. Deste modo, todos os produtos analisados, como: doce cremoso, geleias,

molhos de tomate, chutney e relish, estão de acordo com os padrões de qualidade conforme a legislação brasileira e, aptos para o consumo.

REFERÊNCIAS

- ABIA - Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação. Legislação Brasileira para geleia de frutas. 2001.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists International. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18. ed, Washington, p. 35-38, 2005.
- APHA - American Public Health Association. Technical committee on microbiological methods for food. In: Vanderzant C, Splittstoesser DF. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3rd ed. Washington, 1992, p. 336-383.
- BARREVELD, W. H. Date palm products. Agricultural Services Bulletin No 101. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. Decreto-Lei nº 97/84, de 28 de Março. Produção, comercialização e consumo de doces, geleias, compotas e outros produtos derivados de frutos. 1993.
- BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 02 de janeiro de 2001.
- BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. RDC nº 272, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para produtos de vegetais, produtos de frutas e cogumelos comestíveis. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 de setembro de 2005.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução Normativa nº. 15 de 4 de maio de 1978. Define termos sobre geleia de frutas.
- EVANGELISTA, J. Tecnologia de alimentos. 2 ed. São Paulo: Atheneu; 2008. 674 p.
- FELLOWS, P. J. Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática. 2. ed. Ponto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.
- FORSYTHE, S. J. Microbiologia da segurança alimentar. Porto Alegre: Artmed, 2002. 410p.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 2005. 182p.
- GALLI, D. C.; RODRIGUES, R. S.; MACHADO, M. R. G. Tecnologia de frutas e hortaliças: segurança e qualidade. Módulo II. 2 ed. rev. Pelotas: Ed. Universitária da UFPEL, 2012.
- IAC - Instituto Americano de Culinária (IAC). Chef profissional. 3 ed. São Paulo: Senac Editoras, 2009.
- IAL - Instituto Adolfo Lutz (IAL). Zenebon O, Pascuet NS, Tiglea P. (coordenadores). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Versão eletrônica. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.
- KÖVESI, B.; SIFFERT, C.; CREMA, C.; MARTINOLI, G. 400g – Técnicas de cozinha. São Paulo: Editora: Companhia Editora Nacional, 2007. 576p.
- LAGO, E. S.; GOMES, E.; SILVA, R. Produção de geleia de jambolão (*Syzygium cumini* lamarck): processamento, parâmetros físico – químicos e avaliação sensorial. Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos. v.26, n.4, p.847-852, 2006.

LOVATTO, M. T.; TONETTO, T. C. Processamento de frutas e hortaliças. Santa Maria: UFSM, Colégio Politécnico, 2015. 93 p.

MADAKADZE, R.; MASARIRAMBI, M.; NYAKUDYA, E. Processing of horticultural crops in the tropics in production practices and quality assessment of food crops, Vol. 3, "Quality Handling and Evaluation", 2004. 371–399 p.

PRATI, P.; MORETTI, R. H.; CARDELLO, H. M. A. M. Elaboração de bebida composta por mistura de garapa parcialmente clarificada-estabilizada e suco de frutas ácidas. Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, v. 25, n.1, p. 147-152, 2009.

RIBEIRO, A.; RAIMUNDO, A.; LARANJEIRA, C.; MIRA, H.; DIAS, I.; FARO, M. Desenvolvimento de diferentes formulações de chutney. Revista da Unidade de Investigação do Instituto Politécnico de Santarém. v. 2, p. 164-176, 2013.

RORIZ, V. Nutrição em Foco. São Paulo, 2010.

SANTOS, C. O. Aproveitamento Industrial de "mel" de cacau (*Theobroma cacao* L) na produção de geleia sem adição de açúcar. Dissertação. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

SEBESS, M. G. Técnicas de cozinha profissional. Rio de Janeiro: Senac Nacional, 3ª Ed. Editora SENAC. 2010. 360 p.

SERAVALLI, E. A. G.; RIBEIRO, E. P. Química de alimentos. São Paulo: Edgard Blucher Ltda., 2004. 311p.

TONDO, E. C.; BARTZ, S. Microbiologia e sistemas de gestão da segurança de alimentos. Porto Alegre: Sulina, 2012. 263 p.

AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE VIDA DE PRATELEIRA ACELERADA EM PÃO DE ALHO

Thainá Rodrigues Stella
Jessica Basso Cavalheiro
Jéssica Loraine Duenha Antigo
Leticia Misturini Rodrigues
Jane Martha Graton Mikcha
Samiza Sala Michelin
Grasiele Scaramal Madrona

RESUMO: O presente trabalho teve como objetivo avaliar a vida de prateleira de pão de alho comercial de uma empresa da cidade de Maringá-Pr. Para tanto foram realizadas análises de atividade de água e bolores e leveduras durante 30 dias sendo os resultados avaliados por meio de testes acelerados e modelos matemáticos. Avaliando-se a vida de prateleira pela cinética de Arrhenius, a análise de bolores e leveduras não se mostrou eficaz, entretanto, considerando os dados de aW, obtidos durante 30 dias em armazenamento em BOD a 25, 35 e 50 °C, foi possível obter os valores de energia de ativação - E_a (1347,74 cal.mol⁻¹.K⁻¹) e o fator de aceleração da temperatura - Q_{10} (1,079) e assim foi determinada a vida de prateleira do pão de alho em aproximadamente 21 dias a 25 °C, na embalagem e condições de processamento utilizadas pela referida empresa. O método de vida de prateleira acelerado se mostrou interessante para ser utilizado por indústrias alimentícias.

PALAVRAS - CHAVE: microbiologia, teste acelerado, atividade de água.

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the commercial shelf life of “pão de alho” from a company in the city of Maringá-Pr. For this, analyzes of water activity (aW) and molds and yeasts were carried out for 30 days and the results were evaluated through accelerated tests and mathematical models. When evaluating shelf life by Arrhenius kinetics, mold and yeast analysis was not effective, however, considering the aW data, obtained during 30 days in BOD storage at 25, 35 and 50 °C, it was possible to obtain the activation energy values - E_a (1347.74 cal.mol⁻¹.K⁻¹) and the temperature acceleration factor - Q_{10} (1.079) and thus the products shelf life was determined in approximately 21 days at 25 °C, on the packaging and processing conditions used by that company. The accelerated shelf life method has proved to be interesting for use by food industries.

KEYWORDS: microbiology, accelerated test, water activity.

1 | INTRODUÇÃO

O pão é um produto obtido por cocção, onde a massa pode ser fermentada ou não e

que necessita da formação da rede de glúten, proveniente da farinha de trigo ou outros tipos de farinha, é adicionado de água e ainda permite a adição de outros ingredientes, cobertura, recheio (BRASIL, 2005). O pão de alho é um produto obtido da produção de pão francês adicionado de pasta de alho. O alho tem compostos fitoquímicos que confere capacidade terapêutica para saúde, além de possuir ação antimicrobiana (MARCHIORI, 2005).

Dessa forma, o pão está exposto ao ataque de microrganismo por ter um valor nutritivo considerável, com cerca de 40% de umidade e atividade de água entre 0,94 e 0,97. Mesmo que a carga microbiana após o forneamento seja muito baixa, o pão pode ser recontaminado por esporos de fungos e outros microrganismos presente no ambiente, superfícies e manipuladores (FREIRE, 2011).

Caso existam condições como atividade de água (aW) menor que 0,94, temperatura entre 25-28 °C e substrato rico em carboidratos, as leveduras irão se multiplicar. Para o desenvolvimento de bolor a aW mínima é 0,80, o que tornará o produto inaceitável devido ao aparecimento de micélio (FRANCO; LANGRAF, 2008).

A aW é a água disponível em um alimento (GARCIA, 2004), que varia de 0 a 1 e quanto mais próximo de 1, maior a sua atividade de água (CELESTINO, 2010). Esta água está disponível para reações químicas, físicas e microbiológicas, sendo um fator intrínseco que permite avaliar as características que interferem diretamente no *shelf-life* (LABUZA, 1984). De acordo com Giménes, Ares e Ares (2012), a vida de prateleira é o tempo em que um alimento se mantém seguro, com a quantidade nutricional descrita na embalagem do produto e mantendo as características sensoriais, físicas, químicas e microbiológicas adequadas para o consumo.

Testes acelerados podem ser utilizados para qualquer processo de deterioração que apresente um modelo cinético válido, seja bioquímico, químico, microbiológico ou físico (MAN, 2004). Eles são usados de modo a extrapolar parâmetros que interferem no processo, como umidade, temperatura e assim obtém-se a vida de prateleira do produto em condições normais de estocagem (HOUGH; GARITTA; GÓMEZ, 2006).

Muitos métodos acelerados são baseados no modelo de Arrhenius (TAUB; SINGH, 1998; MAN, 2004), onde é possível expressar taxas de reações em função da temperatura, calcular os parâmetros cinéticos, a energia de ativação (E_a) e o fator Q10 (fator de aceleração da temperatura). Esses parâmetros descrevem o quão rápido ocorrerá a reação ao manter uma temperatura controle e as temperaturas extrapoladas (LABUZA, 1984).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a vida de prateleira de pão de alho mediante método acelerado.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

As embalagens com 300 g de pão de alho tradicional, todos de um mesmo lote, foram obtidos comercialmente por uma indústria da região de Maringá (PR) os reagentes para análise foram de grau analítico.

2.2 Determinação da vida de prateleira

Foram utilizadas 40 embalagens de pão de alho para acondicionamento em três estufas tipo BOD's, a 25 °C (amostra controle), 35 °C e 50 °C (amostras em condição acelerada), tais temperaturas foram escolhidas devido a comercialização do pão ser a temperatura ambiente. Dessa forma, foram realizadas análises de atividade de água e contagem de bolores e leveduras, nos tempos de 0, 10, 17, 21 e 30 dias, sendo que em cada análise/tempo era aberta uma nova embalagem. Com esses parâmetros, foram realizados os cálculos do teste de vida de prateleira acelerado proposto por LABUZA (1982).

As reações que seguem o modelo cinético de primeira ordem ocorrem quando a velocidade depende da concentração do reagente e a taxa de perda da qualidade do produto diminui exponencialmente em um dado período de armazenagem. Este tipo de reação é utilizado quando se tem destruição térmica dos microrganismos, reações de oxidação de lipídeos e inativação enzimática (LABUZA, 1982). Matematicamente a reação de primeira ordem é dada pela seguinte equação (LABUZA, 1982):

$$-vp = dC_p/dt = KC_p \quad (1)$$

Onde vp é a velocidade da reação, c_p é a concentração do componente P, k é a constante da reação e t o tempo.

O efeito térmico é um fator que influencia na velocidade das reações químicas e possui grande importância quando se trata de degradação dos alimentos, sendo assim quantificar este parâmetro possibilita compreender a vida de prateleira de um produto. Este efeito térmico é explicado pela cinética de Arrhenius (LABUZA 1980) e é dado pela equação:

$$(d(\ln K))/dT = E_a/RxT^2 \quad (2)$$

Em que k é a constante da velocidade da reação, E_a a energia de ativação em cal.mol^{-1} , T a temperatura em escala absoluta (K), R é a constante universal dos gases ($1,987 \text{ cal.mol}^{-1}.\text{k}^{-1}$).

Integrando-se a equação (2) obtém-se:

$$\ln K = -E_a/RT + \ln K_0 \quad (3)$$

Ao plotar um gráfico de escala linear, o valor do logaritmo da constante da velocidade da reação versus o inverso da temperatura absoluta obtém-se a representação gráfica da equação de Arrhenius, onde a inclinação da reta representa E_a/R , (Figura 1) e é possível obter a energia de ativação da reação das reações de degradações dos alimentos. (LABUZA, 1980; LABUZA, 1982).

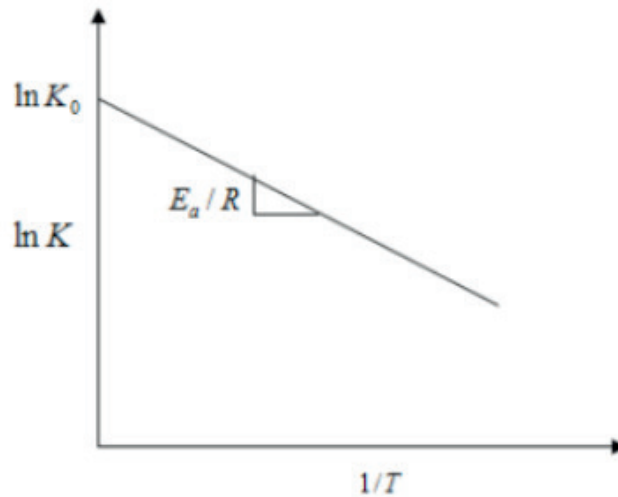


Figura 1 Representação do gráfico da equação de Arrhenius

A partir da obtenção da energia de ativação (E_a) determina-se o fator de aceleração da temperatura (Q_{10}) dado pela equação 4 ou pelo quociente entre as vidas de prateleira a uma determinada temperatura e a uma temperatura 10 °C mais alta (equação 5), expresso abaixo (LABUZA, 1985):

$$[Q_{10} = 10]^{(E_a/0,46xT^2)} \quad (4)$$

$$Q_{10} = (V.P(T - 10))/(V.P(T)) \quad (5)$$

Em que T é a temperatura absoluta e V.P a vida de prateleira.

Conhecendo o valor de Q_{10} , é possível estimar a vida de prateleira do produto em outras temperaturas de armazenamento, desde que estejam dentro da faixa de temperatura utilizada na sua determinação (LABUZA, 1985).

2.3 Análises de atividade de água (aW) e microbiológica

A medida de atividade de água foi realizada a 25 °C utilizando o aparelho AW 43, em duplicata.

Para a análise microbiológica, foram utilizadas placas constituídas por um meio Ágar batata da Kasvi para contagem de bolor e levedura, tal análise foi realizada em duplicata no laboratório de microbiologia da UEM. O meio utilizado estimou quantas UFC/g estão presentes na amostra conforme AOAC 997.02 (2000).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Determinação da vida de prateleira

As tabelas mostram os dados obtidos na contagem de bolor e levedura (Tabela 1) e atividade de água (Tabela 2) em diferentes tempos e temperaturas.

Tempo (dias)	TEMPO	25°C	35°C	50°C
Contagem bolor (UFC/g)	0	<1x10 ²	<1x10 ²	<1x10 ²
	10	<1x10 ²	<1x10 ²	<1x10 ²
	17	<1x10 ²	<1x10 ²	<1x10 ²
	21	<1x10 ²	<1x10 ²	<1x10 ²
	30	<1x10 ²	<1x10 ²	<1x10 ²
Contagem levedura (UFC/g)	0	4,9 x10 ⁴	2,1 x10 ⁶	<1x10 ²
	10	<1x10 ²	<1x10 ²	<1x10 ²
	17	9,15x10 ⁴	3,6x10 ⁵	<1x10 ²
	21	1,19x10 ⁶	1x10 ²	<1x10 ²
	30	9,75x10 ⁴	4,95x10 ⁴	<1x10 ²

Tabela 1 Contagem de bolor e levedura, nas temperaturas de 25°C, 35°C e 50°C durante 30 dias

Não há na legislação referência para contagem de bolor e levedura em pães, porém houve a necessidade de fazer esta análise por solicitação da empresa devido ao problema que a mesma encontrava com o desenvolvimento de fungos visíveis a olho nu antes do término da validade (30 dias), principalmente pela preocupação pois segundo Valsechi (2006) o bolor é um microrganismo produtor de micotoxinas e a levedura é deteriorante. Segundo Freire (2011), os produtos de panificação que possuem alta atividade de água são propícios ao desenvolvimento de microrganismos.

Tempo (Dias)	Aw - 25°C	Aw - 35°C	Aw - 50°C
0	0,937 ± 0,0040	0,937 ± 0,0040	0,937 ± 0,0040
10	0,923 ± 0,0035	0,917 ± 0,0092	0,928 ± 0,0007
17	0,912 ± 0,0021	0,913 ± 0,0021	0,912 ± 0,0007
21	0,877 ± 0,0057	0,878 ± 0,0007	0,886 ± 0,0028
30	0,882 ± 0,0007	0,884 ± 0,0007	0,868 ± 0,0014

Tabela 2 Atividade de água nas temperaturas de 25°C, 35°C e 50°C durante 30 dias

Com essas análises, nota-se que há apenas o desenvolvimento de leveduras, já que não houve contagem de bolor durante todo o armazenamento e em todas as temperaturas (tabela 1). Houve um crescimento desordenado de leveduras nas temperaturas de 25 e 35°C, possivelmente devido à falta de padrão encontrada nos produtos dentro de um mesmo lote. Além disso, na temperatura de 50°C não houve crescimento significativo de leveduras devido ao ressecamento dos pães, em que ocorreu a redução de sua aW e prejudicou a sua multiplicação.

A partir da tabela 2 observou-se uma alteração da atividade de água considerável com o aumento de tempo de armazenamento nas devidas temperaturas, o que indica que a cinética de diminuição da atividade de água pode ser um parâmetro para estimar a energia de ativação (E_a), o valor de Q_{10} e conseqüentemente estimar a vida de prateleira em diferentes temperaturas de armazenamento (MOREIRA, 2018).

Além disso, foi perceptível que o ressecamento, acompanhado do escurecimento dos pães se intensificaram após 21 dias de armazenamento quando comparados ao primeiro dia e como descrito por Robertson (2005), a aW é importante para controlar reações químicas que reduzem a vida de prateleira, tendo um importante efeito sobre as propriedades texturais dos alimentos.

Em 21 dias, a aw chegou ao valor de 0,877 em 25°C (tabela 2), portanto, esta foi a base de cálculo estipulada, pois de acordo com Freire (2011), a aW do pão em condições normais varia de 0,94 a 0,97.

Para realizar os cálculos da cinética de Arrhenius, conforme já citado o parâmetro de contagem de bolor foi desconsiderado dos cálculos, não sendo possível utilizá-los por apresentarem um valor constante em sua contagem. Já para a levedura, mesmo que havendo uma contagem nas temperaturas de 25 e 35°C, seu crescimento não foi gradativo, impossibilitando a utilização deste dado para os cálculos e estimativa de dias.

Dessa forma, utilizou-se o parâmetro de atividade de água para calcular a vida de prateleira do pão de alho. A figura 2 mostra o gráfico do modelo cinético de primeira ordem, gerado ao plotar os dados de aW.

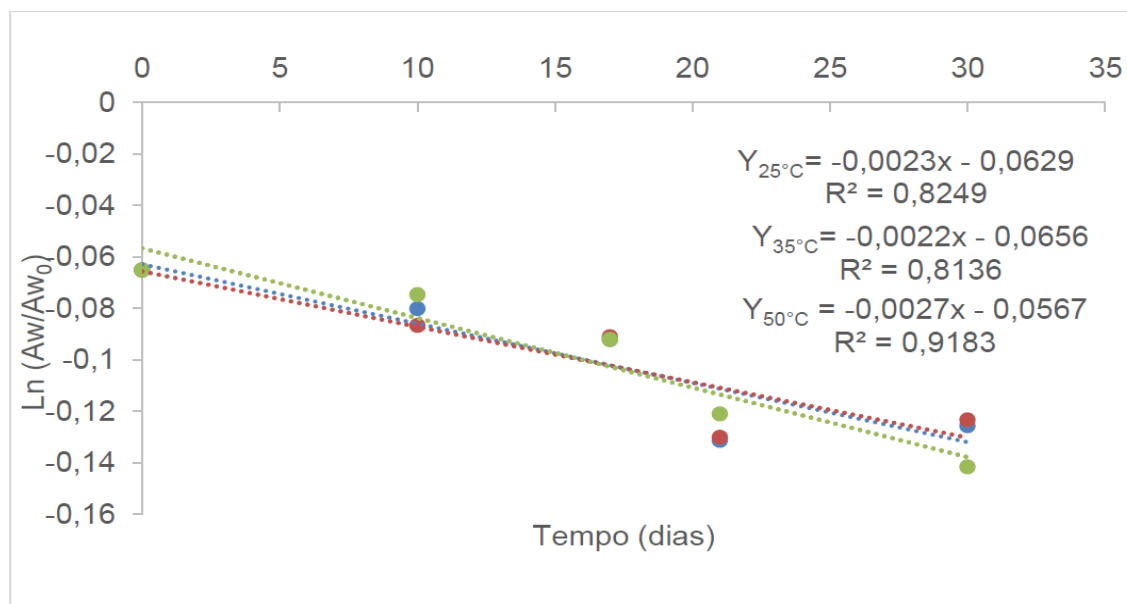


Figura 2 Modelo cinético de primeira ordem para diminuição da atividade de água no pão de alho, armazenado nas três temperaturas

Os valores das constantes de velocidade (k) da atividade de água foram de $-0,0023 \text{ dias}^{-1}$ (25°C), $-0,0022 \text{ dias}^{-1}$ (35°C) e $-0,0027 \text{ dias}^{-1}$ (50°C).

A partir dos valores da constante de velocidade, plotou-se o gráfico (figura 3) em escala linear da constante da velocidade da reação versus o inverso da temperatura (K), para o cálculo da E_a e Q_{10} .

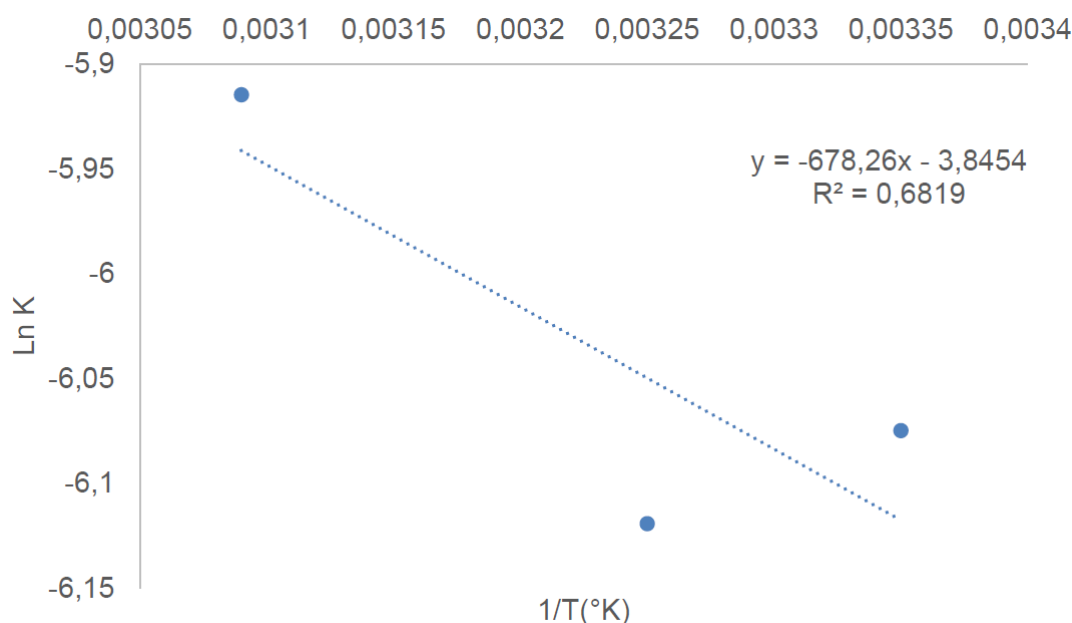


Figura 3 Efeito da temperatura sobre a constante de velocidade de diminuição da atividade de água no pão de alho

Os testes acelerados não permitem obter um valor de R^2 próximo de 1, como mostrado também no trabalho realizado por Moreira (2018), com R^2 de 0,7979, porém este é um método muito utilizado pelas indústrias de alimentos devido ao

baixo custo de realização.

A partir da figura 3 obteve-se $1347,74 \text{ cal.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ para E_a e a partir da equação 4, o valor de 1,079 para Q_{10} . Então, como suposto que em $25 \text{ }^\circ\text{C}$ o *shelf-life* do pão de alho em questão é de cerca de 21 dias, com o valor de Q_{10} (equação 5), foi possível determinar a vida de prateleira de 19 dias para $35 \text{ }^\circ\text{C}$ e de 18 dias para 50°C .

Escassos são os trabalhos publicados de *shelf-life* acelerado, em produtos panificados não foi encontrado nenhum dado passível de comparação. Em um estudo semelhante sobre a determinação de *shelf-life*, Moreira (2018), analisou a qualidade do suco de abacaxi adicionado de polpa de yacon a partir da degradação de vitamina C, onde a vida de prateleira do produto armazenado a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ foi de 10 dias e a partir do valor de Q_{10} de 1,24, foi calculado a vida de prateleira do produto a $7 \text{ }^\circ\text{C}$ que foi de 19 dias.

Mesmo a textura sendo um fator que reduz a qualidade do pão, o prazo de validade encontrado pode ser variável (BOURNE, 2002), já que, a partir de informações da empresa, havia uma maior devolução de pães com presença de fungos visíveis a olho nu em períodos chuvosos e úmidos, e em menor quantidade em períodos de clima mais seco. Outro fator que pode justificar a variabilidade desta vida de prateleira é a falta de padrão do produto, pois segundo Giese (2000), pães com variação na coloração da casca está diretamente ligada à falhas no processo de fabricação.

4 | CONCLUSÃO

Pela cinética de Arrhenius e utilizando a aW como base de cálculo, estimou-se a vida de prateleira do pão de alho na embalagem e condições avaliadas em aproximadamente 21 dias, se armazenados em $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Com isso, foi possível esclarecer o problema ocorrente com as devoluções dos pães, pois o prazo de validade indicado na embalagem pela empresa é de 30 dias, ou seja, superior ao valor obtido.

Assim o método de análise de vida de prateleira acelerada se mostrou interessante para ser utilizado por indústrias de panificados, como é o caso do pão de alho.

REFERÊNCIAS

CELESTINO, Sonia Maria Costa. Princípios de secagem de alimentos. **Planaltina: Embrapa Cerrados**, 2010.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. Artmed Editora, 2013.

FRANCO, Bernadette Dora Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. Microbiologia dos alimentos. In: **Microbiologia dos alimentos**. 2003.

- FREIRE, F. A deterioração fúngica de produtos de panificação no Brasil. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2011.
- GARCIA, Denise Marques. **Análise de atividade de água em alimentos armazenados no interior de granjas de integração avícola**, 2004.
- GIMÉNEZ, Ana; ARES, Florencia; ARES, Gastón. Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. **Food research international**, v. 49, n. 1, p. 311-325, 2012.
- HORWITZ, Wiliam; LATIMER, G. Official Methods of Analysis of AOAC International, Gaithersburg MA, USA. **Association of Official Analytical chemist**, 2000.
- HOUGH, Guillermo; GARITTA, Lorena; GÓMEZ, Guadalupe. Sensory shelf-life predictions by survival analysis accelerated storage models. **Food Quality and Preference**, v. 17, n. 6, p. 468-473, 2006.
- LABUZA, Theodore P. Application of chemical kinetics to deterioration of foods. 1984.
- MAN, C. M. D. Shelf-life testing. **Understanding and Measuring the Shelf-life of Food**, v. 21, p. 340, 2004.
- MARCHIORI, Vanderli Fátima. Propriedades funcionais do alho (*Allium sativum* L.), 2005.
- MOREIRA, Thaysa Fernandes Moya. **Avaliação da vida de prateleira de suco de abacaxi adicionado de polpa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*)**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- SEIXAS, Fernanda; BARBOSA, Celso Gonçalves. Checklist para diagnóstico inicial das boas práticas de fabricação (bpf) em estabelecimentos produtores de alimentos da cidade de São José do Rio Preto (sp). **Cerne**, v. 11, n. 1, p. 40-48, 2005.
- SILVA, Laís Aparecida; CORREIA, Angela de Fátima Kanesaki. Manual de boas práticas de fabricação para indústria fracionadora de alimentos. **Revista de Ciência & Tecnologia**, v. 16, n. 32, p. 39-57, 2009.
- TAUB, Irwin A.; SINGH, R. Paul (Ed.). **Food storage stability**. CRC Press, 1997.
- ROBERTSON, Gordon L. **Food packaging: principles and practice**. CRC press, 2005.
- VALSECHI, Octávio Antônio. Microbiologia dos alimentos. **Universidade federal de São Carlos Centro de Ciências Agrárias, departamento de tecnologia agroindustrial e socioeconomia rural. Araras, São Paulo**, 2006.

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE CAFÉS SOLÚVEIS COMERCIAIS

Lívia Alves Barroso

UFVJM, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Diamantina - MG

Iara Lopes Lemos

UFVJM, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde
Diamantina - MG

João Vinícios Wirbitzki da Silveira

UFVJM, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Diamantina - MG

Tatiana Nunes Amaral

UFVJM, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Diamantina - MG

RESUMO: A diminuição do tempo disponível para preparação de alimentos concomitante ao fato do café ser uma das bebidas mais consumidas no mundo diariamente, impulsiona a indústria de cafés solúveis, o que tem influenciado no crescimento ao longo dos anos não apenas no fator qualidade mas também no processamento. O objetivo do trabalho foi avaliar fisicamente os cafés solúveis disponíveis no mercado. Os resultados obtidos demonstraram que os cafés solúveis de todas as marcas apresentaram valor de atividade de água inferior 0,3, que é um bom resultado para

um produto seco, porém apenas a amostra A teve a umidade recomendada pela legislação.

PALAVRAS-CHAVE: Café instantâneo; Secagem; *Spray-dryer*.

EVALUATION PHYSICO-CHEMICAL OF COMMERCIAL SOLUBLE COFFEES

ABSTRACT: The reduction of the time available for food preparation, concomitant with the fact that coffee is one of the most consumed beverages in the world daily, boosts the soluble coffee industry, which has influenced growth over the years not only in the quality factor but also in processing. The objective of this work was to physically evaluate soluble coffee available in the market. The results showed that the soluble coffee of all brands had a water activity value lower than 0.3, which is a good result for a dry product, but only sample A had the humidity recommended by the legislation.

KEYWORDS: Drying; Instant coffee; *Spray-dryer*.

1 | INTRODUÇÃO

Com a aceleração do ritmo urbano é cada vez mais evidente a procura dos consumidores por alimentos de fácil preparo, rápidos e nutritivos. Essa mudança de hábitos

alimentares tem contribuído com o consumo de produtos industrializados nas últimas décadas (LIMA e OLIVEIRA, 2005; FATTORI *et al.*, 2005). Neste contexto, as indústrias tem buscado inovações tecnológicas de preparo e aprimoramento do café para torná-lo uma bebida prática e rápida, o que favoreceu então a produção dos cafés solúveis (ROCHA e FERREIRA, 2001).

Em 2014 as vendas de café solúveis representavam aproximadamente 34% de toda bebida à base de café consumida no mundo. O café solúvel tem demonstrado maior aceitação em regiões que possuem forte tradição ao consumo de chás, visto que este café apresenta um sabor mais suave e menos intenso que o torrado e moído (FERDMAN, 2014.)

O Decreto nº 986/1978 que dispõe sobre os Padrões de Identidade e Qualidade de Alimentos e Bebidas, em seu Art. 64 define café solúvel, como o produto resultante da desidratação do extrato aquoso de café (*Coffea arabica* e outras espécies do gênero *Coffea*) torrado e moído. Além disso, o café solúvel deve ser preparado com café recentemente torrado e moído e água potável, possuir no máximo 3% de umidade, densidade aparente 0,20 g/mL, pH 5,0 – 5,5 e solubilidade no máximo 2 (Gerber) (BRASIL, 1978).

Segundo a ABIC (2015) além do pronto consumo, o café solúvel é um importante ingrediente na indústria de alimentos e bebidas. A aplicação em sorvetes, cappuccino, misturas de café com leite e chocolate, produtos de panificação, bebidas em pó à base de café e inúmeros outros produtos que necessita o aroma ou sabor de café. Visto a ampla cadeia de aplicação do café solúvel estudos nesta área apresentam grande potencial tecnológico. Com isso o propósito do trabalho foi analisar fisicamente diferentes marcas de cafés solúveis comercializados na cidade de Diamantina.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Os cafés solúveis produzidos pelo método de Spray Dryer utilizados foram adquiridos em supermercados da cidade de Diamantina, Minas Gerais. As análises ocorreram no laboratório de Matérias Primas Alimentares do curso de Engenharia de Alimentos, na UFVJM. Foram analisadas cinco marcas diferentes de cafés solúveis comerciais (A, B, C, D e E).

Para a avaliação da atividade de água das amostras de cafés solúveis foi utilizado um medidor de atividade de água modelo CX2 (DecagonDevices Inc.). A determinação do teor de umidade dos cafés solúveis foi feita pelo método gravimétrico, à temperatura de 105 °C em estufa convencional até a obtenção de peso constante (AOAC, 2005). A análise da solubilidade foi realizada de acordo com o método proposto por Cano-Chauca *et al.* (2005).

Os dados das análises foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) e teste de média (Tukey) pelo programa Statistica® 8.0, com significância ao nível de 5% de probabilidade.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A qualidade do café solúvel pode ser avaliada através de várias análises, entre as quais destacam-se a atividade de água, umidade e solubilidade (Tabela 1).

Marca	Atividade de água (Aw)	Umidade (%)	Solubilidade (%)
A	0,22 ^b	5,04 ^{ab}	68,68 ^a
B	0,29 ^a	5,78 ^{ab}	67,30 ^a
C	0,25 ^{ab}	6,33 ^{ab}	68,80 ^a
D	0,26 ^{ab}	7,23 ^b	68,25 ^a
E	0,25 ^{ab}	7,28 ^b	68,28 ^a

Tabela 1. Resultados das análises de atividade de água, sólidos solúveis, umidade e solubilidade das cinco diferentes marcas de café.

Médias seguidas de uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. Fonte: Elaboração própria, 2019.

A água livre, por sua vez, também conhecida por atividade de água, é a água que favorece crescimento microbiano e reações que podem alterar o alimento, sendo determinada por um medidor de atividade de água, cujo valor varia de 0 a 1. A atividade de água é uma das propriedades mais importantes para o processamento, conservação e armazenamento dos alimentos. Vale ressaltar, ainda, que valores de atividade de água menores que 0,3 tem pouco ou nenhum crescimento microbiano, pois com essa quantidade de água livre não ocorre o desenvolvimento dos microrganismos (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010; EMBRAPA, 2010). No estudo realizado todas as amostras apresentaram atividade de água inferior a 0,3, demonstrando assim baixa tendência à deterioração e desenvolvimento de microrganismos.

Outro parâmetro importante para avaliar a conservação do produto alimentício é a umidade, parâmetro este que está relacionado à estabilidade do pó de café durante o armazenamento. Campelo-Félix (2014) destaca que conhecendo a umidade do pó é possível prever o seu comportamento quando armazenados em locais com diferentes valores de umidade relativa, e assim prever a absorção de água e os danos ao produto. Visto que para um bom processo de secagem por atomização, os valores de umidade não devem ser superior a 5%, com relação as amostras analisadas as marcas B, C, D e E apresentaram umidade superior a 5,26 g água/100 g de sólido seco que é a recomendada pela ANVISA, apenas a amostra A se enquadrou nesse parâmetro.

A solubilidade está associada à capacidade do pó manter uma mistura homogênea com a água, gerando uma mistura estável, ou seja, a sua capacidade de reconstituir-se em água. Campelo-Félix (2014) ressalta que a solubilidade é um dos pontos críticos considerados pela indústria e consumidores como fator de qualidade do produto, sendo esperado cafés solúveis com solubilização rápida, homogênea,

sem partículas sobrenadantes ou corpo de fundo. É considerada ainda, segundo Camparino *et al.* (2012) o critério mais confiável para se avaliar o comportamento do pó em solução aquosa. A solubilidade analisada das amostras não diferiu significativa, porém os valores encontrados foram menores do que era esperando demonstrando assim uma baixa solubilidade, isso pode estar relacionado ao processo de secagem.

4 | CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos percebe-se que os cafés solúveis analisados estão dentro das normas exigidas pela ANVISA em relação à atividade de água, porém no que se diz respeito à umidade apenas a marca A se enquadrou na umidade desejável pela legislação. Em relação à solubilidade não houve diferença significativa entre as amostras e todas as marcas apresentaram baixa solubilização.

REFERÊNCIAS

ABIC - Associação Brasileira de Indústria do Café. **A nação do café também é a nação do café solúvel**, 2015.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 18. ed. Gaithersburg, Maryland, EUA. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. RESOLUÇÃO - CNNPA Nº 12, DE 30 DE MARÇO DE 1978. Dispõe sobre os **Padrões de Identidade e Qualidade de Alimentos e Bebidas**. Diário Oficial da União. Brasília, 24 de julho de 1978.

CAMPARINO, O. A. et al. **Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine 'Carabao' var.) powder**. Journal of Food Engineering, v. 111, p. 135-148. 2012.

CAMPELO-FÉLIX, P. H. et al. **Prebiotic carbohydrates: effect on reconstitution, storage, release, and antioxidant properties of lime essential oil microparticles**. Journal of Agriculture and Food Chemistry, v. 65, p. 445-453. 2017.

CANO-CHAUCA, M. et al. **Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization**. Innovative Food Science and Emerging Technologies, v. 6, p. 420-428. 2005.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed Editora S.A, 2010.

EMBRAPA. **Princípios de secagem nos alimentos**. Planaltina, DF, 2010. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/883845/1/doc276.pdf>>. Acesso em: 06 jan. 2019

FATTORI, F. F. de A. **Avaliação das condições sanitárias de trailers de lanche do município de Presidente Prudente - SP**. 2003. 118 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, 2003.

FERDMAND, R. A. **Almost half of the world actually prefers instant coffee**, 2014.

LIMA, J. X.; OLIVEIRA, L. F. **O crescimento do restaurante self-service: aspectos positivos e negativos para o consumidor.** Revista Higiene Alimentar, v. 19, p. 45-53, 2005.

ROCHA, E.M.P. FERREIRA, M.A.T. **Análise dos indicadores de inovação tecnológica no Brasil:** Comparação entre um grupo de empresas privatizadas e o grupo geral de empresas. Ciências e Informação. v. 30,n.2, p.64-69, 2001.

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS ETAPAS DE PRODUÇÃO DE ALIMENTO INSTANTÂNEO PRODUZIDO A PARTIR DE RESÍDUOS DE PEIXES

Daniela Fernanda Lima de Carvalho Cavenaghi

Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT),
Campus Cuiabá Bela Vista. Docente do Curso de
Bacharelado em Engenharia de Alimentos.

Cuiabá – Mato Grosso

Aurélia Regina Araújo da Silva

Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT),
Campus Cuiabá Bela Vista. Discente do Curso de
Bacharelado em Engenharia de Alimentos.

Cuiabá – Mato Grosso

Bruna Rosa dos Anjos

Engenheira de Alimentos

Cuiabá – Mato Grosso

Aryadne Karoline Carvalho Santiago

Engenheira de Alimentos

Cuiabá – Mato Grosso

Carolina Balbino Garcia dos Santos

Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT),
Campus Cuiabá Bela Vista. Docente do Curso de
Bacharelado em Engenharia de Alimentos.

Cuiabá – Mato Grosso

Wander Miguel de Barros

Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT),
Campus Cuiabá Bela Vista. Docente do Curso de
Bacharelado em Engenharia de Alimentos.

Cuiabá – Mato Grosso

Luzilene Aparecida Cassol

Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT),
Campus Cuiabá Bela Vista. Docente do Curso de
Bacharelado em Engenharia de Alimentos.

Cuiabá – Mato Grosso

RESUMO: Um alimento instantâneo foi produzido a partir da parte residual de tambacu produzidos em cativeiro, com a finalidade reduzir desperdício proveniente do processamento de alimentos e contribuir com o meio ambiente. Sabe-se, no entanto, que dentre os alimentos de origem animal, o peixe é o mais susceptível a deterioração e contaminação. Visando associar a alimentação saudável e sustentável, este trabalho objetivou a avaliação da qualidade microbiológica do resíduo de peixe utilizado para a preparação do alimento instantâneo bem como o produto acabado. Foram realizadas as análises para contagem de coliformes totais e termotolerantes e *Escherichia coli* no peixe *in naturae* “polpa” de peixe. Para o produto acabado, realizou-se contagem de coliformes totais e termotolerantes, contagem de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e pesquisa de *Salmonella* sp de acordo com a metodologia IN 62. Em relação à qualidade higiênico-sanitária, apenas o peixe cru apresentou coliformes totais (7,32 log₁₀ UFC/g) e termotolerantes (1,1x10⁶ NMP/g), sendo também positivo para *E.coli* na diluição 10⁻⁵. O produto acabado apresentou-se em conformidade com a legislação em todos os parâmetros analisados, o que o torna apto ao consumo humano e uma opção para o reaproveitamento de resíduos.

PALAVRAS-CHAVE: Espinha em Y, sustentabilidade, impacto ambiental, segurança

MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF INSTANT FOOD PRODUCTION STEPS FROM FISH WASTE

ABSTRACT: Instant food was prepared from the residual part of tambacu produced in captivity, in order to reduce waste from the food processing and contribute to the environment. It is known, however, that among the foods of animal origin, fish is the most susceptible to deterioration and contamination. Associating healthy and sustainable food, this study aimed to evaluate the microbiological quality of the fish residue used for the preparation of instant food and the quality of the finished product. Analyzes were performed to count total and thermotolerant coliforms and *Escherichia coli* in fresh fish and fish pulp. For the finished product, total and thermotolerant coliforms counts, *Staphylococcus aureus* counts, *Bacillus cereus* counts and *Salmonella* sp research were performed according to the IN 62 methodology. In relation to sanitary conditions, only raw fish showed total coliforms (7.32 log₁₀ CFU / g) and thermophilic (1,1x10⁶ NMP / g) and had a positive result for *E. coli* in the dilution 10⁻⁵. The finished product has performed in accordance with the law in all parameters, which makes it fit for human consumption and an option for reuse of discards.

KEYWORDS: Y fish bones, sustainability, environmental impact, food security.

1 | INTRODUÇÃO

O Estado de Mato Grosso ganhou destaque com o aumento da piscicultura, sendo hoje responsável por quase 20% da produção nacional de pescado em cativeiro (IBGE, 2015). Entre os peixes mais cultivados destacam-se as carpas, tilápias e os peixes redondos como o tambaqui, pacu e o tambacu, os quais juntos correspondem a 80% da produção total nacional (BORGHETTI et al., 2005).

No processo de beneficiamento do pescado são gerados resíduos (cabeça, vísceras, nadadeira, cauda, coluna vertebral, barbatana, escamas e restos de carne) que podem representar mais de 50% da matéria-prima dependendo da espécie (FELTES et al., 2010). Esta quantidade relevante de resíduos produzidos durante o processamento industrial do pescado é constituída de matéria-prima de alta qualidade nutricional, a qual pode ser utilizada para diversos subprodutos. Além disso, seu emprego é uma alternativa de reduzir o impacto ambiental, considerando que possui uma alta carga de matéria orgânica (NUNES et al., 2013).

Os resíduos de peixes podem gerar infinitas possibilidades de uso, desde a forma *in natura* até produtos mais elaborados, como salsichas, linguiças, empanados, almôndegas, patês, tirinhas de peixes, enlatados, polpa dessecada em flocos ou sob a forma salgada, prensada e seca entre outros (BOMBARDELLI et al., 2005). Estratégias devem ser estudadas com a finalidade de aumentar e popularizar o

consumo de produtos provenientes do aproveitamento integral do pescado, associado à agregação de valores e melhoria na rentabilidade das empresas sem, no entanto, deixar de se preocupar com a qualidade higiênico-sanitária do produto uma vez que alimentos contaminados representam riscos à saúde da população.

Dentre os produtos de origem animal, os peixes são os mais suscetíveis a processos de deterioração, pois depois de capturados sofrem transformações bioquímicas e enzimáticas relacionadas à degradação de compostos, além da ocorrência de inúmeras espécies de microrganismos presentes, dependentes de sua microbiota natural, o que irá interferir na sua vida útil. Devido à alta perecibilidade, métodos alternativos de conservação têm sido requeridos para produtos que envolvam pescado, inclusive resíduos.

Diante disto o presente trabalho objetivou avaliar a qualidade microbiológica no momento da coleta dos resíduos de descarte de peixes, após o processamento na forma de polpa de peixe, até o produto final, o alimento instantâneo destinado ao consumidor.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

A coleta de amostras do resíduo de peixe ocorreu na Baixada Cuiabana, sendo os mesmos doados por uma empresa. As amostras foram colocadas em sacos plásticos e transportadas em caixas térmicas com gelo até o laboratório, mantidas sob refrigeração em temperatura próximo de 5°C, ou congeladas a -18 °C até o momento do processamento e análises, por um período máximo de três meses. As amostras foram acondicionadas no Laboratório Móvel do IFMT campus Cuiabá Bela Vista. As amostras congeladas foram descongeladas em refrigerador a 5 °C, por 24 horas.

Foram analisadas amostras em três etapas do processo: inicialmente após a filetagem e retirada do resíduo *in natura*; após o processamento em forma de polpa de peixe produzida através de um biodigestor simples que emprega temperatura e pressão em meio ácido, por um 1 hora com a finalidade de solubilizar os espinhos tornando imperceptível a presença do mesmo e do produto acabado, o alimento instantâneo de peixe, na forma de caldo e pirão.

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do IFMT campus Cuiabá Bela Vista seguindo os procedimentos descritos por Silva et al. (2010) e compreendeu contagem de coliformes totais e termotolerantes e *Escherichia coli*, para o peixe *in natura* e “polpa” de peixe. Para o produto acabado, realizou-se contagem de coliformes totais e termotolerantes, contagem de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e pesquisa de *Salmonella* sp de acordo com a metodologia IN 62 (EMBRAPA, 2009).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode ser constatado que o peixe *in natura* apresentou a contagem de 7,32 log₁₀ UFC/g para coliformes totais e de 1,1x10⁶ NMP/g de termotolerantes. O mesmo foi observado em relação à *E. coli* na diluição 10⁻⁵ (7,32 log₁₀ UFC/g). Coliformes são indicativos de contaminação fecal humana ou de animais homeotérmicos, não sendo habitantes naturais da microbiota intestinal de peixes, sugerindo que a contaminação podem ser decorrentes da água do viveiro e/ou das condições higiênicas relacionadas à manipulação ou aos manipuladores em alguma etapa do processo (despesca, transporte, recepção, qualidade da água e gelo, evisceração, manuseio em geral).

A polpa de peixe decorrente do processo de biodigestão apresentou resultado negativo para todos os parâmetros analisados, demonstrando que durante o processamento ocorreu a eliminação da carga bacteriana presente no resíduo *in natura*, tornando-a apta ao consumo humano.

Para a produção do alimento instantâneo, foi utilizada a polpa de peixe desidrata acrescida de diversos ingredientes como farinhas e condimentos desidratados. As análises microbiológicas do alimento instantâneo de peixe (Tabela 1) apresentaram resultados negativos para todos os parâmetros analisados.

Análise	% Média ± desvio padrão
<i>Coliformes Termotolerantes</i>	0 NMP/g ou ml
Coliformes Totais	0 NMP/g ou ml
<i>Salmonella</i> sp	Ausente em 25g
<i>B. cereus</i>	0 UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 UFC/g

Tabela 1: Resultados das análises microbiológicas do alimento instantâneo de peixe

Análises microbiológicas de sopas instantâneas produzidas a partir de mix desidratado de peixes demonstraram resultados inferiores a 10 para coliformes totais e termotolerantes, 10² para *Staphylococcus coagulase* e ausente para *Salmonella* sp. em 25g (COSTA E SOUZA, 2015), valores este, superiores aos encontrados nas análises do alimento instantâneo desenvolvido com resíduos de peixe.

Devido à adição de ingredientes como farinhas e condimentos, que estão sujeitos a contaminação por *Bacillus cereus*, é de extrema importância verificar a presença desta bactéria. *B. cereus* é uma bactéria que sob a forma de esporo, está presente no solo e por isso quase sempre é o agente patológico responsável pela contaminação de diversas plantações, desde a sua origem, dos cuidados durante e pós-colheita, das condições de armazenamento e também do transporte e, se não houver uma preparação adequada, esta contaminação persiste nos alimentos processados (SILVA JÚNIOR, 1995; GERMANO E GERMANO, 2001). O resultado encontrado comprova que o processo de produção usado foi adequado e eficaz e os

ingredientes adicionados estavam isentos de contaminação por *B. cereus*.

Coliformes totais compõem os grupos de bactérias que podem ser aeróbicas ou anaeróbicas (isto dependerá do ambiente e da bactéria), não originam esporos e fermentam a lactose, produzindo ácido e gás à 35/37°C. Já os coliformes termotolerantes convivem em simbiose com humanos, bois, gatos, porcos e outros animais de sangue quente. São excretados em grande quantidade nas fezes e normalmente não causam doenças quando estão no trato digestivo. Contudo, nos alimentos podem provocar sérios danos à saúde. Neste grupo está presente a bactéria gram-negativa *Escherichia coli* e, ao se ingerir alimentos por ela contaminados, os resultados desagradáveis (como uma gastroenterite, por exemplo) podem ser brandos ou desastrosos, dependendo do grau de contaminação. Pesquisas comprovam que diversos distúrbios alimentares causados por Coliformes estão relacionados à ausência de hábitos de higiene adequados, como lavar as mãos após o uso dos sanitários, entre outros (SILVA JÚNIOR, 1995). Portanto todas as boas práticas de manipulação, principalmente àquelas relacionadas ao manuseio do produto e seus insumos durante o processamento, foram cumpridas corretamente.

Salmonella sp é uma bactéria que está presente na realidade diária dos seres humanos e de outros animais, inclusive nos peixes, frango e ovos. Se mal preparados, malcozidos ou manipulados indevidamente por pessoas que não façam a higiene adequada das mãos, estes alimentos se tornam riscos potenciais à saúde de quem os consumir (SILVA, 2010). A ausência de *Salmonella* sp evidencia que o alimento instantâneo foi processado corretamente e que a tecnologia utilizada em sua manufatura é capaz de produzir um alimento totalmente seguro ao consumo humano.

Staphylococcus aureus possuem ampla distribuição na natureza e não são essencialmente parasitas humanos, podendo também ser encontrados em objetos inanimados ou outros animais e também em alimentos. No homem, eles se estabelecem principalmente na pele e nas narinas, sendo sua contaminação muitas vezes vinculada aos alimentos processados devido a falhas nas boas práticas de fabricação e/ou manipulação dos alimentos (SILVA JÚNIOR, 1995). Pode-se afirmar que todas as regras de boas práticas de fabricação, principalmente àquelas relacionadas aos manipuladores do produto, foram rigorosamente cumpridas.

4 | CONCLUSÃO

Durante o processo de filetagem do pescado, sobram resíduos que, na maioria das vezes, são descartados. Com os resultados das análises foi possível constatar vantagens na utilização de polpa de peixe, proveniente da biodigestão, em relação aos filetes de peixe cru, uma vez que o processamento foi capaz de eliminar a carga bacteriana.

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas do alimento instantâneo, produzido a partir de polpa de peixe desidratada e adicionada de condimentos e outros ingredientes, estão de acordo com os parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira, demonstrando que o processo de biodigestão dos resíduos de pescado e a manipulação sob condições higiênicas podem oferecer um produto seguro microbiologicamente.

5 | AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao IFMT - Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso.

REFERÊNCIAS

BORGHETTI F.; SILVA L.C.R.; PINHEIRO J.D.; VARELLA B.B. AND FERREIRA A. G **Aqueous leaf extract properties of Cerrado species in Central Brazil**. In: 4th World Congress on Allelopathy, “Establishing the Scientific Base”. Anais..., Wagga Wagga, New South Wales, Australia, 2005.

BOMBARDELLI, R.A.; SYPERRECK, M.A.; SANCHES, E.A. **Situação atual e perspectivas para o consumo, processamento e agregação de valor ao pescado**. Arq. ciên. vet. zool., Belo Horizonte, v.8, n. 2, p. 181-195, 2005

COSTA, J. B.; SOUZA, M. L. R. **Sopa Instantânea com mix desidratado de peixe: análise de composição centesimal, sensorial e microbiológica**. In: 24º Encontro Anual de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Maringá. Anais... Maringá: UEM, 2015.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – **Métodos para Análise de Pescado** - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Embrapa Meio-Norte, Teresina – PI, Maio 2009.

FELTES, M. M. C.; CORREIA, J. F. G.; BEIRÃO, L. H.; BLOCK, J. M.; NINOW, J. L.; SPILLER, V. R. **Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.14, n.6, p. 669 – 677, 2010.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm>> Acesso em 3 de junho de 2016.

NUNES, R.; VIANA, A.; SON, C.; BRUM, L.; OLIVEIRA, L.; COSTA, H. **Aproveitamento de Resíduos de Pescado na Região dos Lagos: Uma Questão Ambiental**. Revista Saúde, Corpo, Ambiente & Cuidado, v.1, n.1, p. 58-70, 2013.

SILVA JUNIOR, E. A. (1995). **Manual de Controle Higiênico Sanitário em Serviços de Alimentação**. 5ª ed., São Paulo: Livraria Varela, 1995.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. (2010) **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2010

CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DA FARINHA DE ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata mil.*)

Márlia Barbosa Pires

Escola Superior da Amazônia (ESAMAZ), Curso de Nutrição.

Belém- Pa.

Ana Karoline Silva dos Santos

Escola Superior da Amazônia (ESAMAZ), Curso de Nutrição.

Belém- Pa.

Keila Garcia da Silva

Escola Superior da Amazônia (ESAMAZ), Curso de Nutrição.

Belém- Pa.

RESUMO: As plantas alimentícias não convencionais (PANCS) estão espalhadas por toda fauna e flora brasileira, tendo um grande potencial para complementar a alimentação das pessoas, diversificar cardápios e nutrientes, sendo também fonte de renda. Em destaque temos a *Pereskia aculeata Mill.* pertencente à família cactácea, conhecida por ser uma planta de quintal, chamada popularmente como ora-pro-nobis (OPN). O objetivo geral foi obter e caracterizar físico-química e tecnologicamente farinha de OPN. Foi avaliada a hortaliça não convencional OPN adquirida em uma floricultura local na cidade de Belém/PA. A determinação da composição físico-química foi feita em duplicata. Para realização da caracterização de composição

centesimal, foi utilizado um termo higrômetro para medição da aW, para pH se fez uso de Phmêtro, umidade através de uma estufa de secagem a 105°C, proteínas totais pelo método de Kjeldhal, lipídeos por Bligh Dayer, cinzas com secagem em mufla a 550°C, carboidratos por diferença. Para propriedade tecnológica, foi utilizado o método para a capacidade de absorção gordura, capacidade de absorção de água, a propriedade emulsificante, propriedade espumante, o poder de inchamento e índice de solubilidade. Comparando os resultados obtidos em relação a composição centesimal com os já existentes na literatura nota-se diferenças relevantes em relação a umidade, mas se adequa ao exigido pela ANVISA, com o limite para umidade de até 15% em farinhas. Quanto aos lipídios observou-se valores baixos em relação a resultados encontrados na literatura, resultados já esperado pois as hortaliças não são consideradas fontes de lipídeos. Os resultados obtidos de carboidratos foram superiores aos entrados na literatura. Em relação a proteínas, houve grande diferença em comparação a estudos já existentes na literatura, onde o presente trabalho obteve 6,22g±0,05% de proteínas, que pode ser explicada por diferenças de fatores ambientais. A atividade de água obteve media de 0,57%, conforme a literatura a atividade de água para farinhas vegetais pode ser até 0,72%. A

amostra analisada apresentou pH muito ácido. O teor de cinzas achado neste estudo mostrou-se baixo. Em relação à análise das propriedades tecnológicas foi visto indicativo de solubilidade em água, potencial em absorver gordura, e não apresentou propriedade espumante e emulsificante. Diante dos resultados obtidos podemos concluir que esta farinha apresentou potencial benéfico para consumo com alto teor proteico e de carboidratos, e baixo teor de lipídeos. De acordo com as características tecnológicas, esta farinha apresentou alto teor na capacidade de absorção de gordura, não sendo indicada para preparações como empanados. Por conta dos seus índices de solubilidade e capacidade de absorção de água pode ser utilizada em pães. Seu discreto poder de inchamento não a torna alternativa para preparações como mingais. A baixa capacidade de emulsão e a não formação de espuma, exclui esta farinha de preparação que precise destas propriedades.

PALAVRAS-CHAVE: *Pereskia aculeata*; Propriedades tecnológicas; Farinha;

ABSTRACT: Unconventional food plants (UFPs) are scattered throughout the Brazilian fauna and flora, and have a great potential to complement people's food, diversify menus and nutrients, being also a source of income. Highlights include *Pereskia aculeata* Mill. belonging to the Cactus family, known as a backyard plant, popularly called ora-pro-nobis (OPN). The general objective was to obtain and characterize physicochemical and technologically OPN flour. The non-conventional vegetable OPN acquired in a local floriculture in the city of Belém/PA was evaluated. The physical-chemical composition was determined in duplicate. To characterize the centesimal composition, a hygrometer term was used to measure the aW, for pH it was used Phmêtro, humidity through a drying oven at 105°C, total proteins by the Kjeldhal method, lipids by Bligh Dayer, ashes with muffle drying at 550°C, carbohydrates by difference. For technological property, used the method for fat absorption capacity, water absorption capacity, emulsifying property, sparkling property, the swelling power and solubility index. Comparing the results obtained in relation to the centesimal composition with those already existing in the literature, relevant differences in relation to humidity are noted, but it is adequate to that required by ANVISA, with a limit for humidity of up to 15% in flours. As for lipids, low values were observed in relation to the results found already existing in the literature, results already expected because vegetables are not considered sources of lipids. The results obtained from carbohydrates were higher than those obtained in literature. Regarding proteins, there was a big difference compared to existing studies in the literature, the present study obtained $6.22g \pm 0.05\%$ protein, which can be explained by differences in environmental factors. Water activity averaged 0.57%, which according to the literature, the water activity for vegetable flour can be up to 0.72%. The sample analysed had a very acidic pH. The ash content found in this study was low. In relation to the analysis of the technological properties, it was seen as indicative of water solubility, potential to absorb fat, and did not present any sparkling or emulsifying properties. In view of the obtained results we can conclude that this flour presented beneficial potential for consumption with high protein and carbohydrate content, and low lipid content. According to the technological characteristics, this flour

had a high content in the capacity of fat absorption, not being indicated for preparations such as empanadas. Because of its solubility indexes and water absorption capacity it can be used in breads. Its discreet swelling power does not make it an alternative to preparations such as mingals. The low emulsifiability and the absence of foaming exclude this preparation flour that needs these properties.

KEYWORDS: *Pereskia aculeata*; Technological properties; Flour;

1 | INTRODUÇÃO

No Brasil é encontrada grande biodisponibilidade de plantas que podem ser fontes de vitaminas e minerais. As plantas alimentícias não convencionais que também podem ser chamadas de PANCS estão espalhadas por toda fauna e flora brasileira, sendo algumas conhecidas e, outras tantas, desconhecidas dos brasileiros (SILVA,2016). Muitas vezes inconvenientes e sendo tratadas como mato, daninhas e inços, compõem varias refeições regionais de valor pouco explorado, pois florescem entre as plantas cultivadas e pedras. (KINUPP,2007).

As PANCS geralmente são plantas produzidas em menor escala, sendo limitadas a determinadas regiões, cultivada por pequenos produtores ou provenientes de agricultura família, sendo assim de baixo valor econômico (ROCHA,2008). As plantas alimentícias já foram presente na alimentação da população, entretanto, aos poucos foram sendo esquecidas e desvalorizadas, especialmente no êxito rural (SOUZA, 2009).

Diferentes das hortaliças convencionais que são produzidas em grande escala pelas indústrias alimentícias com o auxilio de fertilizantes e agroquímicos. Estas plantas são recusadas pela industrial de alimentos por não ter conhecimento específico de seus benefícios e aproveitamento para a população. (KINUPP, 2004; RAPOPORT,1998; AZURDIA, 1984).

Essas plantas têm uma grande potencialidade para complementar a alimentação das pessoas, diversificar cardápios e nutrientes, até mesmo sendo fontes de renda, como a venda das partes das plantas ou de produtos como geleias, farinhas e outros. Essas plantas além de agregar valor econômico, funcional e nutricional, possui o caráter disseminador do desenvolvimento sustentável e de proteção ao meio ambiente. (LORENZI E KINUPP, 2014).

É importante destacar que uma planta pode ser considerada PANC em uma determinada região ou país, entretanto, em outros não, pois tudo depende do quanto a planta é conhecida e como é aproveitada pela população local. No que se refere às hortaliças nativas a pesquisa, o cultivo, a utilização e a valorização parece ser ainda escassa. Os frutos podem ter o atrativo da cor, da doçura e da suculência. (KINUPP, 2007).

Em destaque *Pereskia aculeata Mill.*, pertencente à família cactácea, conhecida por ser planta de quintal, que pode crescer em cercas ou espaldeiras ou ainda

formar moitas; é de fácil reprodução e cultivo por sua rusticidade e resistência ao déficit hídrico (MADEIRA E SILVEIRA, 2010). Conhecida popularmente como ora-pro-nobis (OPN), também podendo ser chamada outras regiões por groselha-de-barbados e trepadeira-limão. Por sua facilidade em espalhar-se, pode ocorrer altas densidades em pequenas áreas, sendo necessário o controle biológico para garantir a sobrevivência da biodiversidade (QUEIROZ, 2012).

Na medicina popular, o benefício das folhas desta planta é na diminuição dos processos inflamatórios e na recuperação da pele em casos de queimadura, segundo estudos presentes na literatura de TOFANELLI E RESENDE (2011) As folhas possuem importante qualidade nutricional, como alto teor de carboidrato, lisina, cálcio, fósforo, magnésio, ferro, cobre e, principalmente, alto teor de proteínas. E podem ser consumidas como refogados e sopas na forma *in natura*, na forma de farinha pode ser utilizado em preparação de tortas, macarrão, biscoitos, pães e bolos. Já os frutos oferecem propriedades expectorantes e antissifilíticas (SANTOS et al., 2012).

A análise química das plantas consente identificar e quantificar a presença de substâncias de valor nutricional e/ou terapêutico, como já relatado para folhas de OPN cujas qualidades de cultivo não foram citadas por seus respectivos autores em relação ao teor de proteínas, composição de aminoácidos, minerais e atividade de extrato (TAKEITI et al., 2009; SARTOR et al., 2010).

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de realização do estudo

A pesquisa foi realizada nas dependências da Escola Superior da Amazônia- (ESAMAZ), Belém-Pa.

2.2 Obtenção da matéria prima

Neste estudo foi avaliada a hortaliça não convencional Ora-Pro-Nóbis (*Pereskia aculeata Mill.*) adquirida em uma floricultura local na cidade de Belém/PA.

2.3 Obtenção das farinhas

As folhas de ora-pro-nobis foram higienizados com solução 100 ppm por 15 minutos. Em seguida, foram lavado com água filtrada e disposto em uma cama feita de papel alumino e previamente foi retirada o excesso de água com o auxílio de papel toalha. Posteriormente as folhas obtidas foram arumadas em bandejas de aço inoxidável e secas em estufa de circulação de ar (QUIMIS) á 105°C por aproximadamente 26horas, posteriormente o produto seco foram moídos em moinho de facas (ARNO) e armazenado em embalagens de polietileno sob temperatura ambiente, conforme descrito por Pires et al. (2013).

2.4 Caracterização físico química

2.4.1 Composição físico- química das farinhas

A composição físico-química da OPN foi determinada em duplicatas de acordo com as metodologias descritas a baixo:

Para realização da caracterização de composição centesimal foram feitas medidas de peso auxílio de uma balança analítica da marca GEHAKA modelo AG200 com precisão de 0,0001g. A determinação de aW usando Termo higrômetro digital, pH com uso de Phmetro portátil marca Hanna PHep+ modelo HI98107 previamente calibrado, acidez após titulação com NaOH (1mol.L-1), umidade em Estufa de Esterilização e Secagem marca Quimis Q317B32 a 105°C.

A determinação de proteínas totais pelo método de KJELDHAL, considerando o fator de correspondência nitrogênio- proteína de 6,25; lipídeos por BLIGH DAYER , resíduo mineral ou cinzas com secagem em mufla marca Quimis modelo Q318M21a a 550°C e carboidratos foram determinados por diferença, conforme a Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003).

2.4.2 Determinação do valor calórico

O valor calórico foi avaliado considerando a composição centesimal das farinhas estudadas, utilizando os coeficientes de Atwater (WATT; MERRILL, 1963), que considera 4kcal/g para proteínas e carboidratos e 9kcal/g para lipídeos.

2.5 Propriedades funcionais

Foram determinadas: Capacidade de absorção de óleo, segundo o método de Lin et al. (1974); capacidade de absorção de água segundo Sosulski, (1962); propriedade emulsificante e espumante segundo o método de Dench et al. (1981) e poder de inchamento e o índice de solubilização segundo Leach et al. (1959), sob temperatura ambiente.

2.6 Análise estatística

A avaliação estatística dos resultados foram obtida por meio comparação de médias e desvio padrão entre as amostras, utilizando o programa Microsoft Office Excel 2010 - Windows 10.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resultados obtidos para composição química da farinha de ora-pro-nobis, está apresentada na Tabela 4.

Determinações	Farinha de Ora-pro-nóbis
Umidade	23,65±0,21
Extrato seco	4,79±0,21
Cinzas	7,70±0,42
Lipídeos	0,87±0,14
Proteínas	6,22±0,05
Carboidrato	61,56±0,77
Valor energético (Kcal)	278,95±0,84
aW	0,57± 0,0
pH	3,80± 0,02

TABELA 4 Composição centesimal das farinha de folhas de uma espécie de Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata Mill.*) em 100g matéria prima seca.

Os resultados das análises da farinha de OPN em comparação aos resultados já existentes na literatura apresentam diferenças relevantes em relação a umidade, mas se adequa ao exigido pela ANVISA segundo a resolução RDC n° 269, de setembro de 2005, com o limite para umidade de até 15% em farinhas (BRASIL, 1996). O teor baixo de umidade da farinha produzida influencia diretamente no maior tempo de armazenamento, visto que há uma redução de água disponível para a propagação dos microrganismos e para as reações químicas.

Conforme RDC n° 54, de 12 de novembro de 2012 determinada pela ANVISA, que recomenda a quantidade de gorduras totais como baixo para valores menores que 3 % em farinhas. Os resultados encontrados para lipídios manteve-se baixo em relação a resultados encontrados por MARINELLI (2016) de 3,71g e ALMEIDA (2014) de 5,07g, já esperado pois as hortaliças não são consideradas fontes de lipídeo. Segundo ROCHA et al. (2008) o consumo da OPN é indicada para dietas com restrição de lipídios, devido ao seu baixo teor deste nutriente e uma alternativa diferente para dietas vegetarianas.

Os resultados obtidos de carboidratos foram superiores a resultados de ALMEIDA (2014) sendo 48,39g e MARINELLI (2016) 29,53g. A diferença pode ser influenciada pelo método de cultivo, tipo de solo, e estação do ano no momento da colheita, além disso os estudo a qual foi comparado, a matéria prima utilizada pelo autor é de forma *in natura*, e a matéria prima utilizada neste estudo foi seca, no momento em que a retirada da umidade teve a elevação deste carboidrato.

Entretanto, mesmo tendo uma diferença em relação a estudos já realizados ela continua sendo uma hortaliça com alto teor de carboidratos podendo ser um indicativo de uma planta potencialmente energética, podendo ser usada como estratégia em dietas hipercalóricas.

Em relação a proteínas, houve grande diferença em comparação a já existentes na literatura, em quanto MARINELLI (2016) obteve 28,99g e GONÇALVES (2014) de 27,79%. O presente trabalho obteve 6,22g±0,05%, que pode ser explicada por algumas diferenças, como fatores ambientais, diferença no solo por ser uma planta

que não é nativa da região norte, e a secagem da matéria prima, uma vez que a maioria das proteínas podem ser desnaturadas quando expostas a altas temperaturas.

Segundo DULTRA DE OLIVEIRA E MARCHINI (1998) as hortaliças e vegetais não podem ser consideradas excelente fonte de proteínas para o alcance da necessidade nutricional, por não conterem aminoácidos essenciais são consideradas de baixo valor biológico. Entretanto, o consumo de vegetais auxilia na variedade de aminoácidos e minerais de uma dieta.

A atividade de água obteve media de 0,57%, Segundo CASTRO (2003) a atividade de água para farinhas vegetais pode ser até 0,72%, a baixa atividade de água encontrada em farinhas vegetais contribui na aceleração do processo de degradação de produtos alimentícios, em taxas de formações microbiológicas, e também grande influência em alterações químicas como reações de escurecimento enzimático e não enzimático e até mesmo a inativação de enzimas (AZEVEDO, 2012).

O pH é um fator determinante no nível de elevação no desenvolvimento de microrganismos em alimento e que colaboram para determinar processos tecnológicos no intuito de conservação. Segundo estudos de SOARES et al. (1992), em relação ao pH podem ser classificado em: pouco ácidos (pH > 4,5), ácidos (4,5 a 4,0) e muito ácidos (<4,0). A amostra de farinha de OPN analisada apresentou pH muito ácido.

O teor de cinzas achado neste estudo mostrou-se baixo em comparação com achados de ALMEIDA et al (2014) que foi de 14,81% e de SOUZA (2014) foi 15,97%, este indicador está relacionada com a concentração de minerais que são encontrados nesta planta (SOUZA, 2014). As hortaliças são consideradas principais fonte de minerais, sendo necessário fazer análise de antioxidante em sua composição, para contribuir com o aporte de dietas.

Propriedades Tecnológicas	
Capacidade de absorção de gordura%	10,20±0,7
Capacidade de absorção de água %	3,72±0,5
Índice de solubilização%	19,68±0,3
Poder de inchamento%	0,44±0,4
Propriedade emulsificantes%	0
Propriedade espumante %	0

TABELA 5 Análise das propriedades tecnológicas da farinha de Ora-Pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.)

Valores médios de duas repetições com seus desvios padrões.

De acordo com os resultados presentes na Tabela 5, Estes indicadores podem ser utilizados para determinar a vantagem de se usarem ou não produtos farináceos em preparações ou soluções. Segundo SANTANA (2017), a CAA está correlacionada a disponibilidade significativa de fibras que são encontradas em farinhas de origem

vegetal.

Segundo WANG et al (2006) em relação a CAA, é uma propriedade para estimar a necessidade de adicionar a farinhas de vegetais em produtos cárneos, de panificação, bolos, onde facilitara na manipulação da massa, e contribui para o não ressecamento da massa quando armazenada. Diante disto, quanto mais esta farinha de OPN for adicionada a uma preparação, maior será a AA, assim sendo, o que pode gerar diminuição nos custos na preparação de produtos, dependendo do rendimento da preparação..

O ISA é importante para determinar em que tipo de preparação esta farinha pode ser empregada. Os valores elevados indicam que, esta farinha pode ser usada em alimentos que são preparados a baixa temperatura ou ate mesmo instantâneos, ou como item em receitas de sobremesas, molhos e ate mesmo sopa, que carece de itens com maior solubilidade em água (SANTANA 2017).

A CAG encontrada aponta se esta farinha pode ser usada em preparações de origem animal, ou em outros produtos como massas de bolo, maioneses, molhos para saladas. Por atribuir qualidade em sua consistência, viscosidade e adesão, melhorando a textura para os alimentos, e tornando sua utilidade como um item similar ou substituto em preparações de alimentos (PORTE et al., 2011).

Na Tabela 4, a quantidade de proteína adquirida da farinha das folhas de *pereskia aculeata miller* foi de 6,22g, quando comparado a estudos que podem ser encontrados na literatura realizados por MARINELLI (2016), GONÇALVES (2014) e ALMEIDA (2014), encontra-se abaixo dos achados deste respectivos autores, o que pode explicar a não capacidade espumante.

Observou-se que não houve formação de espuma e emulsificação. WANG et al. (2000), explica que a PES E PEM está diretamente ligada com a quantidade de proteínas, e a firmeza da espuma está ligada a qualidade da proteína, sendo indispensável que formem películas coesivas, elásticas, contínuas e impermeáveis ao ar. Que pode ser explicada pela exposição à alta temperatura da matéria prima e ela ser de origem vegetal, visto que os vegetais tem baixa disponibilidade de proteína. Sendo assim a farinha de OPN não é indicada para preparações que precisem destas propriedades.

O valor observado do poder de inchamento esta relacionado com o CAA E ISA, De acordo com ORO et al. (2013), a viscosidade máxima é um fator que está correlacionado à capacidade do amido em absorver água, e, resultando no nível de inchaço dos grânulos de amido durante o aquecimento. Sendo assim, quando existem grandes quantidades de grânulos com alto poder de inchaço, ocorrem elevados picos de viscosidade.

Portanto, as propriedades CAA e ISA dependem do número de moléculas solúveis, da força e do tipo de reações que ocorrem durante os tratamentos de preparo das farinhas. Diante disto, houve uma pequena formação de viscosidade na farinha de OPN.

Segundo estudos realizados por LUSTOSA et al.(2009), a avaliação da integridade de viscosidade encontrada em pasta de amido, pode ser utilizada como parâmetros a ISA e o PI. Considerando que o ISA está diretamente ligada com os sólidos solúveis na amostra e o poder de inchamento está envolvido com a viscosidade de pasta a temperatura ambiente, pois o amido degradado absorve água a temperatura ambiente, a degradação do amido ocorre pelo métodos de exposição ao calor ou agitação mecânica ou manual.

E segundo SEBIO e CHANG (2000) Além da gelatinização do amido, que resulta na liberação da amilose e amilopectina de seus grânulos, acontece também a dextrinização dos seguimentos de amido e outras reações que levam ao desenvolvimento de compostos de baixo peso molecular. Esta alteração possibilita a criação de produtos instantâneos, como sopas, mingau, massas, molhos e alimentos infantis.

4 | CONCLUSÕES

A farinha de folhas da espécie *Pereskia aculeata* Miller tem potencial benéfico para consumo. Apresentou alto teor proteico e de carboidratos, e baixo teor de lipídeos, podendo ser uma excelente estratégia de baixo valor socioeconômico podendo contribuir com subsidio diário da alimentação. Já que a OMS (2003) recomenda que a dieta de um individuo saldável contenha aproximadamente de 60% de sua energia (Kcal) advinda dos carboidratos, no máximo 30% dos lipídios e 15% das proteínas.

Diante da composição físico-química analisada a farinha de OPN pode ser uma alternativa para indivíduos com dietas vegetarianas, dietas hipolipídicas dietas para pacientes cardiopatas paciente renais pelo seu baixo valor biológico, e uma ótima fonte de carboidratos, sendo necessário fazer um estudo sobre o tipo de carboidrato desta farinha.

De acordo com as características tecnológicas, esta farinha apresentou alto teor na capacidade de absorção de gordura, não sendo indicada para preparações como empanados e frituras, mas podendo ser empregadas em massas que vá ao forno. Os bons índices de solubilidade e capacidade de absorção de água torna esta farinha uma estratégia para preparações podendo ser utilizada em pães, pizzas, sopas e panificação. Seu discreto poder de inchamento não a torna uma excelente alternativa para preparação que necessitem dessa propriedade como mingais e produtos instantâneos. A baixa capacidade de emulsão e a não formação de espuma, exclui esta farinha de preparação que precise destas propriedades, não sendo indicada para preparações como sorvetes, mousses e cremes.

Por fim, podemos ver que a necessidade em fazer mais estudos sobre o tipo de carboidratos contidos nesta farinha, sua toxicidade em consumo *in natura*, e

análise sensorial em preparações, podemos concluir que uso desta espécie pode ser utilizado em preparações alimentícias pelo seu potencial tecnológico.

REFERÊNCIAS

AOAC; **Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists**, 17th ed. Washington, 2002

AZEREDO, H. M. C. **Fatores que afetam a velocidade das alterações microbiológicas**. In: Fundamentos de Estabilidade de Alimentos, Brasília, DF, 2 ed., p. 20-24, 2012.

AZURDIA, C. L. A outra cara de lasmalezas. Tikalia. **Revista Facultad de Agronomía Universidad de San Carlos de Guatemala**, v.3, n.2, p.5-23, Guatemala, 1984.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova a “**Norma Técnica referente a Farinha de Trigo**”. Portaria n. 354, 22/07/1996, revogado pela RDC 263, de 22/09/2005. Diário Oficial da União. Brasília – DF, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360, de 23 de Dezembro de 2003 ementa não oficial: **O “ REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE ROTULAGEM NUTRICIONAL DE ALIMENTOS EMBALADOS”**. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 23 de dezembro de 2003.

CASTRO, A.G.A. **A química e a reologia no processamento de alimentos**. Lisboa: Ciência e técnicas. 295p, 2003.

DENCH, J.E.; Rivas, R.N.; Caygill, J.C., **Selected functional properties of sesame (Sesamum indicum L.) flour and two protein isolates**. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 32, n. 6, p. 557-564. 1981.

DUTRA DE OLIVEIRA, J. E.; MARCHINI, J. S. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier. 403p. 1998.

GONÇALVES, J.P.Z et al. **Quantificação de proteínas e análise de cinzas encontradas nas folhas e caule da ora-pro-nóbis (pereskia aculeata miller)**. Congresso brasileiro de Engenharia Química, 2014.

HSU, D.L., e.al **Effect of germination on electrophoretic, functional, and bread-baking properties of yellow pea, lentil, and faba bean protein isolates**. Cereal Chemistry. v. 59, n. 5, p. 344-350, 1982.

KINUPP, V.& BARROS, I. **Levantamento de dados e divulgação do potencial das plantas alimentícias alternativas do Brasil**. Horticultura Brasileira, v. 22, n. 2, p.4, 2004.

KINUPP, Valdely Ferreira. **Plantas alimentícias não-convencionais da região metropolitana de Porto Alegre**, RS. Teses (Doutorado em Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007.

LEACH, H. W.; Mccowen, L. D.; Schoch, T. J. **Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches**. Cereal Chemistry, v. 36, n. 6, p. 534-544. 1959.

LIN, M.J.Y.; Humbert, E.S.; Sosulski, F.W. **Certain functional properties of sunflower meal products**. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 2, p. 368-370. 1974.

- LORENZI, Harri; KINUPP, Valdely Ferreira. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil**. São Paulo: Plantarum. 768 p. 2014.
- LUSTOSA B. H. B. et al. **Produção de misturas extrusadas de mandioca: efeito das condições de extrusão sobre as propriedades térmicas e de pasta**. Acta Scientiarum Technology, Maringá, v. 31, n. 2, p. 231-238, 2009.
- MADEIRA, N. R.; SILVEIRA, G. S. R. **Ora-pro-nóbis**. **Globo Rural**, São Paulo, SP, v. 294, p. 100-101, 2010.
- MARINELLI, Paulo Sérgio. **Farinhas de moringa (Moringa Oleifera Lam.) e ora-pro-nóbis (Pereskia aculeata Mill.): biomateriais funcionais** Tese (Doutorado)–Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências, Bauru, ; 59 f. : il. 2016
- ORO, T.; LIMBERGER, V. M.; MIRANDA, M. Z.; RICHARDS, N. S. P. S.; GUTKOSKIL, L. C.; FRANCISCO, A. **Propriedades de pasta de mesclas de farinha integral com farinha refinada usadas na produção de pães**. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v.43, n. 4, p. 754-760, 2013.
- PORTE, A.; SILVA, E. F.; ALMEIDA, V. D. S.; SILVA, T. X.; PORTE, L. H. M. **Propriedades funcionais tecnológicas das farinhas de sementes de mamão (Caricapapaya) e de abóbora (Cucurbita sp)**. **Revista Brasileira de Produtos**. 2011.
- QUEIROZ, C. R. A. A. **Cultivo e composição química de Ora-pro-nóbis (Pereskia aculeata Mill.) sob déficit hídrico intermitente no solo**. 144 fl. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal. 2012.
- RAPOPORT, E. H.; LADIO, A.; RAFFAELE, E.; GHERMANDI, L.; SANZ, E. H. Malezas comestíveis. **Hayyuyos y yuyos. Ciência Hoy**, n. 9, p. 30-43, 1998.
- ROCHA, D. R. C.; PEREIRA JÚNIOR, G. A.; VIEIRA, G.; PANTOJA, L.; SANTOS, A. S.; PINTO, N. A. V. D. Noodles added of ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) dehydrated. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 459-65, 2008.
- SANTANA, G. S.; OLIVEIRA FILHO, J. G.; EGEEA, M. B. **Características tecnológicas de farinhas vegetais comerciais**. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 4, n. 2, p. 88-95, abr./jun. 2017.
- SANTOS, I. C. et al. **Ora-pro-nóbis: da cerca à mesa**. Circular técnica, n.177, Empresa de pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. dez., 2012
- SEBIO, L.; CHANG, Y. K. **Effects of selected process parameters in extrusion of yam flour (Dioscorea rotundata) on physicochemical properties of the extrudates**. **Nahrung**, Alemanha, v. 44, n. 2, p. 96-101, 2000.
- SILVA. **Revista brasileira de nutrição funcional** – ano 15, n. 65, p. 48, 2016.
- SOARES, A. G. et al. **Curso de higiene e santificação na indústria de alimentos**. Rio de Janeiro: **Embrapa** – CTAA, 97 p. 1992. (Apostila).
- SOSULSKI, F.N., **The centrifuge method for determining flour absorption in hard red spring wheats**. **Cereal Chemistry**. v. 39, n. 4, p. 344-350. 1962.
- SOUZA, L.F. **ASPECTOS FITOTÉCNICOS, BROMATOLÓGICO E COMPONENTE BIOATIVO DE Pereskia aculeata, Pereskia grandifolia e Anredera cordifolia**. Tese de doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (113p) Dezembro, 2014.

SOUZA, M. R. R. et al. O potencial do ora-pro-nobis na diversificação da produção agrícola familiar. **Revista Bras Agroecologia**, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 3550-4, 2009.

TAKEIT, C. Y.; ANTONIO, G. C.; MOTTA, E. M. P.; et al.; **Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable** (*Pereskiaaculeata* Miller). *International Journal of Food Science and Technology*, Campinas, v. 1, n. 60, p. 148-160, 2009.

TOFANELLI, M. B. D.; RESENDE, S.G.. **Sistemas de condução na produção de folhas de ora-pro-nobis**. *Pesq. Agropec. Trop.*, Goiânia, v.41, n.3, p.466-469, jul./set. 2011.

WANG, S. H.; MAIA, L. H.; CABRAL, L.C.; GERMANI, R.; BORGES, J. T. S. **Influência da proporção arroz:soja sobre a solubilidade e as propriedades espumantes dos mingaus desidratados**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, CampinasSP, v. 20, n.1, p.83-89, 2000.

WANG, S. H.; ROCHA, G. O; NASCIMENTO T. P.; ASCHERI, J. L. R. **Absorção de água e propriedades espumantes de farinhas extrusadas de trigo e soja**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, v. 26, n. 2, p. 475-481, 2006.

WATT, B., MERRILL, A.L. **Composition of foods: raw, processed, prepared**. Food Economics Research Division / Agricultural Research Service, (1963).

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE LARVAS DE TENÉBRIO (*Tenebrio molitor* L.) CRIADO PARA CONSUMO HUMANO

Daniela Fernanda Lima de Carvalho Cavenaghi

Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT), Campus Cuiabá Bela Vista. Docente do Curso de Bacharelado em Engenharia de Alimentos.

Cuiabá – Mato Grosso

Juracy Caldeira Lins Junior

Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri). Pesquisador da Estação Experimental de Caçador.

Caçador – Santa Catarina

Juliana Maria Amabile Duarte

Univag – Centro Universitário de Várzea Grande. Docente do Curso de Bacharelado em Agronomia.

Várzea Grande – Mato Grosso

Wander Miguel de Barros

Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT), Campus Cuiabá Bela Vista. Docente do Curso de Bacharelado em Engenharia de Alimentos.

Cuiabá – Mato Grosso

Neidevon Realino de Jesus

Univag – Centro Universitário de Várzea Grande. Auxiliar de Laboratório de Entomologia.

Várzea Grande – Mato Grosso

RESUMO: Antropoentomofagia corresponde à prática humana de alimentar-se de insetos, porém quando apresentados na forma íntegra podem causar rejeição, sendo sugerido seu consumo na forma processada. Este trabalho

compreendeu a criação dos insetos, sua análise centesimal e microbiológica. A criação da larva do *Tenebrio molitor* L. é ideal para esse tipo de estudo devido suas características. Foram analisados umidade, cinzas, lipídeos, proteínas, fibras e glicídeos, além de Coliformes Totais e Termotolerantes, *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* e Bolores e Leveduras, todos segundo metodologias oficiais. Os resultados demonstraram baixa umidade (< 6%), alta taxa proteica (> 45%) e lipídica (> 35%), perfil de ácidos graxos rico em ômega. As larvas na forma íntegra demonstraram estar em conformidade microbiológica, indicando que as boas práticas foram cumpridas de maneira adequada. No entanto pode-se constatar na larva triturada, apenas presença de *B. cereus*, sugerindo que esporos possam ter permanecido no interior do inseto.

PALAVRAS-CHAVE: antropoentomofagia, segurança alimentar, proteína e ômega

PHYSICO-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TENEBRIO LARVAE (*Tenebrio molitor* L.) REARED FOR HUMAN CONSUMPTION

ABSTRACT: Entomophagy corresponds to the human practice of eating insects but when the insects are served in full form people can reject

this food. Thus, it is suggested that the insects may be consumed in processed form. This work included the insect rearing, their centesimal and microbiological analysis. The rearing *Tenebrio molitor* L. larvae is ideal for this type of study because of its features. Analysis of ashes, lipids, proteins, fibers and glucides, countings of total coliforms and thermotolerants, *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* yeast and molds were performed according its official methodologies. We found low humidity (<6%), high protein content (> 45%) and lipid (> 35%), fatty acid profile rich in omegas. Full form larvae were in microbiological compliance indicating that good practice have been fulfilled properly. However, in the processed larva it was found *B. cereus* suggesting that spores may have remained inside the insect.

KEYWORDS: Entomophagy, food security, protein and omega.

1 | INTRODUÇÃO

A antropoentomofagia, ou seja, o hábito humano de comer insetos é uma prática muito antiga, existindo registros de que insetos e produtos elaborados e/ou eliminados por eles sejam consumidos pela espécie humana desde o período Paleolítico (Hernandez-Pacheco, 1921; Ramos-Elorduy, 2009). Os insetos podem ser utilizados nos diferentes estágios de seu desenvolvimento, podendo ser consumidos ovos, larvas (ou ninfas) e pupas ou indivíduos adultos, variando de acordo com a espécie consumida. O hábito de comer insetos pode ser promovido através da educação, enfatizando-se os benefícios nutricionais, no entanto há pessoas que são capazes de consumi-los desde que de forma disfarçada, uma vez que na forma *in natura* causa maior resistência por medo, aversão ou repulsa, por serem considerados nocivos, sujos e transmissores de doenças.

Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, as áreas destinadas à criação de animais precisarão crescer em 70% para alimentar a população do planeta. Estima-se que em 2050, a população mundial chegue a 9 bilhões de pessoas e, caso a pecuária tradicional continue sendo a grande fonte de proteína da nossa alimentação, os alimentos proteicos de origem animal tornar-se-ão, em algumas décadas, iguarias de luxo (Anthes, 2014).

Em 2013, a Food and Agriculture Organization (FAO) divulgou um relatório incentivando a criação de insetos e seu consumo na alimentação humana, no entanto, não são todas as espécies que podem ser consumidas por humanos. Das centenas de milhares de espécies de insetos já catalogadas, aproximadamente 1800 são utilizadas como alimento por cerca de 3 mil grupos étnicos em mais 120 países (Ramos-Elorduy, 2009).

O *Tenebrio molitor* L., material de estudo em questão, é ideal por ser limpo, não exigir equipamentos especiais e ocupar pouco espaço (Costa-Neto, 2003). Além da facilidade de criação, esta espécie de inseto tem uma característica desejável do ponto de vista do processamento de alimentos que é a baixa quantidade de umidade

(Bednářová et al., 2013). Para produção de 1 quilo de insetos são necessários 2 quilos de ração, muito menos do que o exigido pelo gado, que requer 8 quilos de alimento para produzir apenas 1 quilo de carne (Gabalda, 2013).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), “a alimentação deve ser disponível em quantidade e qualidade nutricionalmente adequadas, além de ser livre de contaminações que possam levar ao desenvolvimento de doenças de origem alimentar”. Alimentos contaminados são nocivos à saúde das pessoas que as consomem, provocando diversas enfermidades. Dados demonstram que os agentes etiológicos são, na maioria das vezes, microorganismos, e a contaminação pode ocorrer em diversas fases do processamento do alimento. Dessa forma, são necessárias medidas de controle em todas as etapas de processamento como colheita, conservação, manipulação, transporte, armazenamento, preparo e destruição alimentos (Boulo, 1999).

Considerando tais necessidades, o trabalho teve por objetivo produzir insetos em laboratório, avaliar suas larvas em relação à qualidade nutricional, através de análises centesimal e a qualidade microbiológica, através de um comparativo entre duas formas de apresentação do inseto, a forma íntegra e a forma triturada.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

As matrizes de insetos foram adquiridas em vários estágios de desenvolvimento diretamente de um produtor, deixadas por duas semanas em ambiente fechado dentro da própria caixa em que foram transportados, a fim de minimizar o estresse sofrido durante o transporte. Na etapa seguinte, foi realizada uma adaptação alimentar com a nova dieta, sendo mantidas em bandejas plásticas, cobertas por tecido do tipo organza para evitar a fuga dos insetos e favorecer a aeração da colônia. O substrato de criação foi composto pela própria dieta do inseto, composta de grãos com elevado teor de proteína (aveia, trigo e levedo de cerveja) e uma fonte de umidade de origem vegetal quando necessário. Os insetos foram mantidos em sala climatizada a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$ e em escuro constante. Todo o manejo da criação das larvas de tenébrio foi realizado visando produzir insetos de forma higiênica, e evitando a contaminação da dieta por fungos, ácaros e outros insetos. A dieta era submetida a tratamento térmico, no intuito de eliminar possíveis contaminantes. As bandejas, assim como todo material utilizado no manejo dos insetos eram higienizadas com produtos sanitizantes (hipoclorito de sódio e álcool 70%) por tempo determinado, utilizando equipamentos de proteção individuais como o uso de EPI's (luvas, toucas e mascarar) e materiais apropriados para manutenção.

Ao atingir o estágio de desenvolvimento desejado da larva eram feitas retiradas, respeitando os limites de 80% para o abate e 20% para continuidade da criação, sendo cada retirada considerada como lote para análise.

As larvas de tenébrios vivas eram submetidas ao processo de branqueamento

e secagem em estufa de circulação forçada de ar, por período e temperatura pré-determinados. Os lotes eram divididos em três partes, sendo uma parte destinada à análise centesimal, e as demais para análise microbiológica, sendo uma mantida na forma íntegra e a outra triturada em processador previamente higienizado.

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia, do Instituto Federal de Mato Grosso, *campus* Cuiabá Bela Vista, sendo determinados umidade, conteúdo mineral (cinzas), proteína bruta e lipídios, conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (Ial, 2008) sendo sempre realizadas em triplicata. A determinação de glicídios foi feita pela diferença em relação às outras análises físico-químicas. Foi realizado a análise do perfil lipídico.

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia, do Instituto Federal de Mato Grosso, *campus* Cuiabá Bela Vista e Univag, Centro Universitário de Várzea Grande, com determinação de Coliformes Totais e Termotolerantes, *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* por tolerância de formas indicativas e baseadas de acordo com a RDC nº 12 que regulamenta os Padrões Microbiológicos de Alimentos (Brasil, 2001) e Bolores e Leveduras na Resolução CNNPA n.12 da ANVISA (Brasil, 1978). Os procedimentos descritos foram pelo Número Mais Provável para Coliformes Totais e Termotolerantes, Contagem Direta em Placas para *Bacillus cereus*, Pesquisa de *Salmonella* spp. pelo Método ISO 6579:2007, Contagem Direta em Placas para *Staphylococcus aureus* para Coagulase Positiva e Contagem Total de Bolores e Leveduras segundo Silva et al. (2010).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

As larvas de tenébrio possuem importante valor nutricional, devido à alta taxa proteica e lipídica (Tabela 1), confirmando ser uma nova fonte de alimentos altamente nutritivos.

Análises	Amostras (%)			Média (%)
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	
Umidade	4,26 ± 0,21 ^c	6,99 ± 0,12 ^a	6,20 ± 0,47 ^b	5,82 ± 1,40
Cinzas	2,78 ± 0,85 ^{ns}	2,59 ± 0,11 ^{ns}	2,62 ± 0,11 ^{ns}	2,66 ± 0,10
Proteínas	47,52 ± 0,55 ^a	44,67 ± 0,42 ^c	46,05 ± 0,09 ^b	46,08 ± 1,43
Lipídeos	34,75 ± 1,06 ^{ns}	36,05 ± 0,07 ^{ns}	34,75 ± 1,62 ^{ns}	35,18 ± 0,75
Fibras	7,57 ± 0,26 ^a	5,27 ± 0,60 ^b	4,47 ± 0,31 ^b	6,02 ± 2,19
Glicídios	3,53 ± 1,99 ^{ns}	4,15 ± 0,98 ^{ns}	5,67 ± 0,90 ^{ns}	4,45 ± 1,10

Tabela 1: Composição Centesimal de “farinha proteica a base de tenébrio”

As médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem significativamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ns = não significativo.

Costa-Neto (2011) verificou teor de umidade de 4,20%, cinzas 4,45%, proteínas

54,35%, lipídios 30,66% e fibras de 6,20%, o que demonstrou divergência significativa em alguns parâmetros, com relação aos obtidos na farinha proteica de larva de tenébrio, sugerindo possível interferência da dieta ou processamento, porém ainda não existem legislações e parâmetros técnicos para esse tipo de alimentos. Quando comparado a outros alimentos provenientes de outras espécies, o tenébrio é bem superior em relação a sua composição centesimal (Tabela 2).

Análises (%)	Descrição de Alimentos						
	Tenébrio	Contra filé (bov.)	Frango (c/ pele)	Pernil suíno	Pintado	Camarão	Farinha de trigo
Umidade	5,82	65,7	66,5	67	80,3	61,0	13,0
Cinzas	2,66	0,9	0,7	1,0	1,1	2,1	0,8
Proteínas	46,08	21,2	16,4	20,1	18,6	18,4	9,8
Lipídeos	35,16	12,8	17,3	11,1	1,3	15,5	1,4
Fibras	6,02	NA	NA	NA	NA	NA	2,3
Glicídeos	4,45	0	0	0	0	0	75,1

Tabela 2: Comparação da Composição Centesimal de “farinha proteica a base de tenébrio” com demais tipos de alimentos

Fonte: Lima et al., (2006)

O baixo teor de umidade favorece a conservação deste alimento, e o seu teor de cinzas, demonstra maior quantidade de minerais que outras espécies de animais. O mesmo pode ser observado em relação à proteína, caracterizando-o como uma rica fonte proteica. Os teores lipídicos das larvas de tenébrio (35,18%) são superiores inclusive ao encontrado em frango cru (17,3%), o que pode ser favorável ou não, dependendo das suas características.

A análise realizada de perfil lipídico demonstrou que a larva de tenébrio apresenta altos teores de ácidos esteárico e oleico (C18:0 e C18:1), superiores a 56%, além de ácidos linoleico (17,51 ± 0,22%) e palmítico (16,72 ± 0,24%). Portanto, as larvas de tenébrio possuem uma alta taxa de ômega 3, 6 e 9 e baixo nível de ácido mirístico (C 14:0), próximos a 0,01% que possui atividade hiperlipêmica, sendo prejudicial à saúde.

Quanto ao valor energético, os ácidos graxos comportam-se semelhantemente, no entanto existem diferenças quanto ao efeito fisiológico. Alguns ácidos graxos insaturados produzem efeitos específicos no organismo vivo e, contrariamente a outros, não podem ser sintetizados pelo homem, sendo considerados ácidos graxos essenciais devendo ser supridos pela alimentação. Devido à presença destes ácidos graxos em concentrações consideráveis, o tenébrio também possui como atrativo ser também uma nova fonte de ácidos graxos essenciais.

Com base nos resultados fica evidente que o tenébrio é uma fonte muito mais rica em nutriente, principalmente se comparado a outras fontes de origem animal e também alguns vegetais.

As análises microbiológicas foram realizadas nas larvas processadas íntegras e trituradas. Por não haver legislação específica para o alimento estudado, foram realizadas análises tendo como base de referência o filo Arthropoda, grupo 7 item “a” da RDC n.12 da ANVISA 2001 e o grupo de alimentos como farinhas, cereais e derivados, grupo 10 item “I” da mesma RDC, Foram realizadas análises de bolores e leveduras para garantir ainda mais a qualidade microbiológica (Brasil, 2001).

Os resultados obtidos para as amostras L3.a, L4.a e L5.a (Tabela 3), demonstraram estar em conformidade quando os mesmos foram confrontados com os limites estabelecidos pela legislação brasileira, conforme os padrões microbiológicos descritos pela RDC n°12 (Brasil, 2001), estando assim apto para o consumo.

Parâmetros Avaliados	RDC 12 / 2001 e CNNPA 12 / 1978	Tenébrios Processados					
		Integro			Triturado		
		L3.a	L4.a	L5.a	L3.b	L4.b	L5.b
Coliformes a 45°C	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500
Coliformes totais	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500
<i>Bacillus cereus</i>	< 5000	< 5000	< 5000	< 5000	> 5000	> 5000	> 5000
<i>Salmonella</i> ssp.	Aus.	Aus.	Aus.	Aus.	Aus.	Aus.	Aus.
<i>S. aureus</i>	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000
Bolores e leveduras	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000

Tabela 3: Análises microbiológicas do tenébrio processado integro e triturado, por tolerância em amostra indicativa.

UFC/g - Unidade Formadora de Colônias por grama de amostra. Contagem de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva: 10^3 UFC/g Padrões microbiológicos para crustáceos; Contagem de coliformes a 45°C: 5×10^2 UFC/g; Contagem de *Bacillus cereus*: 5×10^3 UFC/g; Pesquisa de *Salmonella* ssp. em 25g: Ausência. Padrões microbiológicos para farinhas e cereais e derivados (Brasil, 2001); em Contagem bolores e leveduras 10^3 de UFC/g Padrões microbiológicos para farinhas e cereais e derivados (Res. CNNPA 12, 1978).

Para as amostras L3.b, L4.b e L5.b (Tabela 3), foram encontradas presenças significativas de *Bacillus cereus*, no entanto não foi possível a determinação exata da quantidade de unidades formadoras de colônias UFC/g, sendo considerado incontável. Dentre às bactérias mais comuns que levam à ocorrência de doenças de origem alimentar, encontra-se *B. cereus*, presente em locais diversificados, como solo, vegetação, água e pêlos de animais. Estas bactérias exibem grande capacidade de sobrevivência e se multiplicam em ampla faixa de temperatura, podendo persistir nos alimentos processados (Coelho et al., 2010). Este parâmetro é de suma importância, uma vez que para a criação do inseto, foi utilizado na sua dieta, grãos e cereais, que poderiam servir de substrato para o desenvolvimento deste microrganismo.

De uma forma geral, pode-se afirmar que os procedimentos de higienização, manipulação e estocagem dos insetos garantiram a segurança microbiológica do produto. Para os resultados incoerentes com a legislação para *B. cereus*, cabem

melhores investigações sobre as prováveis causas de contaminação. Possivelmente a contaminação da dieta e a temperatura insuficiente para esterilização da mesma ou ainda decorrente da presença de esporos no intestino do inseto. Apesar do processo de trituração da larva do tenébrio favorecer a aceitação em relação ao consumo de insetos, cabem mais estudos, por atender parcialmente aos requisitos necessários.

4 | CONCLUSÃO

Fica evidente que o tenébrio é rico em nutrientes podendo assim ser inserido na dieta da população como uma nova fonte rica em nutrientes, podendo substituir produtos de origem animal.

As larvas de tenébrio são ricas em proteína e bem superiores a outros alimentos, podendo ser usada como fonte de proteínas para todo tipo de pessoa, inclusive ser inserido em suplementos alimentares para praticantes de atividades físicas ou pessoas que necessitem de dietas hiperproteicas. Fonte de ômega poderá complementar a alimentação ou substituir alimentos como atum e sardinhas.

Devido ao baixo custo e pouco espaço para sua criação em relação aos outros tipos de animais, pode ser uma fonte alternativa de nutrientes para o futuro.

Insetos na forma íntegra demonstraram conformidade com a RDC nº12, no entanto na forma triturada atendeu parcialmente aos requisitos da legislação, sendo necessários mais estudos para sua futura utilização na alimentação humana. Faz-se necessário a criação de legislação que regulamente a comercialização de alimentos para consumo humano a base de insetos no Brasil e que estabeleça padrões microbiológicos para alimentos que utilizem insetos em suas formulações.

5 | AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao IFMT - Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso pelo aporte financeiro ao projeto e ao Univag - Centro Universitário de Várzea Grande pelo apoio nas análises e criação dos insetos.

REFERÊNCIAS

Anthes, E. **Billions more hungry mouths are going to put more strain on the planet's resources. Can eating creepy crawlies offer a solution?** Emily Anthes reports, 2014. Disponível em : <<http://www.bbc.com/future/story/20141014-time-to-put-bugs-on-the-menu>>

Boulos, M.E.M.S. **Segurança alimentar: uma preocupação – questão de atualizar e viabilizar informação.** Nutrição em Pauta, p. 21-23, nov.-dez. de 1999.

Bednářová, M.; Borkovcová, M.; Miček, J.; Rop, O.; Zeman, L. - **Edible insects - species suitable for entomophagy under condition of Czech Republic.** Acta Universitatis Agricolurae et Silviculturae Mendelianae Brunensis 64 (3): 587-593, 2013.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 1978. **Resolução CNNPA n. 12 de 1978**. NORMAS TÉCNICAS ESPECIAIS, do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas), para efeito em todo território brasileiro.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2001. **Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001**. Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos.

Coelho, A. I. M.; Milagres, R. C. R. M.; Martins, J. F. L.; Azeredo, R. M. C.; Santana, A. M. C. - **Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais**; *Ciência & Saúde Coletiva*, 15(Supl. 1):1597-1606, 2010

Costa-Neto, E. M. - **Insetos como fontes de alimentos para o homem: valoração de recursos considerados repugnantes**. *Interciência* 28 (3): 136-140, 2003.

Gabalda R. **FAO recomenda insetos para combater a fome**. *Revista veja*, maio 2013. Disponível em: < <http://veja.abril.com.br/noticia/saude/fao-recomenda-insetos-para-combater-a-fome/> >

Hernández-Pacheco, F. **Escena pictórica con representaciones de insectos da época paleolítica**. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural* 50: 62-77. 1921

Ial, Instituto Adolfo Lutz. **Normas Analíticas: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 2ª ed., São Paulo, v.l., 1997. 371p.

Lima M. D, Colugnati B. A. F, Padovani M. R, Rodriguez B. D, Salay E, Galeazzi M. A. M. **TACO-tabela brasileira de composição de alimentos**. Unicamp, 2006. Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_versao2.pdf>

Ramos-Elorduy, Julieta. - **La antroponofagia y las culturas**. In: Costa- Neto, Eraldo M.; Santos Fita, Dídac; Vargas Clavijo, Mauricio (Ed.). *Manual de etnozoología: una guía práctica para investigar la interconexión del ser humano con los animales*. Valencia: Tundra, 2009.

Silva, N.; Junqueira, V. A.; Silveira, N. F. A.; Taniwaki, M. H.; Santos, R. F. S.; Gomes, R. A. R.; - **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. Valéria Christina Amstalden - São Paulo: Livraria Varela, 2010.

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICAS DE DIFERENTES VARIEDADES DE OLIVAS PRODUZIDAS NA UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Lívia Alves Barroso

UFVJM, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Diamantina - MG

Iara Lopes Lemos

UFVJM, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde
Diamantina - MG

Gustavo de Castro Barroso

UFVJM, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde
Diamantina - MG

Tatiana Nunes Amaral

UFVJM, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Diamantina - MG

RESUMO: A oliva, fruto da oliveira, tem adquirido relevância especial ao longo dos anos pelo seu valor nutritivo e benefícios à saúde. O consumo deste fruto pode ser feito através da produção de conservas ou pela extração e obtenção do azeite. Este trabalho tem por objetivo analisar, física e quimicamente, quatro variedades de olivas: Ascolano, Barnea, Grappolo e Koroneiki. Foram realizadas análises em relação a concentração de sólidos solúveis, acidez, umidade, cinzas e atividade de água. Os resultados obtidos demonstraram que as olivas apresentaram semelhança em relação

a quantidade umidade e cinzas, e diferenças significativas em relação aos sólidos solúveis.

PALAVRAS-CHAVE: Ácido graxo; Avaliação; Azeitona.

CHARACTERIZATION PHYSICAL-CHEMICAL OF DIFFERENT VARIETIES OF OLIVES PRODUCED AT THE FEDERAL UNIVERSITY OF THE JEQUITINHONHA AND MUCURI VALLEYS

ABSTRACT: Olive, the fruit of the olive tree, has acquired relationship over the years for its nutritive value and health benefits. The consumption of this story can be done through the production of preserves or by the extraction and extension of the oil. This work aims to analyze, physically and chemically, four olive varieties: Ascolano, Barnea, Grappolo and Koroneiki. They were analyzed in relation to the concentration of solids, acidity, humidity, ashes and water activity. The results obtained are compared with the results found in relation to a quantity of data, and the differences in relation to the soluble ones.

KEYWORDS: Evaluation; Fatty acid; Olive; Description.

1 | INTRODUÇÃO

Pertencente à Família das Oleaceae a oliveira (*Olea europaea L.*), com nome genérico Olea que vem do latim oliva (azeitona), foi introduzida no Brasil por imigrantes europeus por volta de 1820. A região de Diamantina tem clima e solo propícios para o cultivo de oliveiras, de acordo com o clima da região é do tipo Cwb (Clima subtropical de altitude) segundo classificação de Köppen, temperado úmido, com inverno seco e chuvas no verão (CARVALHO *et al.*, 2013).

A partir da oliva, que é o fruto maduro da oliveira, é possível realizar uma conserva ou extração do azeite de oliva. O fruto fresco contém água (40-45%), glicídios (10-20%) e lipídeos (30% do fruto inteiro e 50% na polpa) (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Estudos recentes evidenciam que as olivas são boas fontes de óleo vegetal, com representação de ácido oléico acima de 64,39%. Essa matéria-prima é capaz de atender necessidades energéticas ligadas ao teor de lipídeos, atuando no organismo como responsável pela ação antioxidante, o que torna uma expressiva fonte econômica mundial nas indústrias de alimentos (BENEDICO *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Como existem atualmente inúmeras cultivares de oliveiras plantadas, oriundas de cruzamentos e seleções de materiais cultivados, se faz necessário que estas diversidades sejam analisadas, com isso o objetivo deste projeto foi avaliar os quatro tipos diferentes de azeitonas introduzidas na Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) com relação a acidez, sólidos solúveis, umidade, atividade de água e cinzas.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

As olivas, colhidas em Março de 2018, foram doadas pelo departamento de Agronomia da UFVJM. As análises ocorreram nos laboratórios de Matérias Primas Alimentares e Análise de Alimentos do curso de Engenharia de Alimentos, na UFVJM. Foram analisadas quatro tipos diferentes de olivas: *Ascolano*, *Barnea*, *Grappolo* e *Koroneiki*.

Para a análise de acidez titulavel as amostras foram higienizadas com solução de hipoclorito (200 ppm) e trituradas, e então foi feita a titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1M e como indicador utilizou-se a fenolftaleína. Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico utilizando a metodologia AOCS (2004) com três repetições para cada amostra. A análise dos sólidos solúveis totais foi realizada por refratometria com o auxílio de um refratômetro digital portátil modelo 105-D. A umidade foi medida pelo método da estufa a 105°C até peso constante. Para a avaliação da atividade de água, foi utilizado um medidor de atividade de água modelo CX2 (DecagonDevices Inc.). A determinação do teor de cinzas foi feita pela

incineração a seco da polpa da azeitona em mufla a $550\pm 15^{\circ}\text{C}$, até se obter uma cor branca, segundo o método AOAC (2000).

Todos os dados obtidos foram avaliados utilizando o programa estatístico STATISTICA 8.0 através de análise de variância (ANOVA) e para comparação das médias foi realizado o teste de Tukey com nível de significância de 5% de probabilidade do erro.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição média da oliva varia de acordo com o cultivar e também em função da época do cultivo, o que influencia nas diferenças físico-químicas entre elas (Tabela 1). A atividade de água indica a quantidade de água livre presente no alimento, disponível para crescimento microbiano e reações que possam deteriorar este alimento, além de servir para avaliar o potencial de biodegradação é também responsável pelas alterações na cor, odor, sabor e textura do alimento (DITCHFIELD, 2000).

Análise/Amostra	Ascolano	Barnea	Grappolo	Koroneiki
Atividade de água	0,9942 ^a	0,9906 ^{ab}	0,9894 ^{ab}	0,9868 ^b
Sólidos Solúveis (°Brix)	11,00 ^a	9,17 ^b	7,03 ^d	8,37 ^c
Acidez (g ác. Cítrico / 100g)	2,44 ^a	1,76 ^b	1,02 ^d	1,56 ^c
Umidade (g H ₂ O/ 100 g de Amostra)	72,76 ^{ab}	72,30 ^b	72,09 ^b	73,29 ^a
Cinzas (%)	1,90 ^b	1,20 ^b	1,67 ^b	3,60 ^a

Tabela 1. Resultados das análises de sólidos solúveis, atividade de água (aw), acidez, umidade e cinzas das quatro variedades de olivas.

Médias seguidas de uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. Fonte: Elaboração própria, 2019.

No experimento as amostras que se diferiram significativamente foram *Ascolano* e *Koroneiki*. Em relação aos sólidos solúveis, todas as amostras apresentaram diferença significativas entre elas, demonstrando assim as diferentes aplicações e os diferentes níveis de concentração de açúcares entre as olivas. Com relação à acidez, verificaram-se diferenças significativas entre as amostras, isso devido à presença dos ácidos orgânicos no fruto fresco.

Segundo Turatti *et al.* (2002), o fruto inteiro da oliveira é constituído de 50% de umidade, 1,6% de proteínas, 22% de lipídios, 19,1% de carboidratos, 5,8% de celulose e 1,5% de minerais, confirmando assim os altos valores encontrados para a umidade das olivas, isso devido a maior concentração de nutrientes na polpa. Além disso, pode ser observado a relação dos valores altos de atividade de água e a influência

direta no resultado da umidade, sendo que as olivas do tipo *Koroneiki* foram as que apresentaram maiores valores de umidade. Em relação ao teor de cinzas, apenas a amostra de *Koroneiki* diferiu significativamente das outras amostras, apresentando o menor teor de cinzas. As cinzas incluem os sais naturalmente presentes na azeitona. É de aludir que o teor de cinzas eleva-se durante a fermentação e o processo de amadurecimento, e que teores de cinzas reduzidos condizem a um baixo teor de sal, o que nutricionalmente é mais adequado (MALHEIRO *et al.*, 2012).

4 | CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos percebem-se altos valores de atividade de água e umidade das olivas analisadas, o que corrobora com a literatura de ser um produto perecível e de fácil oxidação. Além de que ao final das análises foi possível avaliar as diferenças e semelhanças entre as oliveiras presentes na UFVJM, e dessa forma contribuir com informações relacionadas à verificação da aplicabilidade das olivas, se é para produção de conservas ou extração de óleos.

REFERÊNCIAS

AOAC - **Official Methods of Analysis of AOAC** International, 17th Ed.,; Horwitz, W.; AOAC: Arlington, VA, Vol, II (1-3), 2000.

AOCS - AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society**. Washington, 2004.

BENEDICO, E. C.; PÉREZ, C.A.; MARTINEZ, D.S. **Aceite de oliva virgín: ¿Qué debe saber el profesional de atención primaria?**. Centro de Salud de Biescas, v. 10, n.7, p. 391-395, 2002.

CARVALHO, R. P. de; CRUZ, M. do C. M.; OLIVEIRA, A. F. de; FAGUNDES, M. C. P. **Teores de nutrientes de dois cultivares de oliveira durante o crescimento vegetativo e o florescimento**. Rev. Ceres, vol.60 n.º.4, Viçosa, jul./ago. 2013.

DITCHFIELD, C. **Estudos dos métodos para a medida da atividade de água**. 195 f. Dissertação: Mestrado em Engenharia - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico químicos para análises de alimentos**. 4ª ed. (1ª Edição digital), 2008. 1020 p

MALHEIRO, R.; CASAL, S.; SOUSA, A.; PINHO, P. G.; PERES, A. M.; DIAS, L. G.; BENTO, A.; PEREIRA, J. A. **Effect of cultivar on sensory characteristics, chemical composition and nutritional value of stoned green table olives**. Food and Bioprocess Technology, 5, 1733-1742, 2012

OLIVEIRA, A. F.; VIEIRA NETO, J.; GONÇALVES, E. D.; VILLA, F.; SILVA, L. F. de O. **Enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira sob diferentes épocas, substratos e concentrações de ácido indolbutírico**. Ciência e Agrotecnologia, v. 27, n. 1, p. 117-125, 2003.

OLIVEIRA, A. F.; VIEIRA NETO, J.; GONÇALVES, E. D.; VILLA, F.; SILVA, L. F. de O. **Pioneirismo marca pesquisa sobre oliveira em Minas Gerais**. Informe Agropecuário, v. 30, n. edição especial, p.

109-117, 2009.

TURATTI, J. M.; GOMES, R. A. R.; ATHIÉ, I. **Lipídeos: aspectos funcionais e novas tendências.** Campinas-SP: ITAL, 2002. p. 78, 2002.

COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTAS ORGÂNICAS E CONVENCIONAIS

Júlia Montenegro

Laboratório de Alimentos Funcionais,
Departamento de Ciência de Alimentos,
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
– UNIRIO.
Rio de Janeiro – RJ

Renata dos Santos Pereira

Laboratório de Alimentos Funcionais,
Departamento de Ciência de Alimentos,
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
– UNIRIO.
Rio de Janeiro – RJ

Joel Pimentel Abreu

Laboratório de Alimentos Funcionais,
Departamento de Ciência de Alimentos,
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
– UNIRIO.
Rio de Janeiro – RJ

Anderson Junger Teodoro

Laboratório de Alimentos Funcionais,
Departamento de Ciência de Alimentos,
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
– UNIRIO.
Rio de Janeiro – RJ

RESUMO: A alimentação orgânica tem sido valorizada no mundo moderno, sendo caracterizada como apropriada à saúde, reduzindo a degradação ambiental. O objetivo deste estudo foi comparar as características físico-químicas e a atividade antioxidante

de morangos e tangerinas convencionais e orgânicas. Foram adquiridos 3 lotes de amostras orgânicas certificadas, orgânicas e convencionais, as quais foram então submetidas a análises físico-químicas e ensaios de DPPH e FRAP. Observou-se que as amostras orgânicas certificadas de morango e tangerina apresentaram maiores valores de acidez que as amostras orgânicas e convencionais. Amostras orgânicas e orgânicas certificadas de morango apresentaram valores médios mais elevados de açúcares redutores, não houve diferença significativa entre as amostras de açúcares redutores de tangerinas. Morango e tangerina orgânica certificada e orgânica apresentaram maiores valores de ácido ascórbico do que as amostras convencionais. Observou-se maior atividade antioxidante nos métodos DPPH e FRAP para amostras orgânicas de morango e orgânicas certificadas de tangerinas.

PALAVRAS-CHAVE: Orgânico; Tangerina; Morango; Atividade Antioxiante; Análise físico-química.

COMPARISON OF PHYSICAL AND
CHEMICAL CHARACTERISTICS AND
ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ORGANIC AND

ABSTRACT: Organic food has been valorized on modern world, being characterized as appropriate to health while reducing environmental degradation. The aim of this study was to compare physicochemical characteristics and antioxidant activity for conventional and organics strawberry and tangerines. It was acquired 3 lots of organic samples, certified organic and conventional, those were then submitted to physicochemical analysis and DPPH and FRAP assays. It was observed that certified organic strawberry and tangerine showed higher values of acidity than organic and conventional samples. Organic and certified organic samples showed higher mean values of reducing sugars, there was no significant difference between reducing sugars tangerines samples. Organic and organic certified strawberry and tangerine showed higher values of ascorbic acid than conventional samples. It was observed higher antioxidant activity in DPPH and FRAP methods for organic strawberry samples and certified organic tangerines.

KEYWORDS: Organic; Tangerine; Strawberry; Antioxidant activity; Physicochemical analysis.

1 | INTRODUCTION

The development of chronic diseases, such as cardiovascular diseases (CVD), cancer, hypertension and type 2 diabetes, involves large production of free radicals leading to oxidative stress. A fruit-abundant diet has been associated with lower risk of chronic diseases, because in addition to its vitamin and mineral composition, it may also contain other compounds with protective effects, specially antioxidants (Arts and Hollman, 2005). It is well known the relationship of the antioxidants with the prevention of various chronic diseases, they neutralize free radicals, delaying and inhibiting the oxidation of lipids and other molecules.

The production of fruits may be performed by different systems. The conventional system is characterized by a high use of chemical pesticides, in order to increase productivity, quality and resistance to pests and diseases. Possible toxic effects in humans are related to the use of pesticides in conventional agriculture, due to active ingredients in its composition (Kopke, 2009).

Organic production entails the growing of crops without synthetic pesticides. Organic producers utilize a wide range of alternative inputs and cultural practices for managing the cultures in a way believed to be safer for the environment and better for the consumer. The organic system is an alternative, but it is considered more expensive than the conventional (Engindeniz, 2006). The certification of organic products can be made internationally or nationally and is recognized in the market with an organic certification stamp meaning it have been produced according to applicable organic production rules. Organic food produced against the standards of the country where the product is sold is identified as fraud (FAO, 2009).

Literature suggests that organic farming could result in foods with higher polyphenol quantity and antioxidant capacity. The use of synthetic fertilizers could offer more bioavailable sources of nitrogen, accelerating plant development and plant resources from production of secondary metabolites to growth. Furthermore, the absence of synthetic pesticides could result in higher exposure of the plant to stressful situations leading to an enhancement of natural defense substances such as phenolic compounds (Winter and Davis, 2006; Woese et al., 1997).

Due to increased consumer interest in organic food, it becomes necessary to know, based on scientific studies, the quality of the different organic systems. The aim of this research was to compare the physical and chemical characteristics and antioxidant capacity of organic and conventional strawberry (*Fragaria vesca*) and tangerine (*Citrus reticulata*).

2 | MATERIALS AND METHODS

Three different samples of each type of crop (certified organic, non-certificate organic and conventional) of strawberry (*Fragaria vesca*) and tangerine (*Citrus reticulata*) were purchased in supermarkets and farmer's markets in Brazil in the city of Rio de Janeiro. Samples were analyzed between June 2014 and September 2015. All samples were of the same cultivar and had similar sensory characteristics.

The physicochemical evaluated parameters were: density, acidity, reducing and total soluble solids sugars, vitamin C, according to conventional methodology recommended by the Adolfo Lutz Institute (BRASIL, 2005). The color analysis of strawberry samples was determined in the CIELAB system using portable colorimeter Konica Minolta (CR / 400 / 410- Sensing, INC- Japan) which was calibrated with white porcelain plate.

The strawberry and tangerine samples were extracted with four different extracting solutions: methanol, methanol 50%, acetone 70% and sequential. The antioxidant activity was evaluated by the methods: DPPH (Rufino et al., 2007a) ABTS (Rufino et al., 2007b) and FRAP (Rufino et al., 2006)

Results were expressed as means \pm SD since all the analysis was done in triplicate. The results were submitted to analysis of variance (ANOVA) and the means were compared by Tukey test at 5% probability, using the GraphPadPrism 4.0 and Statistical 6.0.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

It was observed that the average acidity values of certified organic strawberry and tangerine samples were higher when compared to conventional and organic samples ($p < 0.05$) (Table 1). Meanwhile, the average values of density, soluble solids and total sugars showed no statistical difference between conventional, organic and

certified organic strawberries and tangerines ($p < 0.05$).

Fischer et al. (2007) found in a study with passion fruit, that organic fruits have greater titratable acidity levels, as seen in this study for strawberries and tangerines (Table 1). Similar results were also obtained in a de Castro et al. (2014) study, which found significantly higher acidity values in organic orange samples when compared to conventional ones.

According to Arbos et al. (2010), food produced under organic system often shows higher levels of vitamin C than those produced conventionally. This fact is noted by the result obtained on certified organic strawberry and tangerine (Table 1).

Fruit	Sort	Acidity (g%)	Ascorbic Acid (mg%)	Brix(°)	Density (g/cm ³)	Total Sugar (g%)	Reducing Sugar (g%)
S	C	0.72±0.00 ^a	47.14±0.97 ^a	5.22±1.00 ^a	1.03±0.00 ^a	5.60±3.8 ^a	5.64±0.14 ^a
	CO	0.98±0.16 ^b	66.52±0.08 ^b	4.75±1.45 ^a	1.05±0.00 ^a	5.27±1.02 ^a	3.10±0.11 ^b
	O	0.62±0.05 ^a	57.36±3.14 ^b	6.87±1.31 ^a	1.01±0.00 ^a	6.95±2.85 ^a	4.89±0.99 ^b
T	C	0.70±0.02 ^a	38.64±0.15 ^a	10.15±1.10 ^a	1.04±0.00 ^a	9.29±1.30 ^a	11.11±0.30 ^a
	CO	0.87±0.00 ^b	57.70±0.92 ^b	10.00±1.05 ^a	1.03±0.00 ^a	8.45±1.18 ^a	12.10±0.85 ^a
	O	0.74±0.12 ^a	42.21±1.20 ^a	9.82±1.00 ^a	1.04±0.00 ^a	9.40±1.00 ^a	11.52±1.25 ^a

Table 1. Physicochemical comparison between the averages of organic (O), certified organic (CO) and conventional (C) strawberries(S) and tangerines (T).

*Different letters in the same column differ statistically ($p < 0.05$)

However, it should also be considered that variables such as climate, region, soil, farming, irrigation and post-harvest treatment may have influence on the results of physicochemical analysis. As noted in Rizzon et al. (2005) study, hot climate regions, in addition to fruit state of maturity, can influence the amount of sugar produced. Likewise, Brunini et al. (2004) had demonstrated the influence of climatic conditions, soil, and farming, among other factors, the results for vitamin C, acidity, soluble solids and total sugars in West Indian cherry.

In colorimetric analysis, shown in Figure 1, the only significant difference in color intensities between different forms of strawberry production, was in b* coordinate, meaning the sample was more bluish. However, in tangerines, there was a significant difference in L* and a* coordinates of certified organic sample, indicating that this sample is lighter and reddish. Both results are probably due to the higher presence of bioactive compounds in those samples.

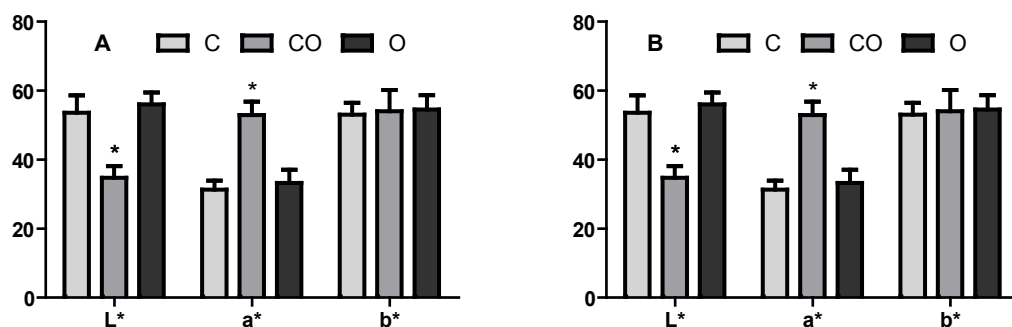


Figure 1. Color coordinates (L * a * b *) in conventional (C) certified organic (CO) and organic (O) samples in strawberry (A) and tangerine (B). *Tukey Test (p<0.05)

Antioxidant activity analysis by the DPPH method (Table 2) shows that there was no significant difference (p>0.05) regarding the used extractors. It was found that organic strawberry samples showed greater reduction of DPPH radical over conventional and organic samples (p<0.05), suggesting higher antioxidant activity. Concerning to tangerines, certified organic samples have demonstrated more reduction of DPPH radical than organic and conventional samples (p<0.05), indicating greater antioxidant capacity.

Fruit	Sort	Extractor	2,5 mg	5mg	10mg	R ²
S	CO	Methanol	46.20±6.80 ^a	58.43±0.58 ^a	74.18±4.30 ^a	0.9862
		Methanol 50%	42.52±5.55 ^a	53.35±4.87 ^a	74.31±1.96 ^a	0.9999
		Acetone 70%	42.65±3.83 ^a	55.60±3.75 ^a	73.09±2.97 ^a	0.9892
		Sequential	42.62±5.76 ^a	56.71±5.60 ^a	78.91±0.62 ^a	0.9962
	O	Methanol	58.18±2.67 ^b	72.45±1.84 ^b	92.26±0.58 ^b	0.9907
		Methanol 50%	60.98±1.73 ^b	74.07±4.08 ^b	94.89±5.20 ^b	0.9965
		Acetone 70%	59.97±3.68 ^b	72.25±3.84 ^b	95.34±2.28 ^b	0.9998
		Sequential	61.23±1.06 ^b	75.35±4.28 ^b	95.58±2.95 ^b	0.9923
	C	Methanol	46.58±9.83 ^a	56.72±9.10 ^a	72.35±10.94 ^a	0.9954
		Methanol 50%	47.77±6.96 ^a	56.37±10.05 ^a	76.76±7.25 ^a	0.9984
		Acetone 70%	50.21±7.36 ^a	60.15±7.31 ^a	78.29±7.60 ^a	0.9995
		Sequential	46.77±7.65 ^a	60.81±6.35 ^a	79.74±7.81 ^a	0.9891
T	CO	Methanol	47.47±5.67 ^a	52.12±4.82 ^a	62.44±4.33 ^a	0.9993
		Methanol 50%	49.67±4.81 ^a	54.87±5.34 ^a	65.70±3.06 ^a	0.9999
		Acetone 70%	47.70±4.34 ^a	54.13±2.20 ^a	62.18±3.36 ^a	0.9843
		Sequential	46.44±2.85 ^a	51.36±3.02 ^a	62.37±2.33 ^a	0.9993
	O	Methanol	41.22±4.57 ^c	45.55±4.37 ^c	51.70±5.22 ^c	0.9919
		Methanol 50%	41.64±3.85 ^c	45.41±4.94 ^c	52.23±5.52 ^c	0.9994
		Acetone 70%	41.88±5.20 ^c	45.67±4.64 ^c	52.55±5.04 ^c	0.9994
		Sequential	41.61±5.51 ^c	45.22±5.57 ^c	51.10±5.48 ^c	0.9973
	C	Methanol	39.73±0.65 ^c	42.89±0.45 ^c	50.60±0.64 ^c	0.9978
		Methanol 50%	38.23±3.51 ^c	42.28±3.30 ^c	51.69±1.02 ^c	0.9987
		Acetone 70%	39.91±3.79 ^c	42.74±3.83 ^c	51.13±2.86 ^c	0.9995
		Sequential	41.32±1.14 ^c	45.62±0.28 ^c	51.72±2.53 ^c	0.9918

Table 2. Antioxidant activity comparison between the averages of organic (O), certified organic (CO) and conventional (C) strawberries (S) and tangerines (T) samples by DPPH method.

*Different letters in the same column differ statistically ($p < 0.05$)

This antioxidant capacity is probably due to higher content of ascorbic acid, which as previously also presented higher results in organic strawberry and certified organic samples. Similar results were obtained by de Castro et al. (2014), who observed greater reduction of DPPH radical in organic samples of orange and lime compared to conventional ones.

In ABTS assay (Figure 2), there was no statistical difference ($p > 0.05$) between extractors neither between the organic, certified organic and conventional samples, both in strawberries and tangerines.

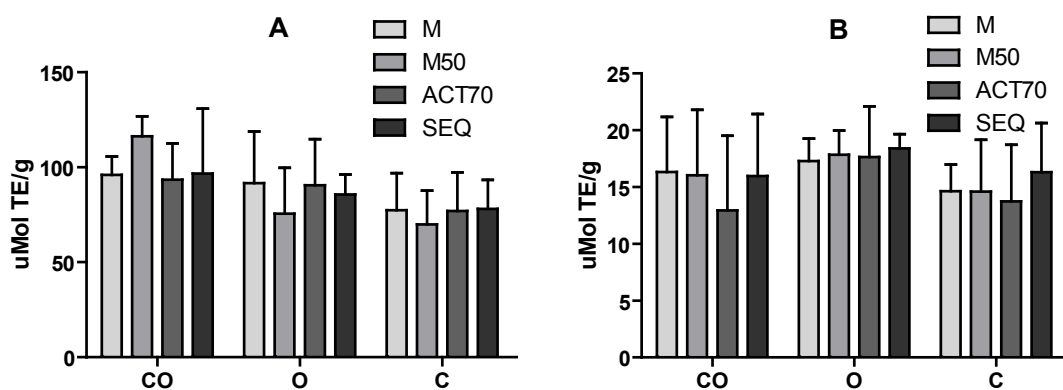


Figure 2. Antioxidant Activity by ABTS assay of strawberry (A) and tangerine (B).

There was no significant difference ($p > 0.05$) between the used extractors in FRAP assay, except for methanol in organic strawberry, as shown in Figure 3. The antioxidant capacity is statistically higher in organic strawberry samples than conventional and certified organic samples ($p < 0.05$). Regarding to tangerines, certified organic samples had greater antioxidant activity in certified organic samples than organic and conventional ones ($p < 0.05$).

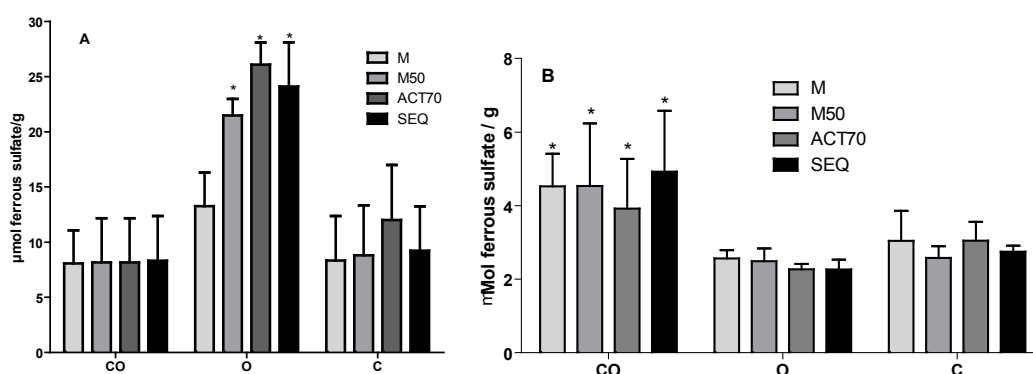


Figure 3. Antioxidant Activity by FRAP assay of strawberry (A) and tangerine (B). *Tukey Test ($p < 0.05$).

Literature shows similar results, such as, Copetti (2012) found that strawberries grown by organic system showed higher levels of antioxidants compared to conventional crops system using the FRAP methods.

4 | CONCLUSION

Few differences in the physicochemical properties between the samples of organic and conventional strawberry were found, despite what literature suggests. The differences detected in content of nutrients and other substances between organically and conventionally produced crops and livestock products are most likely related to differences in crop and soil quality.

However, vitamin C content and antioxidant capacity tended to be higher in plants grown using organic agriculture. The literature suggests that the exposure of plant foods to stressful situations could modulate the synthesis of defense substances such as polyphenols, which reflects in a higher antioxidant capacity. However, the results showed distinct profiles according to the fruit analyzed, highlighting the need for greater standardization of production without loss of nutritional quality.

REFERENCES

ARBOS, Kettelin Aparecida et al. **Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 30, n. 2, p. 501-506, 2010.

ARTS, Ilja CW; HOLLMAN, Peter CH. **Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies.** The American journal of clinical nutrition, v. 81, n. 1, p. 317S-325S, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instituto Adolfo Lutz. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos.** Brasil: Ministério da Saúde, p. 819-877. 2005.

BRUNINI, Maria Amalia et al. **Caracterização física e química de acerolas provenientes de diferentes regiões de cultivo.** Revista Brasileira de Fruticultura, p. 486-489, 2004.

COPETTI, Cristiane et al. **Atividade antioxidante in vitro e compostos fenólicos em morangos (Fragaria X ananassa Duch): influência da cultivar, sistema de cultivo e período de colheita.** 2012.

DE CASTRO, Danielle dos Santos Bonfim et al. **Comparative evaluation of organic and conventional farming on chemical quality parameters and antioxidant activity in fruits.** African Journal of Biotechnology, v. 13, n. 18, 2014.

ENGINDENIZ, Sait; TUZEL, Yuksel. **Economic analysis of organic greenhouse lettuce production in Turkey.** Scientia Agricola, v. 63, n. 3, p. 285-290, 2006.

FAO (Food and Agriculture Organization). **Glossary On Organic Agriculture.** 2009. Disponível em: <<http://www.fao.org/family-farming/detail/en/c/282593/>>. Acesso em: 11 jul. 2019.

FISCHER, Ivan Herman et al. **Doenças e características físicas e químicas pós-colheita em maracujá amarelo de cultivo convencional e orgânico no centro oeste paulista.** Revista Brasileira de Fruticultura, v. 29, n. 2, p. 254-259, 2007.

KOPKE, U. **Influence of organic and conventional farming systems on nutritional quality of food.** Impacts of agriculture on human health and nutrition, p. 210-238, 2009.

RIZZON, Luiz Antenor; BERNARDI, João; MIELE, Alberto. **Características analíticas dos sucos de maçã Gala, Golden Delicious e Fuji.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 25, n. 4, p. 750-756, 2005.

RUFINO, M. D. S. M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH.** Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2007a.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS•+.** Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2007b.

RUFINO, M. D. S. M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP).** Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2006.

WINTER, C. K.; DAVIS, S. F. **Organic foods.** Journal of Food Science, Oxford, v.71, n.9, p.117-124, 2006.

WOESE, Katrin et al. **A comparison of organically and conventionally grown foods—results of a review of the relevant literature.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 74, n. 3, p. 281-293, 1997.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE HERBICIDA (FITOTÓXICA) DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia thymoides* Mart. & Schauer (VERBENACEAE)

Sebastião Gomes Silva

Universidade Federal do Pará, Programa de Pós-Graduação em Química. PARÁ- UFPA - Guamá, Belém - PA, 66075-110. Secretaria de Educação do Estado do Pará. Rodovia Augusto Montenegro Km 10, S/N Bairro: Icoaraci CEP: 66820-000.

Renato Araújo da Costa

Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Pará. Parauapebas –Pará, Rodovia PA 275, s/n Bairro - União, Parauapebas - PA, 68515-000.

Jorddy Neves da Cruz

Embrapa Amazônia Oriental, Tv. Dr. Enéas Pinheiro - Curió Utinga, Belém - PA, 66095-903

Mozaniel Santana de Oliveira

Universidade Federal do Pará, LABEX – FEA. PARÁ- UFPA - Guamá, Belém - PA, 66075-110.

Lidiane Diniz do Nascimento

Universidade Federal do Pará, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia, PARÁ- UFPA - Guamá, Belém - PA, 66075-110. Museu Paraense Emílio Goeldi, Coordenação de Botânica. Av. Perimetral, 1901 - Terra Firme, Belém - PA, 66077-830.

Wanessa Almeida da Costa

Universidade Federal do Pará, LABEX – FEA. PARÁ- UFPA - Guamá, Belém - PA, 66075-110.

José Francisco da Silva Costa

Universidade Federal do Pará, Faculdade de Formação e Desenvolvimento do Campo. PARÁ-UFPA - Mutirão, Abaetetuba - PA, 68440-000.

Daniel Santiago Pereira

Embrapa Amazônia Oriental, Tv. Dr. Enéas

Pinheiro - Curió Utinga, Belém - PA, 66095-903

Antônio Pedro da Silva Sousa Filho

Embrapa Amazônia Oriental, Tv. Dr. Enéas Pinheiro - Curió Utinga, Belém - PA, 66095-903

Eloisa Helena de Aguiar Andrade

Universidade Federal do Pará, Programa de Pós-Graduação em Química, PARÁ- UFPA - Guamá, Belém - PA, 66075-110, Museu Paraense Emílio Goeldi, Coordenação de Botânica. Av. Perimetral, 1901 - Terra Firme, Belém - PA, 66077-830.

RESUMO: Os óleos essenciais (OEs) têm exercido papel formidável para a humanidade, devido suas múltiplas aplicações. A busca por vegetal com efeito alelopático, justifica-se pela permanente necessidade de desenvolver uma agricultura sustentável e a busca por bioerbicida. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a composição química e a atividade fitotóxica do óleo essencial de *Lippia thymoides* Mart. & Schauer (VERBENACEAE). Os constituintes químicos das partes aéreas da planta em estudo, foram obtidos por hidrodestilação e analisados por cromatografia de fase gasosa/espectrometria de massas (CG/EM). O rendimento em óleo foi de 0,7 %, o monoterpeno oxigenado timol foi o composto majoritário do óleo (71,03%). O óleo essencial de *Lippia thymoides* na concentração de 200ppm mostrou efeito fitotóxico na inibição da

germinação das ervas daninhas *Mimosa pudica* (30%) e *Senna obtusifolia* (25%).

PALAVRAS-CHAVE: Produtos naturais, Alelopátia, Compostos bioativos, Timol.

CHEMICAL COMPOSITION AND HERBICIDAL (PHYTOTOXIC) ACTIVITY OF *Lippia thymoides* Mart. & Schauer (VERBENACEAE) ESSENTIAL OIL

ABSTRACT: Essential oils (OEs) have played a formidable role for women with their many applications. The search for allelopathic plants is justified by the help of sustainable agriculture and a search for bioherbicide. Thus, this work aimed at the chemical composition and phytotoxic activity of *Lippia thymoides* Mart essential oil. & Schauer (VERBENACEAE). The chemical constituents were the components of the plant under study, were obtained by hydrodistillation and submitted to gas chromatography / mass spectrometry (GC / MS). The oil yield was 0.7%, the thymogen oxygenated monoterpene the major oil (71.03%). *Lippia thymoides* essential oil at 200ppm had a phytotoxic effect on weed germination inhibition *Mimosa pudica* (30%) and *Senna obtusifolia* (25%).

KEYWORDS: Natural products, Allelopathy, Bioactive compounds, Thymol.

1 | INTRODUÇÃO

A alelopátia é um fenômeno que ocorre em grande parte na natureza e tem sido postulado como um dos mecanismos pelos quais algumas plantas podem interferir com outras em suas vizinhanças, alterando o padrão e a densidade da vegetação em uma comunidade de plantas (RICE, 1984)

Do ponto de vista agrônomo, a alelopátia é de grande interesse, pois permite não apenas a seleção de plantas de pastagens que podem exercer certo nível de controle de algumas espécies indesejáveis, como plantas invasoras, mas também o estabelecimento de gramíneas e leguminosas forrageiras que não são fortemente alelopáticas entre si e podem, assim, compor pastos mais balanceados, com efeitos favoráveis na produtividade e na longevidade (WARDLE, 1987)

A alelopátia pode ter um papel ecológico importante no futuro próximo como fonte de novas substâncias químicas com possibilidades de uso na agricultura brasileira, semelhante ao que já ocorre em outros países como Japão, Alemanha e Estados Unidos, como ferramenta de manejo de pastagens, e / ou como fornecedor de estruturas básicas para a produção biológica de defensivos agrícolas (SOUZA FILHO; ALVES, 1998)

Substâncias químicas que impõem influência alelopática são chamadas de aleloquímicos. Os aleloquímicos têm uma natureza química muito diversificada, variando de hidrocarbonetos simples a compostos policíclicos complexos com alto peso molecular (INDERJIT; CALLAWAY; VIVANCO, 2006)

Dentro dessa diversidade de compostos os OEs vem se apresentam

como uma alternativa de uso nas atividades agronômicas, com ação inseticida, fumigante, fungicida (ISMAR, 2000; MIYAZAWA et al., 1997; NGOH et al., 1998; MONTESBELMONT & CARVAJAL, 1999; BASTOS & ALBUQUERQUE, 2004), potentes inibidores da germinação de sementes e do desenvolvimento de diferentes espécies de plantas, ou seja, ação bioerbicida (SOUZA-FILHO et al., 2009).

As formas tradicionais de controle de plantas daninhas, principalmente nas áreas de pastos cultivados, como roçagem, queimadas e utilização de herbicidas sintéticos, não estão atendendo às necessidades da sociedade atual, devido ser pouco efetivo (a médio e longo prazo). Isso se deve a constante repetição, elevado custo de manutenção das plantações, insatisfação de ordem social, agressão a vida silvestre, contaminação aos alimentos dos animais e das pessoas, além de beneficiar o aumento sistemático no número de espécies de plantas daninhas resistentes aos atuais herbicidas disponíveis no mercado (ANAYA, 1999; RIPARDO FILHO et al., 2012).

A busca por herbicidas naturais, que atendam às novas exigências e reduza os impactos ambientais é de fundamental importância para o bem estar das pessoas e a preservação do planeta. O gênero *Lippia* compreende aproximadamente cerca de 200 espécies, as quais, são ervas, arbustos e pequenas árvores que estão localizados nas regiões tropicais e temperada do Brasil, Paraguai, Argentina e México, além das encontradas nas áreas tropicais da África e América Central (PASCUAL et al., 2001; SOARES & TAVARES-DIAS, 2013).

O Brasil (Chapada Diamantina, Bahia; Campos Rupestres, Goiás e Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais) é um dos grandes centros de diversidade do gênero *Lippia*, com 70-75% das espécies conhecidas (PIMENTA et al., 2007). *Lippia thymoides* conhecida popularmente como manjerona (SILVA et al., 2018, 2019) “alecrim de cheiro miúdo” (CRAVEIRO et al., 1981), “alecrim do mato”, “alecrim do campo” (PINTO et al., 2013; FUNCH et al., 2004) é utilizada nas comunidades tradicionais no tratamento de feridas, como antipiréticas, digestivo, bronquite e reumatismo além dos amacis, incensos na umbanda e no candomblé (FUNCH et al., 2004; ALMEIDA, 2011). Desse modo o presente trabalho avaliou a composição química e a atividade fitotóxica do óleo essencial de *L. thymoides*.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Processamento da planta e extração do óleo essencial

As folhas/ramos de *L. thymoides* (Figura 1) foram secas em estufa com ventilação constante a 35°C por 2 (dois) dias e submetidas à hidrodestilação em sistema de vidro do tipo Clevenger modificado por um tempo de 3h. O rendimento do óleo essencial foi obtido do material seco e livre de umidade em balança determinadora de umidade, com infravermelho.



Figura 1 Folhas/ramos de *Lippia thymoides*

2.2 Identificação dos constituintes químicos

A composição química do óleo essencial foi analisada por Cromatografia de fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC/MS) em sistema Thermo DSQ-II equipado com coluna capilar de sílica DB-5MS (30 m x 0,25 mm; 0,25 μm de espessura do filme) nas seguintes condições operacionais: programa de temperatura: 60°-240°C, com gradiente de 3° C/min); temperatura do injetor: 250°C; gás de arraste: hélio (velocidade linear de 32 cm/s, medida a 100°C); injeção sem divisão de fluxo (0,1 μL de uma sol. 2:1000 de n-hexano); temperatura da fonte de íons e outras partes 200°C. O filtro de quadrupolo varreu na faixa de 39 a 500 daltons a cada segundo. A ionização foi obtida pela técnica de impacto eletrônico a 70 eV. Os constituintes químicos foram identificados por comparação de seus espectros de massas e índices de retenção com aqueles existentes na literatura (ADAMS, 2007).

2.3 Avaliação do efeito fitotóxico do óleo essencial de *Lippia thymoides*

Para avaliar o efeito fitotóxico do óleo essencial de *L.thymoides*, foram utilizados duas espécie de planta daninha invasora de pastos cultivados, comum na região amazônica, *Mimosa pudica* L. (malícia) e *Senna obtusifolia* (L) Irwing & Barneby (mata-pasto). As sementes foram coletadas em áreas cultivadas de pastagem do Estado do Pará, passaram por um processo de limpeza e tratadas com ácido sulfúrico concentrado por 20 min para superação da dormência (SOUZA FILHO et al., 1998).

No ensaio, usou-se uma solução de 200 ppm do óleo essencial em hexano. Foram utilizadas 25 sementes por placa de Petri de 9 cm de diâmetro, forrada com disco de papel de filtro qualitativo. Foram aplicados 3,0 mL da solução teste. Após a

evaporação do solvente, adicionou-se 3,0 mL de água destilada, mantendo-se, dessa forma, a concentração original. As soluções testes foram adicionadas apenas uma vez, no início dos ensaios, sendo a partir de então, adicionado apenas água destilada, sempre que se fazia necessário para evitar a desidratação das sementes. As placas de Petri foram colocadas em câmara de germinação, à temperatura constante de 25 °C com fotoperíodo de 12 horas, durante cinco dias porém, o monitoramento foi diário. Os testes foram em triplicatas. Foram consideradas sementes germinadas aquelas que apresentavam extensão radicular igual ou superior a 2,00 mm (Figura 2). No final do período, verificou-se o total de sementes germinadas em cada placa e calculou-se a média aritmética para cada espécie, onde, juntamente com a média das sementes germinadas no tratamento testemunha, determinou-se o percentual de inibição do óleo essencial na germinação das sementes das plantas daninhas.

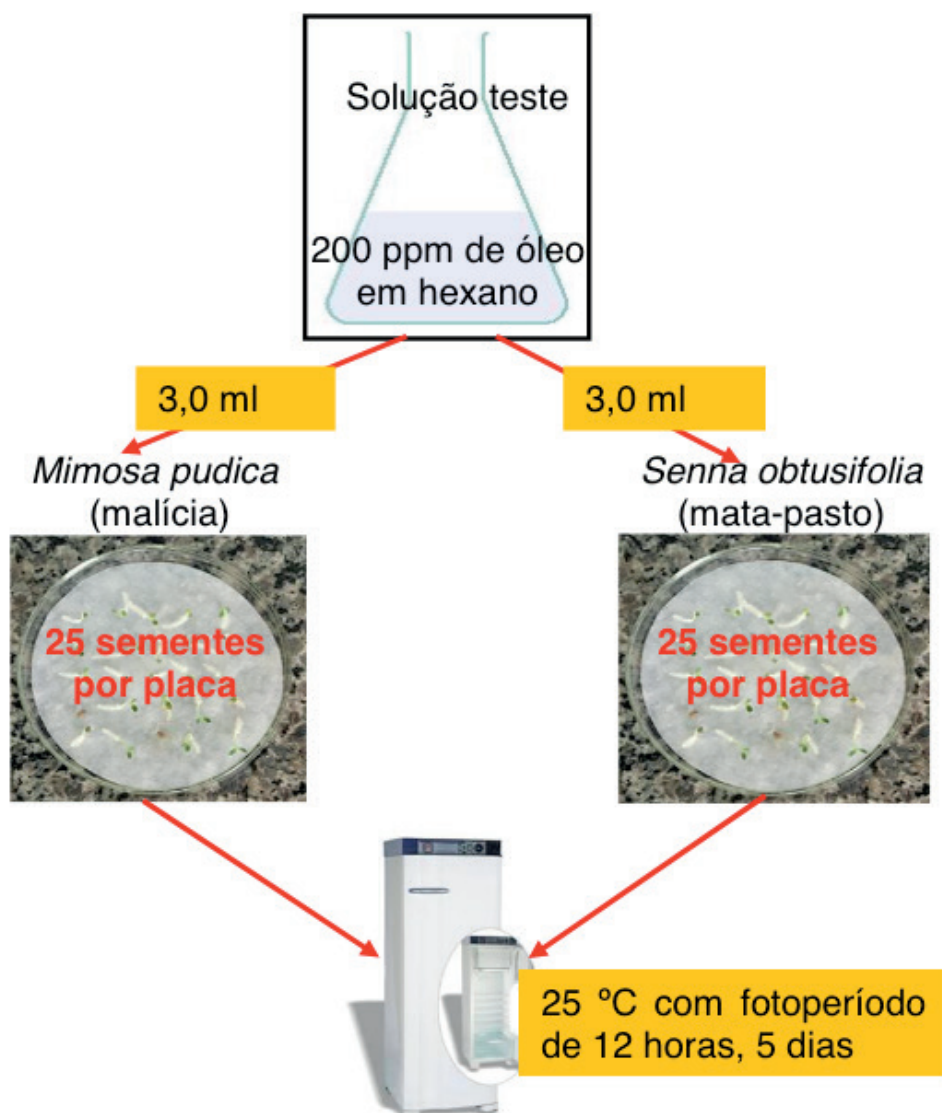


Figura 2. Esquema metodológico do ensaio fitotóxico

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento em óleo essencial foi de 0,7 % (Tabela 1). A composição química do óleo essencial das folhas/ramos de *Lippia thymoides*, em ordem crescente de seus respectivos índices de retenção são apresentados na Tabela 1. Anteriormente, estudos com *L. thymoides* relataram o rendimento em óleo de 0,71% para uma amostra coletada na cidade de Belém, Pará, (ZOGHBI & ANDRADE, 2014) e um rendimento de óleo entre 2,14 a 2,93% para outra amostra coletada na cidade de Feira de Santana, Bahia, Brasil (SILVA et al., 2015). Estas diferenças nos rendimentos dos óleos de *L. thymoides* podem está relacionadas aos fatores bióticos e abióticos dos locais de coletas.

Rendimento em óleo (%)		0,7
IR	Constituintes	%
924	α -tujeno	0,56
932	α -pineno	0,07
988	Mirceno	1,30
1002	α -felandreno	0,13
1014	α -terpineno	1,04
1020	p-cimeno	7,85
1054	γ-terpineno	6,16
1095	linalol	0,05
1167	Umbelulona	0,15
1174	terpinen-4-ol	0,22
1232	éter metil timol	0,68
1289	timol	71,03
1349	acetato de timol	5,66
1374	α -copaeno	0,02
1403	Metileugenol	0,04
1417	β-cariofileno	3,69
1432	<i>trans</i> - α -bergamoteno	0,06
1452	α - humuleno	0,43
1478	γ -muuroleno	0,06
1484	germacreno-D	0,22
1495	γ -amorfenol	0,02
1500	α -muuroleno	0,03
1513	γ -cadineno	0,05
1522	δ -cadineno	0,11
1608	epoxido de humuleno II	0,15
Monoterpenos Hidrocarbonetos		17,1
Monoterpenos oxigenados		77,8
Sesquiperpenos Hidrocarboneto		4,7
Outros		0,2
Total identificado		99,8

Tabela 1. Composição química e rendimento (%) do óleo essencial das partes aéreas de *Lippia thymoides*

Foram identificados 25 constituintes representando 99,8% do conteúdo total da amostra analisada por CG/EM. A classe dos monoterpenos oxigenados foi a predominante com 77,8 %. Tendo o timol como composto majoritário (71,03%). Também foram registrados teores significativos de *p*-cimeno (7,85%), γ -terpineno (6,16%), acetato de timol (5,66%) e β -cariofileno (3,69%) (Figura 3). Na literatura já foram identificados como constituintes majoritário na composição química do óleo essencial de espécimes de *L. thymoides* o metil timol (TERBLANCHÉ & KOENELIUS, 1996; PASCUAL et al., 2001), β -cariofileno (CRAVEIRO et al., 1981; SILVA, 2015) e timol (ZOGHBI & ANDRADE, 2014; SILVA et al., 2018, 2019).

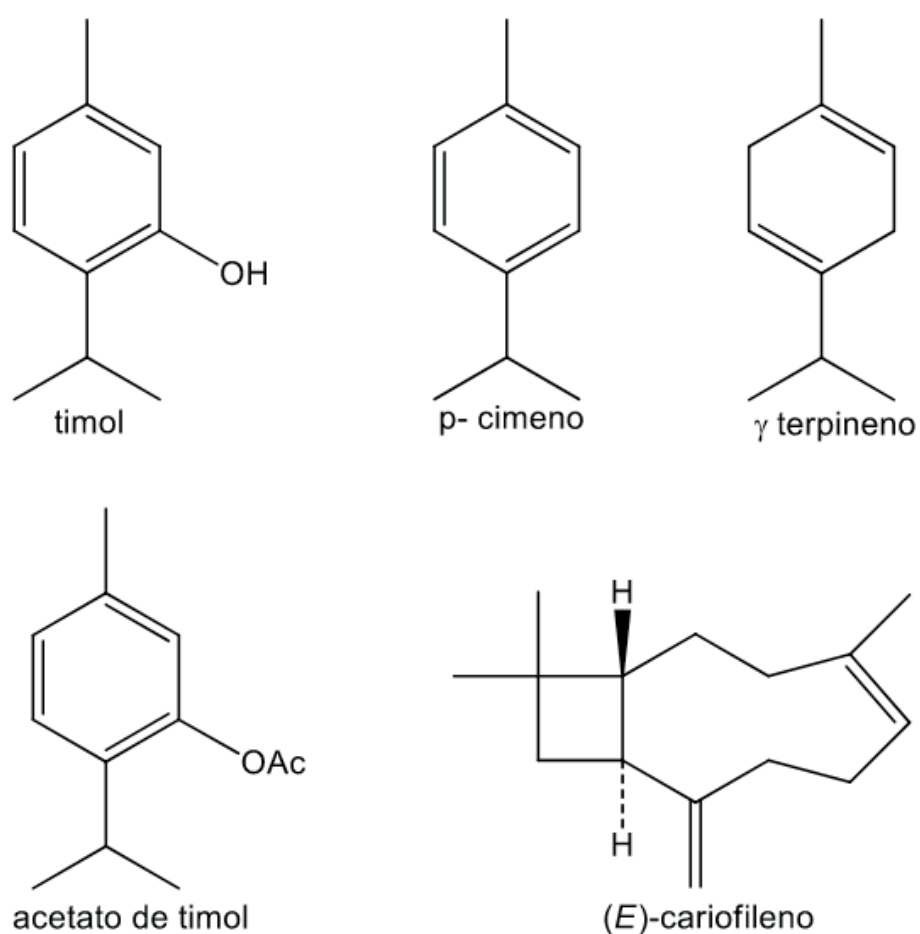


Figura 3. Estruturas químicas dos componentes majoritários identificados por CG-EM nas folhas/ramos de *Lippia Thymoides*.

Os efeitos alelopáticos do óleo essencial de *L. thymoides*, na concentração de 200 ppm em hexano como solvente, na germinação das sementes, variaram em função da planta receptora. As espécie receptoras, de forma individual, demonstraram diferentes intensidades de sensibilidade aos efeitos fitotóxico do óleo essencial. *Mimosa pudica* L. (malícia), foi a espécie receptora, onde a germinação das sementes foi inibida em 30%. Já na *Senna obtusifolia* (L) Irwing & Barneby (mata-pasto) a taxa de inibição foi de 25% (Figura 4). Esse resultado de inibição da germinação das sementes, apesar de parecerem baixo, são significativos devido a

baixa concentração da solução teste, isto é 200ppm que corresponde a uma solução de 0,02%. Contudo, não existem dados na literatura sobre efeito fitotóxico de óleo essencial de *L. thymoides*, para servir de parâmetro de comparação.

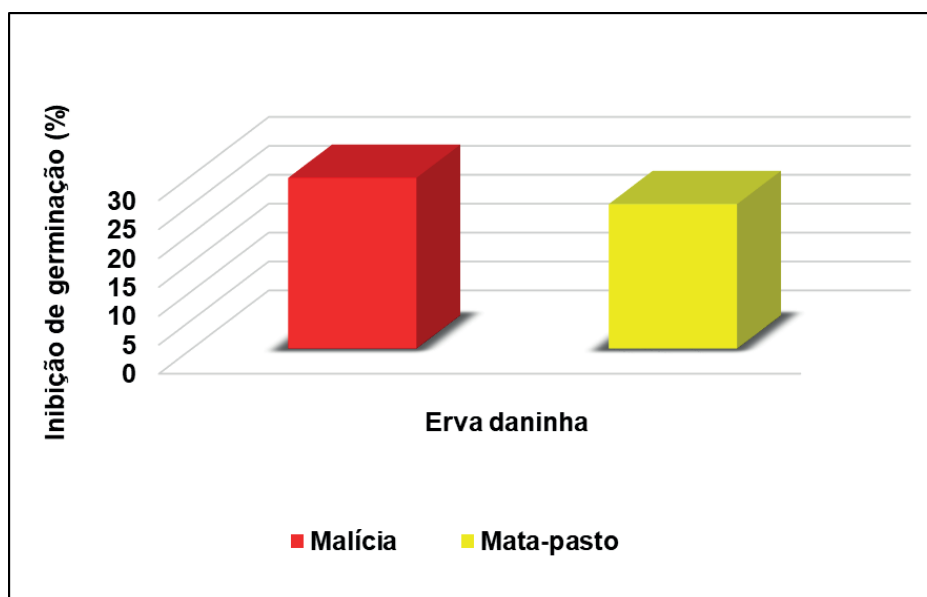


Figura 4. Efeitos fitotóxico do óleo essencial de *L. thymoides* sobre a germinação de sementes de Malícia e Mata-pasto.

CONCLUSÃO

O monoterpeno oxigenado timol foi o composto majoritário identificado por GC/MS no óleo das partes aérea de *L. thymoide*.

O óleo essencial das partes aérea de *L. thymoide* apresentou atividade inibitória na germinação das sementes de malícia (*Mimosa pudica*) e mata-pasto (*Senna obtusifolia*). O óleo de *L. thymoide* analisado poderia ser uma alternativa para produzir bioerbicida.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gás chromatography / mass spectrometry**. Illinois: AlluredPublishing Corporation, 2007.

ALMEIDA, M.Z. **Plantas medicinais**. 3. ed. - Salvador : EDUFBA, 221 p., 2011.

ANAYA, A.L. Allelopathy as a tool in the management of biotic resources in agroecosystems. **Crit. Rev. Plant Sci.**, v. 18, n. 6, p. 697-739, 1999.

BASTOS, C.N.; ALBUGUERQUE, P.S.B. Efeitos do óleo de Piper aduncum no controle e pós-colheita de Colletotricum musae em banana. **Fitopatologia brasileira**, 29(5): 555-557, 2004.

CRAVEIRO A. A. et al. **Óleos essenciais de Plantas do Nordeste**. Fortaleza: Editora UFC, 1981.

FUNCH, L. S. et al. **Plantas úteis: Chapada Diamantina**. São Carlos: Rima, 2004.

- GOMES, S.V.F.; NOGUEIRA, P.C.L. e MORAES, V.R.S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética**. Química, São Paulo, v.36, n.1, 2011.
- INDERJIT I; CALLAWAY, R.M, VIVANCO, J.M. Can plant biochemistry contribute to understanding of invasion ecology? **Trends Plant Sci**. 2006:11:574-580.
- ISMAN, M.B. Plant essential oil for pest and disease management. **Crop Protection**, 19(8): 603-608, 2000.
- MAIA, J. G. S. M.; ANDRADE, E. H. A. Database of the Amazon aromatic plants and their essential oils. **Quimica Nova**, 32, 595-622, 2009.
- MIYAZAWA, M.; WATANABE, H.; KAMEOKA, H. Inhibition of acetylcholinesterase activity by monoterpenoids with a p-methane skeleton. **Journal of Agriculture Food Chemical**, 45(3): 677-679, 1997.
- MONTESBELMONT, R.; CARVAJAL, M. *Aspergillus flavus* control in maize with plant essential oil. In: Macias, F.A.; Galindo, J.C.G.; Molinillo, J.M.G.; Cutler, H.G. (Eds). Recent advances in allelopathy. Cádiz: **International Allelopathy Society**, p. 463-470, 1999.
- NGO, S.P. et al. Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the American cockroach (*Periplaneta Americana* L.). **Pesticide Science**, 54(3): 261-268, 1998.
- PASCUAL, M.E. et al. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v.76, p. 201-214, 2001.
- PIMENTA, M.R. et al. Floração, germinação e estaquia em espécies de *Lippia* L. (Verbenaceae). **Revista Brasil Bot.**, V.30, n.2, p.211-220, 2007.
- PINTO, C.R. et al. Antimicrobial Activity of *Lippia* Species from the Brazilian Semi-arid Region Traditionally Used as Antiseptic and Anti-Infective Agents. **Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p.1-5, 2013.
- Rice, E.L. **Allelopathy**. 1st ed. Orlando: Academic Press; 1984. 422p.
- RIPARDO FILHO, H. S. et al. Bioensaios de atividade alelopática dos esteroides espinasterol, espinasterona e glicopiranosil espinasterol. **Planta Daninha**, 4, 705-712, 2012.
- SILVA, F.S. et al. Chemical composition and pharmacological properties of the essential oils obtained seasonally from *Lippia thymoides*. **Pharmaceutical Biology**, p. 1-10, 2015.
- SILVA, S. G. et al. Planting and seasonal and circadian evaluation of a thymol-type oil from *Lippia thymoides* Mart. & Schauer. **Chemistry Central Journal**, v. 12, n. 1, p. 113, dez. 2018.
- SILVA, S. G. et al. Chemical profile of *Lippia thymoides*, evaluation of the acetylcholinesterase inhibitory activity of its essential oil, and molecular docking and molecular dynamics simulations. **PLOS ONE**, v. 14, n. 3, p. e0213393, mar. 2019.
- SOARES & TAVARES-DIAS. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. **Biota Amazônia**, v. 3, n. 1, p. 109-123, 2013.
- SONOWA, M.M.; KÖNIG, W.A. Constituents of the essential oil of *Cyperus alopecuroides*. **Phytochemistry**, 56(4): 321-325, 2001.
- SOUZA FILHO, A.P.S.; ALVES, S.M. **Alelopatia em ecossistema de pastagem cultivada**. 109th ed. Belém: Embrapa-CPATU; 1998. 72p.

SOUZA FILHO, A. P. S. et al. Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninha. **Acta Amazonica**, 2, 389- 396, 2009.

SOUZA FILHO, A. P. S.; DUTRA, S.; SILVA, M. A. M. M. Métodos de superação da dormência de sementes de plantas daninhas de pastagens cultivadas da Amazônia. **Planta Daninha**, 16, 2-11, 1998.

TERBLANCHÉ, F.C.; KOENELIUS, G. Essential constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae) – A literatura review. **Journal Essential Oil Research**, v.8, p. 471-185, 1996.

ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A. **Composição química dos óleos essenciais de plantas aromáticas comercializadas no Ver-o-Peso**. In: ZOGHBI, M.G.B.; MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C (orgs). – Belém: UFRA/MPEG, 2014. Cap. 12, p. 253-300.

CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM EXTRATOS DE PÉTALAS DE ROSA (*ROSA X GRANDIFLORA* HORT.), OBTIDOS POR EXTRAÇÃO COM ULTRASSOM

Felipe de Lima Franzen

Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos e Nutrição.
Campinas, SP – Brasil

Juciane Prois Fortes

Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos.
Santa Maria, RS – Brasil

Jéssica Righi da Rosa

Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos.
Santa Maria, RS – Brasil

Giane Magrini Pigatto

Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos.
Santa Maria, RS – Brasil

Janine Farias Menegaes

Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Fitotecnia.
Santa Maria, RS – Brasil

Mari Silvia Rodrigues de Oliveira

Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos.
Santa Maria, RS – Brasil

demanda por produtos naturais derivados de plantas. É nas pétalas das flores que se encontram os compostos antioxidantes, os minerais e as vitaminas. Elas possuem diversos compostos fenólicos e os teores destes compostos variam ao longo da maturação da flor e também ao longo do armazenamento e após a colheita. O objetivo do estudo foi avaliar o conteúdo de compostos fenólicos de extratos de pétalas de rosas (*Rosa x grandiflora* Hort.) obtidos por extração com ultrassom. As flores de rosa foram coletadas de plantas cultivadas em estufa, colhidas de maneira manual, sem a utilização de fertilizantes e produtos químicos. Os extratos foram elaborados utilizando um banho ultrassônico USC – 1450 Unique®, utilizando álcool etílico de cereais 96° GL como solvente em um período de 120 minutos. Foram utilizadas temperaturas de extração, 20° e 60° C. Foi determinado o teor de compostos fenólicos totais (TPC) dos extratos pelo método de Folin-Ciocalteu. O extrato obtido a temperatura de 60° C apresentou maior teor de compostos fenólicos totais (28,99 g EAG mL⁻¹ extrato). Os resultados desse estudo demonstram que os extratos de pétalas de rosas podem ser uma fonte viável de compostos fenólicos. Dessa forma, visando obter extratos etanólicos de pétalas de rosas com maior teor de fenólicos, a extração por ultrassom é a mais indicada.

PALAVRAS-CHAVE: flor comestível, plantas

RESUMO: Existe no mercado uma grande

medicinais, fenólicos, *Rosa x grandiflora* Hort.

CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS IN EXTRACTS OF ROSE PETALS (*ROSA X GRANDIFLORA* HORT.), OBTAINED BY EXTRACTION WITH ULTRASOUND

ABSTRACT: There is a great demand on the market for natural products derived from plants. It is in the flower petals that the antioxidant compounds, minerals and vitamins are found. They have several phenolic compounds and the contents of these compounds vary throughout flower maturation and also during storage and after harvest. The aim of this study was to evaluate the content of phenolic compounds from rose petal extracts (*Rosa x grandiflora* Hort.) Obtained by ultrasound extraction. Rose flowers were collected from greenhouse-grown plants, hand-picked, without the use of fertilizers and chemicals. The extracts were prepared using a USC - 1450 Unique® ultrasonic bath using 96° GL cereal ethyl alcohol as a solvent over a 120 minute period. Extraction temperatures of 20° and 60° C were used. The content of total phenolic compounds (TPC) of the extracts was determined by the Folin-Ciocalteu method. The extract obtained at a temperature of 60° C presented higher content of total phenolic compounds (28.99 g EAG mL⁻¹ extract). The results of this study demonstrate that rose petal extracts can be a viable source of phenolic compounds. Thus, aiming to obtain ethanolic extracts of rose petals with higher phenolic content, the ultrasound extraction is the most indicated.

KEYWORDS: edible flower, medicinal plants, phenolic, *Rosa x grandiflora* Hort.

1 | INTRODUÇÃO

Existe no mercado uma grande demanda por produtos naturais derivados de plantas, tais como chá verde, decocção de ervas e flores e a formulação de fitoterápicos. Nestes produtos podem-se encontrar partes aéreas de plantas, sementes, frutas, raízes e flores usadas em diversas aplicações comerciais, como chás, preparações gastronômicas, extratos e óleos essenciais (VOON et al. 2012).

As flores comestíveis são amplamente exploradas no desenvolvimento de chás florais, corantes alimentícios, aromas, bebidas, produtos de panificação ou pela comercialização in natura no varejo. Estão cada vez mais populares, evidenciadas pelo aumento de livros de receitas, artigos de revistas e sites sobre o tema, superando o conhecimento científico relacionado ao seu potencial nutricional (ROP et al. 2012; VOON et al. 2012).

As flores são utilizadas na culinária para melhorar os atributos sensoriais das preparações gastronômicas, tais como cor, aroma e sabor. Geralmente, as espécies comestíveis são utilizadas na preparação de molhos, guarnições, saladas, produtos de panificação, geleias, xarope, mel, vinagre, azeite, chás, açúcares de flores, flores cristalizadas, flores congeladas em cubos de gelo, adicionadas a queijos,

panquecas, crepes e waffles. Contudo, algumas são incorporadas em vinhos e licores aromatizados, como por exemplo, o clássico licor verde Chartreuse, de origem francesa, que utiliza como ingrediente pétalas de cravo (ROP et al. 2012).

As flores comestíveis têm na sua constituição proteínas, lipídios, carboidratos, minerais e vitaminas A, B, C e E, importantes para uma alimentação saudável (NEWMAN e O'CONNER, 2009). Estas são consideradas fontes de compostos polifenólicos que apresentam elevada atividade antioxidante (XIONG et al. 2014). A variedade de cores reflete os diversos tipos de carotenoides e antocianinas presentes na composição química das flores. O teor de antocianinas encontra-se associado aos níveis de flavonoides, logo à atividade antioxidante, o que as torna uma fonte de nutracêuticos para a alimentação humana (MLCEK e ROP, 2011; ROP et al. 2012).

A atividade antioxidante e os compostos fenólicos presentes nas flores proporcionam diversos efeitos benéficos à saúde humana. A importância da ingestão de alimentos que apresentem substâncias com potencial antioxidante para a prevenção de doenças crônicas como as cardiovasculares, câncer e doenças cerebrais degenerativas relacionadas com o envelhecimento, tem sido demonstrada (LIN et al. 2012; BESBES et al. 2013; HSU et al. 2013). Estes fitoquímicos além da ação antioxidante possuem características anti-inflamatórias, antiobesidade, hipoglicemiantes e propriedades protetoras do sistema neurológico, hepático e gastrointestinal (CUNNINGHAM, 2015; LOIZZO et al. 2016; LU et al. 2016).

Os extratos vegetais são usados como antioxidantes naturais para evitar a oxidação lipídica que é uma grande preocupação na indústria de alimentos, porque gera produtos que são indesejáveis como a degradação de lipídios e a produção de compostos voláteis que podem tornar o alimento inaceitável sensorialmente, bem como produzir substâncias potencialmente tóxicas (TABEE et al. 2008). A indústria tem utilizado preferencialmente os antioxidantes naturais, mas ainda há pouco conhecimento sobre a capacidade antioxidante de flores comestíveis, uma boa alternativa para o consumidor que procura alimentos mais saudáveis (WARAHO et al. 2011).

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o conteúdo de compostos fenólicos de extratos de pétalas de rosas (*Rosa x grandiflora* Hort.) obtidos por extração com ultrassom.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O cultivo das flores foi realizado no Setor de Floricultura do Departamento de Fitotecnia da UFSM, localizado em Santa Maria, RS. As flores de rosa foram coletadas de plantas cultivadas em estufa, com dois anos de cultivo, irrigadas diariamente e sem a utilização de fertilizantes e produtos químicos. As flores foram colhidas de maneira manual, no período da manhã e alocadas em embalagem térmica, sendo

transportadas até o laboratório de físico-química.

A preparação das amostras foi realizada no laboratório de físico-química no DTCA- Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da UFSM, para isto as pétalas foram retiradas manualmente e colocadas em bandejas para pré-secagem em estufa de circulação de ar forçada (Marconi®) à 55 °C por 72 horas. Após foram trituradas em liquidificador doméstico (Walita Liqfaz®) e acondicionadas em embalagens plásticas hermeticamente fechadas e submetidas à temperatura de congelamento (-12° C) até o momento da elaboração dos extratos.

Para a extração foi utilizado um banho ultrassônico USC – 1450 Unique®, operando em frequência constante de 40 KHz e potência ultrassônica de 135 W. As pétalas trituradas foram misturadas com o solvente (álcool etílico de cereais 96° GL) na proporção de 1:20 (p/V) com período de extração de 120 minutos (FRANZEN et al. 2018). Foram utilizadas duas temperaturas de extração, 20° e 60° C, e os extratos foram filtrados através de papel filtro qualitativo (N° 1). Posteriormente, o filtrado obtido foi concentrado em rotaevaporador (Evaporador Rotativo MA 120 Marconi®) para eliminação do álcool. Os extratos foram colocados em um frasco âmbar e armazenados em um congelador (-12° C) até o momento da análise.

Para a determinação de compostos fenólicos totais nos extratos foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu com curva padrão de ácido gálico $y=0,016x+0,1012$ com $R^2= 0,9961$, com adaptações na técnica descrita por Miliukaus et al. (2004) para estimar a concentração de TPC na amostra.

Em tubos de ensaio devidamente identificados foram adicionados 400 µL de extrato, diluído 1:500 e adicionado 2 mL de Folin-Ciocalteu 2N diluído 1:10. As soluções foram completamente homogeneizadas e incubadas à temperatura ambiente (27° C) durante 3 minutos. Após, adicionou-se 1,6 mL de carbonato de sódio 7% (Na_2CO_3) previamente filtrado e novamente incubou-se em banho-maria a 50° C durante 5 minutos. Após o resfriamento das amostras foram realizadas leituras utilizando um espectrofotômetro UV-Vis (Biospectro, modelo: SP-220) a 760nm. O TPC foi expresso como g de equivalentes de ácido gálico (EAG) por mL de extrato. As análises foram realizadas em triplicada, para maior exatidão nos resultados.

Para obter os extratos foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema 1x1x2 (método de extração, solvente e temperaturas), com três repetições. O fator A foi composto pelo método de extração por ultrassom. O fator B foi composto por um solvente. O fator C foi composto por duas temperaturas: 20° e 60° C. Os resultados obtidos foram submetidos ao tratamento estatístico mediante a Análise de Variância (ANOVA) e as médias comparadas pelos testes de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância pelo software SISVAR (FERREIRA, 2011).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos compostos fenólicos dos extratos de pétalas rosa, obtidos através do método ultrassom, a temperatura de 20° e 60° C, usando álcool etílico de cereais (1:20), por 120 minutos estão apresentados no Gráfico 1.

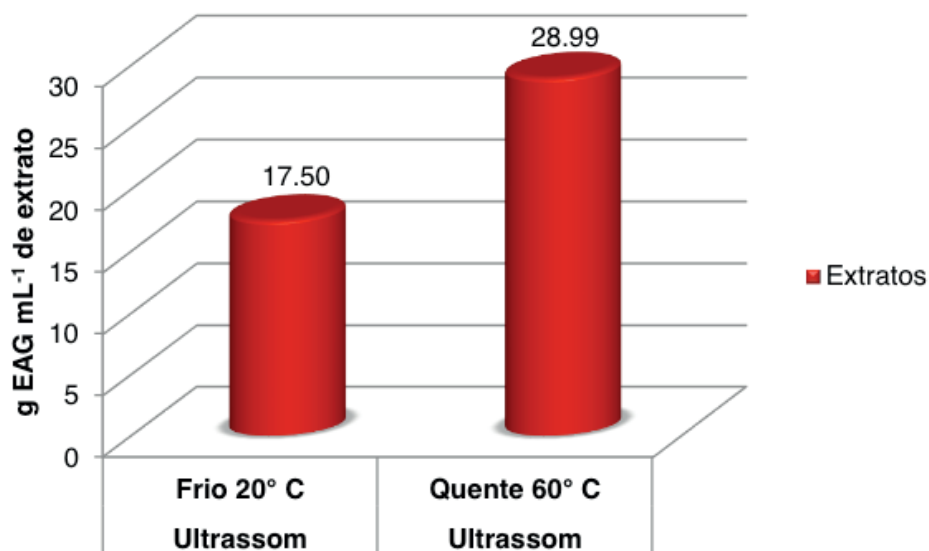


Gráfico 1 – Compostos fenólicos totais (g mL⁻¹) presente nas pétalas de rosas, submetidas à extração com álcool etílico de cereais (1:20), por 120 minutos, através do método ultrassom em temperaturas de 20° e 60° C.

Coeficiente de variação 10,46%. Fonte: Elaborado pelos autores.

De acordo com o Gráfico 1, os extratos de rosa apresentaram diferença significativas ($p < 0,05$) para o conteúdo de compostos fenólicos totais entre as duas temperaturas testadas, sendo que a temperatura de 60° C foi a que apresentou teor superior de compostos fenólicos totais (28,99 g EAG mL⁻¹ extrato).

Kim et al. (2013) ao analisarem a quantidade de fenólicos totais nos extratos de plantas comestíveis, obtiveram ampla margem de variação de 3,13 a 72,30 mg EAG g⁻¹ extrato, sendo a extração mais eficiente a realizada com etanol em comparação com outros solventes utilizados.

Wang et al. (2003) encontraram valores de 62 mg/g de compostos fenólicos em folhas de alcachofra e 14 mg/g em frutos de alcachofra. Ao estudar a quantidade de fenólicos do brócolis e aspargo, Sun et al. (2007) encontraram quantidades semelhantes para os extratos metanólicos (4,9 mg/g em base seca). Já para os extratos aquosos, os autores encontraram resultado maior para aspargo (4,9 mg/g em base seca) em relação ao brócolis (4,5 mg/g em base seca).

Estudo realizado por Asolini et al. (2006), no qual analisaram as concentrações de fenólicos de diversas plantas usadas como chás, os extratos etanólicos de sálvia e camomila apresentaram teores de compostos fenólicos em torno de 25 mg EAG mL⁻¹, valor aproximado ao encontrado por Rodrigues (2016) no extrato etanólico

(25,66 mg EAG mL⁻¹ extrato) das folhas de ora-pro-nóbis desidratadas, mas ambos inferiores aos observados no presente estudo.

Segundo Pereira (2009), ao realizar análises *in vitro* do conteúdo de fenólicos em extratos vegetais, observou uma relação direta em relação a atividade antioxidante, ou seja, quanto maior o conteúdo de fenólicos mais elevada é a atividade antioxidante dos extratos.

Caetano (2009) em seu estudo com resíduo agroindustrial de acerola encontrou um teor de fenólicos de 1,78 mg em equivalente de catequina mL⁻¹ em seu extrato hidroetanólico (80%) independente da temperatura usada no processo de extração. A solubilidade dos compostos fenólicos em um determinado solvente é uma característica peculiar do fitoquímico, o que explica a inexistência de um procedimento universal e aponta para a necessidade da seleção criteriosa do método de extração para cada fonte natural de antioxidante. Neste sentido, considerando que nos vegetais há polifenóis com polaridade diversificada, para a extração eficiente destes constituintes se faz necessário o uso de solventes com diferentes polaridades (CAETANO, 2009).

A eficácia dos solventes dependerá da polaridade dos polifenóis presentes na amostra, bem como do grau de polimerização e da interação com outros constituintes (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Pérez-Jiménez et al. (2008) ressaltam que para a eficiência do processo de extração deve-se combinar pelo menos dois ciclos de extração utilizando-se soluções de solventes orgânicos, com diferentes polaridades, de modo a extrair compostos com diferentes estruturas químicas.

Ainda que a temperatura favoreça a extração dos compostos fenólicos, deve-se destacar que a mesma também poderá desencadear a sua degradação com possível prejuízo da ação antioxidante (PINELO et al., 2005; YILMAZ; TOLEDO, 2006; CAETANO, 2009).

4 | CONCLUSÕES

Os extratos de pétalas de rosas obtidos pelo método ultrassom com temperaturas de 20° e 60° C apresentaram teores de compostos fenólicos relevantes e a temperatura de 60° C foi a que apresentou maior teor desse composto. Dessa forma, visando obter extratos etanólicos de pétalas de rosas com maior teor de fenólicos totais, a extração por ultrassom é a mais indicada.

Esses resultados demonstram que a utilização de extratos de pétalas de flores, em especial a rosa, pode ser uma alternativa promissora como um antioxidante natural em substituição aos antioxidantes sintéticos, pois ela apresentou segundo o presente estudo grandes teores de compostos fenólicos em seus extratos.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Os autores agradecem o Laboratório de Análises de Poluentes Persistentes (LAPP) do Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Santa Maria (RS), pelo empréstimo do aparelho de ultrassom para o desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ASOLINI, F. C.; TEDESCO, A. M.; CARPES, S. T. **Antioxidant and antibacterial activities of phenolic compounds from extracts of plants used as tea.** Brazilian Journal of Food Technology, v.9, n.3, p.209-215, 2006.
- BESBES, H. M., OMRI, A., BEN, J. H., LAMARI, A., AOUNI, M., & SELMI, B.. **Phenolic composition, antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of the Tunisian Scabiosa arenaria.** Pharmaceutical Biology, 51(5), 525–532; 2013.
- CAETANO, A. C. S. **Potencial antioxidante de extratos de resíduos de acerolas (Malpighia emarginata D. C.) em diferentes sistemas modelos e na estabilidade oxidativa de óleo de soja.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2009. 113 f.
- CUNNINGHAM, E. **What nutritional contribution do edible flowers make?** Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics. 115(5), 856; 2015.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar: a computer statistical analysis system.** Ciência e Agrotecnologia. vol.35 no.6 Lavras Nov./Dec. 2011.
- FRANZEN, F. L.; FRIES, L. L. M.; OLIVEIRA, M. S. R.; LIDÓRIO, H. F.; MENEGAES, J. F.; LOPES, S. J. **Teor e rendimento de extratos de flores obtidos por diferentes métodos e períodos de extração.** Acta Iguazu, Cascavel, v.7, n.1, p. 9-21, 2018.
- HSU, C., FANG, S., YEN, G. **Anti-inflammatory effects of phenolic compounds isolated from the flowers of *Nymphaea mexicana* Zucc.** Food & Function. 4(8), 1216–1222; 2013.
- KIM, D. O., LEE, K. W., LEE, J. H., LEE, C. Y. **Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals.** Journal of Agricultural of food Science Technology. v.37, n.2, p.153-161; 2002.
- LIN, C., CHUNG, Y., HSU, C. **Potential roles of longan flower and seed extracts for anti-cancer.** World Journal of Experimental Medicine. 2(4), 78–85; 2012.
- LOIZZO, M. R., PUGLIESE, A., BONESI, M., TENUTA, M. C., MENICHINI, F., XIAO, J., et al. **Edible flowers: a rich source of phytochemicals with antioxidant and hypoglycemic properties.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. 64(12), 2467–2474; 2016.
- LU, B., LI, M., YIN, R. **Phytochemical content, health benefits, and toxicology of common edible flowers: A review (2000–2015).** Food Science and Nutrition, 56(Suppl 1), S130–S148; 2016.
- MILIAUKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN BEEK, T. A. **Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts.** Food Chemistry, v. 85, p. 231-237, 2004.

- MLCEK, J., ROP, O. **Fresh edible flowers of ornamental plants – A new source of nutraceutical foods.** Food Science and Technology. 22(10), 561–569; 2011.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. **Extraction and analysis of phenolics in food.** Journal of chromatography A, Amsterdam, v.1054, n.1-2, p.95-111, 2004.
- NEWMAN, S. E., O'CONNOR, A. S. **Edible Flowers.** CSU Extension, 7237, 1–5; 2009.
- PEREIRA, M. G. **Aplicação de Antioxidantes Naturais em Carne Mecanicamente Separada (CMS) de Ave.** 128f. Dissertação de mestrado -Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2009.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNEIRO, M.; DÍAZ-RUBIO, M.E.; SERRANO, J.; GONI, I.; SAURA-CALIXTO, F. **Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant, food, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results.** Food Research International, Toronto, v.41, n.3, p.274-285, 2008.
- PINELO, M., RUBILAR, M., JEREZ, M., SINEIRO, J., NUNEZ, M. J. **Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. Easton, v. 53, p.2111–2117; 2005.
- RODRIGUES A. S. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de ora pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) e sua aplicação em mortadela.** (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 91p. 2016.
- ROP, O., MLCEK, J., JURIKOVA, T., NEUGEBAUEROVA, J., VABKOVA, J. **Edible flowers – a new promising source of mineral elements in human nutrition.** Molecules. 17 (6), 6672–6683; 2012.
- SUN, T.; POWERS, J. R.; TANG, J. **Evaluation of the antioxidante activity of asparagus, broccoli and their juices.** Food Chemistry, v. 105, n.1, p.101-106, 2007.
- TABEE, E., AZADMARD-DAMIRCHI, S., JAGESTAD, M., DUTTA, P. C. **Lipids and phytosterol oxidation in commercial French fries commonly consumed in Sweden.** Journal of Food Composition and Analysis. v. 21, n. 2, p. 169-177; 2008.
- VOON, H.C., BHAT, R., RUSUL, G. **Flower extracts and their essential oils as potential antimicrobial agents for food uses and pharmaceutical applications.** Rev. Food Sci. F., v.11, p. 34-55; 2012.
- WANG, M.; SIMON, J. E.; AVILES, I. F.; HE, K.; ZHENG, Q. Y.; TADMOR, Y. **Analysis of antioxidative phenolics compounds in artichoke.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.51, n. 3, p.601-608, 2003.
- WARAHO, T., MC CLEMENTS, D. J., DECKER, E. A. **Mechanisms of lipid oxidation in food dispersions.** Food Science & Technology. v. 22, n. 1, p. 3-13; 2011.
- XIONG, L., YANG, J., JIANG, Y., LU, B., HU, Y., ZHOU, F., MAO, S., SHEN, C. **Phenolic compounds and antioxidant capacities of 10 common edible flowers from China.** Journal of Food Science. 79(4), 517–525; 2014.
- YILMAZ, Y., TOLEDO, R. T. **Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols.** Journal of Food Composition and Analysis. Rome, v.19, n.1, p.41–44; 2006.

DESIDRATAÇÃO DE FRUTAS PELO MÉTODO DE CAMADA DE ESPUMA

Heloisa Alves de Figueiredo Sousa

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília, Campus Planaltina, Planaltina, Distrito Federal.

Josemar Gonçalves Oliveira Filho

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Unesp, Araraquara, São Paulo.

Edilsa Rosa da Silva

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília, Campus Planaltina, Planaltina, Distrito Federal.

Ivanete Alves de Santana Rocha

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília, Campus Planaltina, Planaltina, Distrito Federal.

Rosenaide Dias Braga de Sousa

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília, Campus Planaltina, Planaltina, Distrito Federal.

Isac Ricardo Rodrigues da Silva

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília, Campus Planaltina, Planaltina, Distrito Federal.

Diana Fernandes de Almeida

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília, Campus Planaltina, Planaltina, Distrito Federal.

Helloyse Eugênia da Rocha Alencar

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília, Campus Planaltina, Planaltina, Distrito Federal.

Mariana Buranelo Egea

Instituto Federal de Educação, Ciência e

Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, Rio Verde, Goiás.

RESUMO: A grande maioria dos alimentos sofre deterioração com muita facilidade e, diante desse problema, surgiram algumas técnicas de conservação dos alimentos, dentre os quais a desidratação é uma das mais utilizadas. A desidratação em camada de espuma (foam-mat drying) é uma das técnicas empregadas para a obtenção de produtos alimentícios em pó destacando-se por ser um método em que alimentos são transformados em espumas estáveis, através de vigorosa agitação e incorporação de agentes espumantes para, posteriormente, serem desidratados. Desta forma, este capítulo buscou avaliar a desidratação das polpas de banana, cagaita e buriti utilizando o método de camada de espuma. As polpas das frutas foram desidratadas em estufa de circulação de ar forçada, a temperatura de 70 °C, após formação de espuma com auxílio do agente espumante emustab. As polpas em pó foram analisadas quanto ao pH, teor de sólidos solúveis (SST) e solubilidade em água. O processo de desidratação por camada de espuma provocou aumento no teor de SS, acidez titulável e conseqüente diminuição do pH das polpas. Todas as polpas apresentaram alto índice de solubilidade em água (>60%).

O método de desidratação em camada de espuma foi adequado para obtenção de produtos finais com boas características, que possibilitam sua aplicação em diversos alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: *Musa* spp, Tecnologia de Alimentos, Pós Colheita.

DEHYDRATION FRUIT BY THE FOAM MAT DRYING

ABSTRACT: The vast majority of foods are very easily spoiled and, given this problem, some food preservation techniques have emerged, among which drying is one of the most widely used. Foam-mat drying is one of the techniques employed to obtain powdered food products. It is a method in which foods are transformed into stable foams through vigorous stirring and incorporation of foaming agents. to subsequently be dehydrated. Thus, this chapter aimed to evaluate the drying of banana, cagaita and buriti pulps using the foam layer method. The fruit pulps were dehydrated in a forced air circulation oven at 70 ° C, after foaming with the aid of emustab foaming agent. The powdered pulps were analyzed for pH, soluble solids content (SS) and water solubility. The dewatering process by foam layer caused an increase in SS content, titratable acidity and consequent decrease in pulp pH. All pulps presented high water solubility index (> 60%). The foam layer drying method was adequate to obtain end products with good characteristics, which allow its application in food products.

KEYWORDS: *Musa* spp, Food Technology, Postharvest.

1 | INTRODUÇÃO

A Segurança Alimentar e Nutricional é a realização do direito de todos os seres humanos ao acesso regular e permanente à alimentos de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde, que respeitem a diversidade cultural e que sejam social, econômica e ambientalmente sustentáveis (Lei nº 11.346, de 15 de julho de 2006). É conceito de natureza interdisciplinar, que envolve questões de acesso a alimentos de qualidade, práticas alimentares saudáveis, práticas sustentáveis de produção, cidadania e direitos humanos (BRASIL, 2004; KEPPLER, SEGALL-CORRÊA, 2011).

Neste contexto, a tecnologia de alimentos consiste na aplicação de métodos e técnicas para o preparo, armazenamento, processamento, controle e embalagem, que após a sua aplicação, contribuam com a transformação da matéria-prima em produtos alimentícios (EVANGELISTA, 2008, GAVA, 2010, SILVA, 2000, FELLOWS, 2006), aumentando com isso a disponibilidade e variedade de alimentos para os consumidores. Dentre os métodos de conservação de alimentos destaca-se a desidratação e desidratação.

1.1 Conservação de alimentos por desidratação

A umidade do alimento é um importante fator intrínseco para os processos microbiológicos, como o desenvolvimento de fungos e bactérias (deteriorantes e patogênicos), e também para o desenvolvimento de insetos. A remoção de umidade provoca diminuição da atividade de água do produto, inibindo o desenvolvimento de micro-organismos e retardando deteriorações (CANO-CHAUCA et al., 2004).

Assim, a secagem ou desidratação é definida por Fellows (2006) como “a aplicação de calor sob condições controladas para remover, por evaporação a maioria da água presente em um alimento”. Ela tem sido utilizada desde a antiguidade para a conservação de alimentos, uma vez que a água afeta de maneira decisiva o tempo de preservação dos produtos, influenciando diretamente na sua qualidade e durabilidade (GRENSMITH, 1998).

A desidratação artificial utiliza equipamentos onde o alimento é colocado em uma estufa e a combinação de ar quente utilizando circulação de ar na velocidade de 0,5 m/s a 3 m/s com umidade relativa controlada, é utilizada para promover a transferência de calor por convecção para o alimento. Com a transferência de calor, a água contida no alimento muda seu estado físico para vapor de água que migra com maior facilidade para a superfície do alimento e conseqüentemente, do alimento para o ar dentro da estufa aumentando a umidade relativa do ar. O tempo, temperatura e a umidade relativa do ar do processo são fatores que precisam ser controlados para evitar danos ou alterações nas propriedades físicas e químicas do produto (PONTES et al., 2009).

Com a realização do processo de desidratação ocorre a diminuição da água livre no alimento e por isso, ele apresenta papel decisivo em minimizar o crescimento microbiano e na inibição de reações bioquímicas, favorecendo o aumento do tempo de prateleira, maior estabilidade e compactação, o que facilita o transporte do fruto. Além disso, agrega valor ao produto, o que pode levar ao aumento da renda dos produtores de frutas (PESSOA; EL-AOUAR, 2009).

1.2 Desidratação pelo processo de Camada de Espuma (*Foam Mat Drying*)

A desidratação em camada de espuma (*foam mat drying*), que tem como característica a rápida desidratação de alimentos líquidos e pastosos como sucos, purê e polpas de frutas (MARQUES, 2009). Por este método os alimentos líquidos ou semilíquidos são transformados em espumas estáveis através de vigorosa agitação e incorporação de agentes espumantes, de ar ou outro gás transformando o alimento numa espuma estável, para posteriormente, serem desidratados (KARIN; WAI, 1999; SILVA et al., 2008). Esta espuma é submetida à desidratação utilizando ar aquecido, até o teor de água desejado onde ocorre a desintegração da massa seca em escamas e, finalmente a obtenção do pó (GURJÃO, 2006; BASTOS et al., 2005).

A desidratação em espuma ganhou atenção como uma nova técnica porque não apresenta grandes problemas associados aos métodos tradicionais de desidratação, tais como dificuldades de reidratação, perfil sensorial desfavorável e longo tempo de desidratação (KUDRA, RATTI, 2008; AZIZPOUR et al., 2016).

As vantagens desse método são o fato de utilizar baixas temperaturas e tempos curtos de desidratação, ser relativamente simples e barato (JAKUBCZYK et al., 2010, KADAM, BALASUBRAMANIAN, 2011) e remoção de forma mais rápida a água presente no produto e obtenção de um produto poroso facilmente reidratável (DANTAS, 2010, KADAM et al., 2010). Essas vantagens podem ser atribuídas a maior área de superfície exposta pelo alimento ao ar aquecido, o que favorece ao processo de remoção da umidade (KARIN; WAI, 1999; ABBASI, AZIZPOUR, 2016). Segundo Apenburg (1971), o produto obtido pelo processo *foam-mat* tem qualidade comparável ao obtido pela secagem a vácuo ou por liofilização, tendo como vantagem o baixo custo de processamento aliado a boa retenção do aroma e sabor e facilidade de reconstituição em água e tem pouco efeito sobre o valor nutricional dos alimentos.

1.3 Banana (*Musa spp.*), Buriti (*Mauritia flexuosa*) e Cagaita (*Eugenia dysenterica*)

A banana é uma fruta amplamente consumida pelos brasileiros e representa a segunda fruta mais produzida no país, atrás somente da laranja. Em 2017, a produção de banana no Brasil foi de 7.185 milhões de toneladas, numa área de 486,8 mil hectares, tendo um acréscimo de 6,23% na produção, em relação a 2016. O Brasil, como grande produtor mundial de banana, tem 98% da produção destinada predominantemente ao mercado interno (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2018).

A cagaita (*Eugenia dysenterica*) é um fruto de forma esférica. Quando maduro, apresenta coloração amarelo-claro e sabor ligeiramente ácido. O fruto apresenta formato oval, achatado ou elipsoide, com massa de 14 a 20 gramas, sendo o epicarpo membranoso e de brilho intenso, e o mesocarpo e o endocarpo, carnosos (SILVA et al., 2015a, 2015b; SILVA, 2016). É um fruto com teor significativo de fibras alimentares, vitaminas, minerais e baixo valor energético (cerca de 20 a 29 kcal em 100 gramas). Possui alto teor de umidade, aproximadamente 95%, e quantidades consideráveis de ácidos graxos essenciais, principalmente ácido linoleico (ω -6), cerca de 10,5%, e ácido linolênico (ω -3), cerca de 11,8% (SILVA, 2016, REIS, SCHMIELE, 2019).

A planta *Mauritia flexuosa* pertence à família botânica Arecaceae, conhecida popularmente pelos nomes: buriti, miriti, palmeira-do-brejo, moriche, aguaje ou carangucha (FERREIRA, 2005, FILHO, 2017). As inflorescências são ramificadas e podem variar de 2,5 – 3,7 metros de comprimento; os frutos são de coloração marrom-avermelhada e coberta por escamas sobrepostas, e as folhas possuem cerca de 3 a 5 metros de comprimento (MARTINS et al., 2006, COSTA, 2017). Uma palmeira produz em média entre 150 e 200 kg de frutos/ano e cada fruto pesa

cerca de 50 g, a sua polpa é macia, de coloração amarela escura, da qual se pode extrair o óleo (SHANLEY, MEDINA, 2005, FILHO, 2017). De acordo com Aguiar e Souza (2017) a polpa de buriti possui altas quantidades de carotenoides, polifenóis e ácido ascórbico, apresentando potencial para ser usado na prevenção de doenças causadas pelo estresse oxidativo.

Apesar do grande potencial de produção observa-se elevadas perdas pós-colheita na fruticultura. Segundo dados da FAO (2013), 54% do desperdício de alimentos no mundo ocorre na fase inicial da produção, manipulação pós-colheita e armazenagem. Os 46% restantes ocorrem nas etapas de processamento, distribuição e consumo. Percebe-se então a necessidade de aumento de pesquisas na área a fim da redução do desperdício.

Uma das formas de aproveitar melhor a matéria-prima sazonal é utilizando a ou desidratação que diminui o teor de água e aumenta a duração deste produto, diminui o volume e com isso, melhora a logística e distribuição. Neste capítulo o método de desidratação em camada de espuma é discutido como uma tecnologia para da polpa de banana, buriti e cagaita.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo das frutas

As bananas (*Musa sp.*) foram coletadas e submetidas a limpeza, visando a retirada de restos florais e eliminação de látex, e para isso foram imersas em tanques de lavagem contendo água e detergente neutro (0,5 L de detergente para 8.000 L de água). Os frutos foram manualmente descascados e macerados para obtenção da polpa.

Os frutos da cagaita (*Eugenia dysenterica*) foram lavados em água corrente e sanitizados com solução clorada 5 ppm por 15 minutos e drenadas em escorredor para retirada do excesso de água. Os frutos foram despulpados em processador industrial e homogeneizados em peneira para retirada das sementes.

Os frutos maduros de buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) foram selecionados (retirando impurezas), lavados em água corrente e imersos em água por um período de 24 a 48 horas, para facilitar a extração da polpa. A casca foi cuidadosamente removida de cada fruto utilizando uma colher e o despulpamento realizado manualmente.

2.2 Desidratação das polpas das frutas por camada de espuma

A espuma foi preparada misturando em batedeira doméstica 300g da polpa de cada uma das frutas (banana, cagaita e buriti) juntamente com 45 g emustab e 1g ácido cítrico por 30 minutos para a formação de uma espuma porosa e estável.

A desidratação foi realizada na temperatura de 70°C em secador de cabine

(SANAKY, PD-25, Minas Gerais, Brasil). O alimento sólido foi espalhado uniformemente sobre uma bandeja com fundo tipo tela (de metal ou plástico) a uma espessura de 10 mm a 100 mm (Celestino, 2010). A circulação de ar no secador é realizada por um ventilador situado atrás de resistências elétricas usadas para o aquecimento do ar de entrada e o controle da temperatura é por meio de um termostato. Após o processo, o secador foi aberto e as bandejas descarregadas.

2.3 Determinações Físico-Químicas

Teor de Umidade e Sólidos Totais

Para a determinação do teor de umidade foi realizada desidratação direta em analisador de umidade por infravermelho modelo Mb27 (OHAUS, Barueri, Brasil) à 160°C até peso constante.

Análises de Acidez Titulável (AT), pH e Sólidos Solúveis (SS) do pó

A determinação de acidez titulável foi realizada por titulação com solução de NaOH (0,01N) e indicador fenolftaleína (IAL, 2005).

A análise de pH foi realizada diretamente em potenciômetro de bancada da marca modelo FT-P21 (HANNA, São Paulo, Brasil) previamente calibrado com soluções de pH 7,01; 4,01 e 10,01 conforme orientações do fabricante.

O teor de sólidos solúveis foi determinado em refratômetro manual com escala de 0 a 80 °Brix e precisão 1°Brix e expresso em °Brix.

Solubilidade

A solubilidade das amostras foi determinada pelo método descrito Cana-Chauca et al. (2004), onde 1 g de pó foram diluídas em 100 mL de água destilada em um béquer com capacidade de 250 mL sob agitação a 2500 rpm por 5 minutos. A solução foi centrifugada a 2500 rpm por 5 minutos. Alíquotas de 20 mL do sobrenadante foram transferidas para placas de alumínio e submetidas em estufa à 105°C por 2 horas. Os percentuais de solubilidade foram calculados a partir da diferença entre a massa final e a inicial do material na placa utilizando $S (\%) = 100 \times ((M_{\text{seca}}) / M_{\text{inicial}})$, onde S é a solubilidade percentual (%); Mseca é a massa de amostra após a desidratação em estufa (g) e Minicial é massa de amostra pesada inicialmente (g).

3 | RESULTADOS

3.1 Teor de Umidade e sólidos totais

O teor de umidade das polpas desidratadas (pó) obtido pela desidratação

em camada de espuma foi de 9,62, 7,80 e 7,38 % para banana, buriti e cagaita, respectivamente. A umidade representa o teor de água contido no alimento, que pode ser classificado como água livre do alimento ou presente na superfície do alimento e que pode ser facilmente evaporada, água encontrada no interior do alimento, sem combinar-se quimicamente com o mesmo (IAL, 2005).

O objetivo principal da desidratação é a redução do teor de água presente no alimento, que levará a inibição do crescimento microbiano responsável pela deterioração dos alimentos (TRAVAGLINI et al., 1993, DANTAS, 2010).

Não existe uma legislação que determine a porcentagem de água presente em frutas desidratadas. Porém a ANVISA (BRASIL, 2005a), determina umidade máxima de 25% para frutas secas e desidratadas e 15% para farinhas, amidos de cereais e farelos (BRASIL, 2005b). Sendo assim, os resultados obtidos estão dentro do limite estabelecido para frutas secas e farinhas, amidos de cereais e farelos (BRASIL, 2005). (BRASIL, 2005).

3.2 Análises de acidez titulável (AT) e sólidos solúveis (SS) do pó

A desidratação por camada de espuma aumentou o teor de acidez titulável e conseqüente diminuiu o pH, quando comparado às polpas *in natura*. Essa característica se deve a adição do ácido cítrico e do agente emustab que provoca concentração de íons H^+ conforme a umidade diminui (FREITAS et al., 2018).

Quanto a acidez titulável e pH, os resultados para as polpas desidratadas foram de 0,63 g/100 g de ácido málico e 3,95 para a banana; 0,65 g/100 g de ácido málico e 3,6 para a cagaita; e, 0,55 g/100 g de ácido málico e 4,2 para o produto em pó do buriti; respectivamente.

Os ácidos orgânicos são frequentemente adicionados aos alimentos como acidulantes e conservantes, para inativação ou inibição do crescimento de microorganismos deteriorantes e patogênicos de origem alimentar. A inativação ou inibição microbiana pelos ácidos orgânicos está relacionada a função do pH, do pKa, e do número de constantes de dissociação associados com um ácido, o qual é conhecido por atingir a membrana bacteriana, o pH intracelular, e a quelação de íons (GURTLER; MAI, 2014; FREIBERGER, 2016).

Na produção de fruta desidrata, adicionou-se o ácido cítrico devido às propriedades acidulante, palatabilidade, a toxicidade, facilidade de assimilação pelo organismo humano, tamponamento e sequestro de íons. Cerca de 70% da produção deste ácido é utilizada pela indústria de alimentos, 12% pela indústria farmacêutica e 18% por outras indústrias (ALMEIDA, 2011, FREIBERGER, 2016).

De acordo com Silva et al. (2015) o teor de sólidos solúveis totais é uma característica de interesse para produtos alimentícios, pois o mercado consumidor prefere frutos doces. O processo de desidratação por camada de espuma provocou aumento no teor de sólidos solúveis quando comparado às polpas *in natura*. O

aumento no teor de sólidos solúveis é consequência da perda de umidade dos alimentos durante a desidratação, que provoca a concentração dos açúcares naturalmente presentes nas polpas. O processo de desidratação provocou aumento de 5 a 10 °Brix no teor de sólidos solúveis quando comparado às polpas in natura. Os resultados de sólidos solúveis foram de 31,7, 21,0 e 20,5 °Brix para o produto em pó da banana, cagaita e buriti, respectivamente.

O aumento no teor de sólidos solúveis também foi relatado para a desidratação em camada de espuma em frutos de jenipapo e araçá-boi quando usado o aditivo emustab (PINTO, 2009; SOARES, 2009).

3.3 Solubilidade

A solubilidade é o critério mais confiável para avaliar o comportamento do pó em solução aquosa. A adição de emulsificantes em combinação com desidratação de camada de espuma faz com que ocorra a porosidade das amostras em consequência da incorporação de ar durante a etapa de mistura e formação da espuma (CRUZ, 2013).

A solubilidade se relaciona com a quantidade de moléculas solúveis em água, o que pode ser verificado pela comparação entre os valores de solubilidade em água e os teores de sólidos solúveis totais das amostras (FERREIRA et al., 2015).

O índice de solubilidade do pó das polpas de frutas desidratadas pelo processo de desidratação em camada de espuma neste estudo foi de 69, 72, e 64 % para o produto desidratado de banana, cagaita e buriti, respectivamente.

Valores comparáveis com os observados neste estudo foram descritos por Severo (2016), que verificou índice de solubilidade em água para a banana prata em pó de 76,18%. A tendência a aglomeração das partículas durante o teste de solubilidade para a desidratação por camada de espuma analisada por Queck et al. (2007) contribuiu para que os sumos de melancia secos em menores temperaturas tivessem maior taxa de solubilidade em água. Conforme Nadeem et al. (2011) quanto mais estável for o processo de desidratação mais bolhas serão formadas na camada de espuma o que contribui para a porosidade e aumento da solubilidade do pó em água.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A desidratação foi eficiente pelo fato de reduzir a atividade de água no produto, aumentando a concentração de sólidos solúveis que apresentam correlação com teores de açúcares e ácidos orgânicos. O pó das polpas de frutas obtido após o processo de desidratação apresentou elevada solubilidade indicando potencial para aplicação no desenvolvimento de produtos instantâneos, ou ingredientes que necessitam de ingredientes com maior solubilidade.

Concluiu-se que a produção do pó obtido utilizando o processo de desidratação em camada de espuma a partir da polpa de bananas apresenta viabilidade tecnológica e que a técnica é adequada para produção de um produto final com boas características físico-químicas, que apresenta potencial para ser utilizado no desenvolvimento de produtos com maior valor agregado.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o auxílio financeiro do CNPq (Processo 426479/2016-5), CAPES (001), IF Goiano e IFB.

REFERÊNCIAS

ABBASI, E., AZIZPOUR, M., Evaluation of physicochemical properties of foam mat dried sour cherry powder - **Food Science and Technology** (2016). 68. 105e110

AGUIAR, J. P. L.; SOUZA, F. C. A. Desidratação e pulverização de polpa de buriti (*Mauritia flexuosa* L.): avaliação da vida-de-prateleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, p. 1-7, 2017. Número especial.

ALMEIDA A. L. F., Conservantes Químicos para Alimentos. **Food Ingredients Brasil**, 18, p. 43-49, 2011.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2018. Santa Cruz do Sul : Editora Gazeta Santa Cruz, 88p. 2018.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC international. Food composition, additives, natural contaminants, 18 ed., v.2, Gaithersburg: AOAC International, 2006.

AZIZPOUR, M, MOHEBBI, M., HOSEIN, M., KHODAPARAST, H., Effects of foam-mat drying temperature on physico-chemical and microstructural properties of shrimp powder. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 34 (2016) 122–126.

BAG, S.K.; SRIVASTAV, P. P.; MISHRA, H. N. Optimization of process parameters for foaming of bael (*Aegle marmelos* L.) fruit pulp. **Food Bioprocess Technology**: West Bengal, 2011.

BASTOS, D. S.; SOARES, D. M. B. G.; ARAUJO, K. G. L; VERRUMA-BERNARDI, M. R. Desidratação da polpa de manga “tommy atkins” utilizando a tecnica de foam mat drying – avaliações químicas, físico-químicas e sensoriais. **Braz. Jour. Food Technol.**, v. 8, n. 4, p.283-290, out./dez.2005.

BRASIL, ANVISA. RESOLUÇÃO-RDC Nº 272, DE 22 DE SETEMBRO DE 2005. Ministério da Saúde.

BRASIL. Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (Consea). II Conferência Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional, 17-20 março, 2004. Brasília: Consea; 2004.

CANO-CHAUCA, M., RAMOS, A.M., STRINGHETA, P.C., MARQUES, J.A.,SILVA, P.I. Curvas de secagem e avaliação da atividade de água da banana passa. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 22, n. 1, p. 121-132, jan./jun. 2004

CELESTINO, S. M.C. **Princípios de Secagem de Alimentos**. – Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. 51 p.— (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111, ISSN online 2176-5081; 276).

- CHITARRA, A. B.; ALVES, R. E. **Tecnologia de pós-colheita para frutas tropicais**. Fortaleza: FRUTAL - SINDIFRUTA, 2001. 314p.
- COSTA, K.P. **Fenologia do buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) no Norte de Minas Gerais**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal) da Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros. 2017
- CRUZ, W. F. **Obtenção da polpa de goiaba (*Psidium guajava* L.) em pó pelo método de secagem de espuma**. Universidade Federal de Viçosa . Dissertação de mestrado, 2013.93p.
- DANTAS, S. C. M. **Desidratação de polpas de frutas pelo método foam-mat**. 2010. 100 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa e Desenvolvimento de Tecnologias Regionais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.
- EVANGELISTA, José. **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo. Atheneu. 2008.
- FAO – Organização das Nações Unidas para alimentação e a agricultura. **Desperdício de alimentos tem consequências no clima, na água, na terra e na biodiversidade**. Nota Técnica. 2013 – disponível em: <https://www.fao.org.br/daccatb.asp>, consultado: 29/11/2015.
- FELLOWS, P.J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos - Princípios e práticas**. Artmed. 2006.
- FERREIRA, M. G. R. **O buriti (*Mauritia flexuosa* L.)**. Informação Técnica EMBRAPA Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia, 2005.
- FERREIRA, M. S. L., SANTOS, M. C. P., MORO, T. M. A., BASTO, G. J., ANDRADE, R. M. S., GONÇALVES, É. C. B. A. Formulation and characterization of functional foods based on fruit and vegetable residue flour. **Journal of Food Science and Technology**, 52(2), 822-830. 2015
- FILHO, J.M.M. **Preparado de buriti (*Mauritia flexuosa* L): produção, caracterização e aplicação em leite fermentado**. Tese (Doutorado junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos) do Instituto de Biociências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus São José do Rio Preto. 2017
- FREIBERGER, R. C. P. **Utilização de ácidos orgânicos como conservantes em linguiças curadas cozidas embaladas à vácuo**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Florianópolis, SC, 2016. 77 p.
- FURTADO, G. F.; SILVA, F. S.; PORTO, A. G.; SANTOS, P. Secagem de polpa de ceriguela pelo método de camada de espuma. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.12, p.9-14, 2010.
- GAVA, Altanir Jaime. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo. Nobel. 2010.
- GREENSMITH, M. **Practical dehydration**. 2ed. Florida-USA: CRC Press, 274p, 1998.
- GURJÃO, K.C.O. **Desenvolvimento, armazenamento e secagem de tamarindo (*Tamarindus indica* L.)**. 2006. 165 f. (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Areia.
- GURTLER J. B., MAI T. L. **Preservatives| Traditional Preservatives – Organic Acids**. 2 Ed. Encyclopedia of Food Microbiology. p 119-130, 2014.
- IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: IMESP, 2005.
- JAKUBCZYCK, E.; OSTROWSKA-LIGEZA, E.; GONDEK, E. Moisture sorption characteristics and

glass transition temperature of apple puree powder. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p. 2515-2523, 2010.

KARIM, A. A.; WAI, C. C. Foam-mat drying of starfruit (*Averrhoa carambola* L.) purée. Stability and air drying characteristics. **Food Chemistry**. v.64, n.3, p. 337 –343, 1999.

KADAM, D. M., BALASUBRAMANIAN, S. Foam mat drying of tomato juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, (2011). 35, 488e495.

KADAM, D. M., WILSON, R. A., KAUR, S. Determination of biochemical properties of foam-mat dried mango powder. **International Journal of Food Science and Technology**, (2010) 45, 1626e1632.

KAMEL, B. S. Emulsifiers, *Journal food additive user's handbook*. London:Blackie, , p.169-201, 1997.

KEPPLE AW, SEGALL-CORRÊA AM, Conceituando e medindo segurança alimentar e nutricional. **Ciência & Saúde Coletiva**, 16(1):187-199, 2011.

KUDRA, T., RATTI, C. Process and energy optimization in drying of foamed materials. **Transactions of the Tambov State Technical University**, (2008) 14(4), 812–819.

MARQUES, G. M. R. **Secagem de caldo de cana em leite de espuma e avaliação sensorial do produto**. 2009. 84f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Itapetinga-BA.

MARTINS RC, SANTELLI P, FILGUEIRAS TS. Buriti. Frutas nativas da Região Centro-Oeste do Brasil. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília. In: VIEIRA RF, COSTA T, SILVA DB, FERREIRA FR, SANO SM. **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. Embrapa Informação Tecnológica. 2006.

MEDEIROS, J. **Secagem de polpa de mangaba em camada de espuma**. 2007. 104f. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola)** – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.

NADEEM, H. S.; TORUN, M.; ÖZDEMİR, F. Spray drying of the mountain tea (*Sideritis stricta*) water extract by using different hydrocolloid carriers. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, p. 1626-1635, 2011.

NITSCHKE, M; PASTORE, G. M. Biosurfactantes: Propriedades e aplicações. **Química Nova**. Vol25, nº- 5,772.776, 2002.

PARK, K. J.; ANTONIO, G. C. **Análises de materiais biológicos**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, 2006. 21 f.

PESSOA, T. R. B.; EL-AOUAR, A. A.; **Avaliação do processo de obtenção de farinha da casca de banana (*Musa sapientum*) das variedades Prata, Pacovan e Maçã**. 2009, 121 F. Dissertação. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, 2009.

PINTO, E. G. **Caracterização da espuma de jenipapo (*Genipa americana* L.) com diferentes aditivos visando à secagem em leite de espuma**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga - BA, 2009.

PONTES, S. F. O. **Processamento e qualidade de banana da terra (*Musa Sapientum*) desidratada**. 2009, 86f. Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, como parte integrante das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração em Engenharia de processos de Alimentos. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2009.

QUEK, S. Y.; CHOK, N. K.; SWEDLUND, P. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, p. 386-392, 2007.

REIS, A. F.; SCHMIELE, M. Características e potencialidades dos frutos do Cerrado na indústria de alimentos. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas , v. 22, e2017150, 2019 .

REIS, R.C.; RAMOS, A.M.; REGAZZI, A.J.; MINIM, V.P.R.; STRINGUETA, P.C. Almacenamiento de mango secado: análisis fisicoquímico, microbiológico, color y sensorial. **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, v.5, n.3, p.214-225, 2006.

SEVERO, L.S. **Obtenção de polpa de banana em pó pelo método de secagem em camada de espuma**. Dissertação de mestrado Universidade Federal Ceara, Fortaleza, 2016. 95f.

SHANLEY, P.MEDINA, G. **Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica**. Belém: CIFOR, Imazon, 2005. 300 p. il.

SILVA, A. S.; GURJÃO, K. C. DE O.; ALMEIDA, F. DE A. C.; BRUNO, R. L. A.; PEREIRA, W. E. Desidratação de polpa de tamarindo pelo método de camada de espuma. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p.1899-1905, 2008.

SILVA, J.A. **Tópicos de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Varela. 2000.

SILVA, L. M. M., et al. Estudo experimental da secagem de polpa de achachairu em camada fina. **Gaia Scientia**. V. 9, n. 1, p. 151-155, 2015.

EFEITO DE TRÊS MÉTODOS DE ABATE SOBRE OS INDICADORES DE QUALIDADE DA CARNE DA TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) RESFRIADA

Elaine Cristina Batista dos Santos

Universidade Estadual do Maranhão,
Departamento de Engenharia de Pesca, São Luís
- Maranhão /Doutora em Aquicultura -CAUNESP

Paulo Roberto Campagnoli de Oliveira Filho

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Engenharia de Pesca, Recife -
Pernambuco

Elisabete Maria Macedo Viegas

Faculdade de Zootecnia e Engenharia de
Alimentos - FZEA/USP, pIRASSUNUNGA - São
Paulo

RESUMO: Este trabalho foi desenvolvido para avaliar o efeito de diferentes métodos de abate sobre os indicadores de qualidade da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriada. Foram aplicados três métodos de abate: choque elétrico (ChE), mistura gasosa (CO₂N) e hipotermia (AG), em 33 exemplares de tilápia para cada tratamento. Como indicadores físico-químicos de qualidade foram realizados a determinação índice de rigor mortis, (ATP) trifosfato de adenosina e seus produtos degradados. As amostragens ocorreram em um período de 26 dias correspondendo aos tempos 0, 3, 5, 24, 120, 192, 288, 456 e 624 horas. O tempo de abate foi significativamente diferente entre os tratamentos, variando de 3 a 62 minutos. O abate por ChE retardou a

entrada no *rigor mortis*, embora o tempo de resolução do rigor tenha sido semelhante em todos os tratamentos. O conteúdo de ATP e dos seus catabolitos encontrados neste estudo, não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, embora o abate por CO₂N tenha apresentado valores superiores a 5,46 mmol/g. Algumas variações foram observadas nos níveis de AMP e no valor de K para o abate por CO₂N. As metodologias de abate utilizadas neste estudo mostraram-se eficientes para o abate da tilápia em relação à estabilidade do peixe mantido refrigerado. Do ponto de vista humanitário, observou-se a viabilidade de utilização do choque elétrico como método eficaz de abate, por provocar uma morte rápida e segura, sem promover sofrimento excessivo para o animal.

PALAVRAS-CHAVE: choque elétrico, ATP, *rigor mortis*.

EFFECT OF THREE METHODS OF SLAUGHTER ON THE QUALITY INDICATORS OF MEAT OF TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) REFRIGERATED

ABSTRACT: This study was conducted to evaluate the effect of different slaughter methods of the quality indicators of cooled Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). We applied three

methods of slaughter: electric shock (ChE), gas mixture (CO₂N) and hypothermia (AG) in 33 specimens of tilapia for each treatment. As physico-chemical indicators of quality were determined the rigor mortis rate, (ATP) adenosine triphosphate and its degraded products and pH analysis. The samples occurred in a period of 26 days corresponding to times 0, 3, 5, 24, 120, 192, 288, 456 and 624 hours. Time of slaughter was significantly different between treatments, ranging from 3 to 62 minutes. The slaughter by ChE delayed the entry into rigor mortis, although the time resolution of rigor have been similar for all treatments. The content of ATP and its catabolites found in this study did not show significant differences among treatments, although the slaughter by CO₂N has presented values above 5.46 mmol/g. The methods of slaughter used in this study were effective for the slaughter of tilapia in relation of the stability of the fish kept refrigerated. From a humanitarian perspective, we observed the feasibility of using electric shock as an effective method of killing, by causing rapid death and safely without causing undue suffering to the animal.

KEYWORDS: electric shock, ATP, rigor mortis.

1 | INTRODUÇÃO

A tilápia, *Oreochromis niloticus* compõe o grupo de peixes que mais cresce em termos de comercialização mundial. É o segundo grupo mais produzido mundialmente, e apesar das imprecisões estatísticas, estima-se ser o gênero mais produzido no Brasil (ZIMMERMANN & FITZSIMMONS, 2004), estando seu cultivo concentrado em maiores proporções nas regiões nordeste e sul. Este grupo possui características organolépticas e nutricionais desejáveis, tais como baixo teor de gordura e ausência de espinhos em forma de “Y”, característica interessante para a produção de filés (BORGHETTI & OSTRENSKY, 1999; STEVANATO et al., 2005).

O controle de qualidade do pescado e a segurança do alimento são fundamentais, pois é a *commodity* alimentar mais comercializada internacionalmente (HUSS, 2003). Mas a qualidade dos peixes também deve abranger aspectos éticos durante a produção (LAMBOOIJ et al., 2006). Além de fatores como o abate, as próprias características químicas e estruturais da carne de pescado provocam aceleradas alterações, que proporcionam a deterioração do pescado (MELO FRANCO & LANDGRAF, 1996). A atenção e preocupação com o estresse na piscicultura têm aumentado consideravelmente nos últimos anos, por ser uma questão importante no bem-estar dos peixes (ASHLEY, 2007), e também pelos efeitos negativos na produção (URBINATI & CARNEIRO, 2004) e na alteração dos atributos de qualidade da carne (LAMBOOIJ et al., 2002).

Diferentes métodos de atordoamento e abate são comumente usados em peixes provenientes da pesca e da aquicultura. Estes métodos consistem em narcose por CO₂, insensibilização por choque elétrico, percussão medular, asfixia, banho de sal, pela mistura do gelo mais água ou apenas gelo (POLI et al., 2005).

Alguns desses métodos vêm sendo pesquisado visando desenvolver uma maneira de minimizar o sofrimento durante o abate, tornando os peixes menos sensíveis a procedimentos estressantes antes da morte. Além das considerações éticas para minimizar o sofrimento dos peixes, também há razões econômicas e comerciais, já que a qualidade da carne é reduzida em peixes submetidos ao estresse pré abate (ACERETE et al., 2009).

Para avaliar a qualidade no pescado fresco, vários indicadores têm sido utilizados por diferentes autores (PARISI et al., 2002; LOUGOVOIS et al., 2003). Entre os indicadores bioquímicos, alguns estão mais relacionados à deterioração carne, tais como as concentrações de amins, amônia, trimetilamina, dimetilamina, e compostos de peroxidação lipídica. Um bom indicador de frescor é a degradação dos nucleotídeos expressos como indicadores como o valor K (HUSS et al., 1992).

A manipulação inadequada do pescado no pré abate pode levar a carne a uma deterioração mais rápida (SIGHOLT et al., 1997), pois a captura e o método de insensibilização ou abate podem ter uma grande influência sobre a degradação muscular *pós-mortem* causando mudanças no início e resolução do *rigor mortis* (TORNBERG et al., 2000). O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes métodos de abate sobre a qualidade da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriada, utilizando como indicadores de qualidade, a dinâmica de início e resolução do rigor mortis, pH muscular, degradação de ATP e seus catabólitos.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 99 exemplares de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com peso médio de $535,1 \pm 121,36$ g e comprimento total médio de $32,93 \pm 2,35$ cm, adquiridos em uma piscicultura situada na região de Pirassununga, SP. Os animais foram transportados vivos até o Laboratório de Aquicultura da Universidade de São Paulo- USP, Campus Pirassununga, estocados em viveiros de alvenaria com capacidade de 5000L de água com renovação contínua e mantidos em jejum por 48h até o momento do abate.

Três métodos de abate foram aplicados, utilizando-se 33 peixes para cada tratamento: **a) Eletronarcose (ChE):** os peixes foram colocados em uma caixa plástica com capacidade total de 120L, preenchida com 80L de água da rede pública de abastecimento. Para ajuste da condutividade elétrica pré-estabelecida em $700\mu\text{S}$, foi adicionada a água do abate uma salmoura supersaturada de cloreto de sódio. Foi aplicada uma corrente elétrica de 154 V e 8,0 A, durante 120 segundos, tempo este suficiente para promover a morte dos animais. **b) Asfixia gasosa (CO_2N):** foi utilizada uma caixa plástica com capacidade de 120L preenchida com 80L de água em temperatura ambiente, na qual foi adicionada uma mistura de gases composta por 70% de CO_2 (gás carbônico) e 30% de N (nitrogênio) através de um difusor e pedra

porosa. Os peixes permaneceram na caixa até a morte de todos os exemplares. **c) Hipotermia (AG):** uma mistura de água e gelo na proporção de 2:1 foi adicionados em uma caixa plástica com capacidade de 120L, e volume da mistura de 80L onde foram colocados os peixes e mantidos até a morte.

Os parâmetros da água como oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, pH e temperatura, foram verificados antes e depois do abate, utilizando um medidor multiparâmetro (Horiba, modelo U-10). Para todos os tratamentos, o óbito foi constatado pela ausência de reflexos ao estímulo da linha lateral com utilização de alfinete e pela ausência de movimentos do opérculo, aplicados a uma amostra de cada tratamento. Também foram registrados o tempo de morte e o comportamento dos peixes em cada tratamento.

A amostragem foi realizada em 0, 3, 5, 24, 120, 192, 288, 456 e 624 horas após a morte, totalizando um período de 26 dias. Depois de constatada a morte, todos os peixes de cada tratamento foram medidos (comprimento total) e pesados utilizando ictiômetro e balança digital, identificados com etiquetas e submetidos à aferição do índice de *rigor mortis* inicial. Com o propósito de identificar o momento da instalação do rigor, três peixes de cada tratamento foram submetidos à aferição do índice de rigor (IR) a cada 15 minutos, segundo a metodologia descrita por BITO et al. (1983). Os peixes foram acondicionados em caixas isotérmicas com camadas alternadas de gelo e mantidos durante todo o período de amostragem em câmara fria a 4,0° C. Três peixes por tratamento foram utilizados para cada um dos nove tempos de amostragem.

As concentrações de trifosfato de adenosina (ATP) e seus produtos degradados: monofosfato de adenosina (AMP), monofosfato de inosina (IMP), inosina (HxR) e hipoxantina (Hx) foram determinadas por cromatografia líquida de alta pressão (High Pressure Liquid Chromatography- HPLC) de acordo com Burns et al. (1985). Para a fase móvel foi utilizado uma solução de KH_2PO_4 (0,6M) com um fluxo de 1,4mL/min em coluna analítica de fase reversa (RP 8M PLC, dimensões: 4,6mm x 10cm, tamanho da partícula de 10 μm , embutido em uma coluna protetora, 4,6mm x 3cm, tamanho da partícula de 10 μm). O valor K foi determinado pela razão entre a quantidade total de HxR e Hx e a quantidade total de ATP e seus produtos de degradação no músculo, segundo a equação [1] descrita por SAITO et al. (1959).

$$K(\%) = \frac{[HxR]}{[ATP]+[ADP]+[AMP]} + \frac{[Hx]}{[IMP]+[HxR]+[Hx]} \times 100 \quad [1]$$

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos e três replicas para cada tempo. As análises físico-químicas foram feitas em triplicata. Para atender as pressuposições de análise, a normalidade foi determinada pelo teste de Shapiro-wilk e D'Agostino-Pearson, e homocedasticidade das variâncias

pelo teste de Cochran ($p < 0,05$). Foi realizada análise de Variância (ANOVA) fatorial dois efeitos, ou seja, tratamento x tempo, considerando $p < 0,05$. Nos casos em que houve diferenças significativas foram aplicados o teste de Tukey e o método não paramétrico de Friedman, a um nível de significância de 5%.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os métodos de abate diferenciaram principalmente no tempo decorrido até a constatação da morte dos animais, variando de 3 a 62 minutos. A condutividade elétrica pré-estabelecida em $700 \mu\text{S}$ foi suficiente para conduzir de maneira uniforme a corrente elétrica no tratamento com choque elétrico. Lambooij et al. (2006) utilizaram uma condutividade superior de $876 \mu\text{S}$ para o abate do bagre africano com diferentes voltagens. Os demais parâmetros de qualidade de água observados mantiveram-se sem alterações significativas (**TABELA 1**).

Tratamento	TA min	TEMP (°C)		OD (mg/L)		COND (μS)		pH	
		Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim
ChE	3	25,0	21,7	5,45	6,15	700	722	5,02	6,14
CO ₂ N	62	25,0	24,6	5,46	5,47	0	0	4,87	4,81
AG	21	1,5	0,8	17,00	19,00	0	0	5,22	5,95

TABELA 1. Tempo total de abate e parâmetros de qualidade da água durante a aplicação dos três métodos de abate por eletronarcolese (ChE), mistura gasosa (Co₂N) e hipotermia (AG).

TA= Tempo decorrido desde a aplicação do método até a morte (minutos), TEMP= temperatura, OD=Oxigênio dissolvido e COND= Condutividade.

Foi observado que após 2 segundos os peixes submetidos à corrente elétrica não apresentavam mais movimentos. Baseado em pesquisa piloto anterior, o tempo de exposição à corrente elétrica foi estendido visando garantir o abate. Roth et al. (2002), descreveram a eficiência da corrente elétrica como método de insensibilização do salmão do atlântico (*Salmo salar*), combinado com métodos complementares de abate como a perfuração branquial.

A quantidade de energia consumida no músculo do peixe durante o abate por choque elétrico depende do tipo de corrente elétrica utilizada: corrente contínua (CC), corrente alternada (CA) e da força do campo elétrico (MITTON e MCDONALD, 1994; BARTON e GROSH 1996) e duração da corrente (CHIBA et al., 1990). Robb et al. (2000) mostraram que a estimulação elétrica da musculatura dos peixes acelerou o processo de rigor mortis. O abate por eletronarcolese pode produzir movimentos bruscos causando quebra das vértebras e ruptura dos vasos sanguíneos (KESTIN et al., 1995), o que pode resultar em manchas de sangue (VAN DE VIS et al., 2003). Por outro lado Robb et al. (2003) recomendam eletricidade como melhor método de abate para o salmão quando comparado com o dióxido de carbono que causou uma

resolução precoce do rigor.

Ao observar o comportamento dos peixes durante a aplicação dos métodos de abate, foi possível identificar o tempo exato em que os animais apresentaram-se atordoados ou insensibilizados. No tratamento com ChE, a insensibilização foi instantânea, Lambooij et al. (2006) relataram insensibilização instantânea para o abate do bagre africano com corrente de 226V. Nos tratamentos com CO₂N e AG o tempo de insensibilização foi de 38 e 14 minutos, respectivamente, valores próximos aos encontrados por Acerete (2009), durante a insensibilização do *sea bass* (*Dicentrarchus labrax*) com tempos de 16 mim para hipotermia e 34 mim para narcose com CO₂. Neste estudo, no tempo decorrido até a insensibilização aparente, as tilápias mostraram agitação, boquejamento e mudança na intensidade da coloração da linha lateral. No abate por hipotermia (AG), a água apresentou coloração avermelhada, sugerindo a ocorrência de sangramento branquial.

A utilização de métodos de abate de forma ética e que promovam o bem estar e a qualidade são questões importantes que devem ser aplicadas na aquicultura. Sabe-se que a resolução do *rigor mortis* está condicionada a degradação de ATP, estando o rigor pleno caracterizado pela diminuição dos valores desse metabolito. Neste estudo o início do *rigor mortis* apresentou diferença significativa para o tratamento com ChE, que ocorreu 3h e 30 minutos depois dos demais tratamentos. No entanto, o momento pós-rigor instalou-se de forma semelhante para os três métodos. Embora não tenha ocorrido diferença entre os tratamentos no pós rigor ($p < 0,05$), o abate por ChE nos tempos entre 120 e 300 minutos apresentou diferença em relação ao mesmo tempo para os demais tratamentos (**FIGURA 1**).

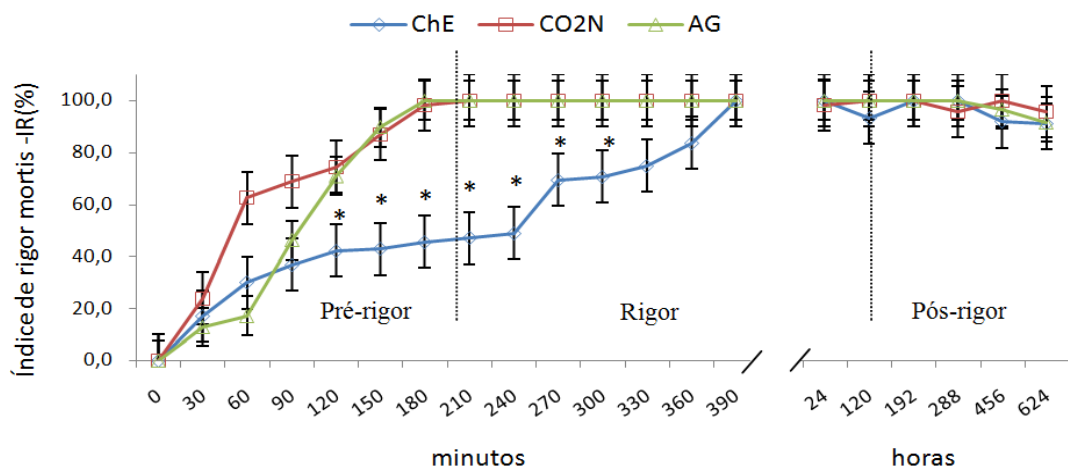


FIGURA 1. Dinâmica do índice de *rigor mortis* em tilápias abatidas por choque elétrico (ChE), mistura de gases (CO₂N) e hipotermia (AG), mantidas resfriadas. *Diferença significativa nos tempos entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Segundo Sebastio et al. (1996), a resolução do rigor se deve principalmente à ação endógena de enzimas proteolíticas e da ação microbiana, que resultam na deterioração das proteínas miofibrilares. Amlacher (1961), relatou que o *rigor mortis*

pré determina decisivamente a vida de prateleira do pescado fresco. O *rigor mortis* pode ser definido como uma contração muscular lenta, embora intensa e irreversível, que ocorre paralelamente à redução dos valores de ATP muscular a níveis inferiores a $1,0 \mu\text{mol/g}$ (GREASER, 1986) ou com a degradação de 95% deste metabólito. Este fenômeno se instala quando os níveis de ATP estão exauridos de modo que os filamentos musculares perdem a capacidade de deslizar tornando o músculo rígido (KNOWLES et al., 2008).

Neste estudo não foram observadas oscilações nas concentrações de ATP no mesmo tratamento. Não houve diferença entre os tratamentos, embora o abate por CO_2N tenha apresentado valores superiores quando comparados com os demais. Quando relacionados o índice de *rigor mortis* com os valores de degradação de ATP, pode-se observar uma tendência linear no abate por ChE (**FIGURA 2**), o que não ocorreu para os demais métodos. Este fato pode ser explicado pela rapidez com a qual o abate por ChE promove a morte, evitando assim um estresse excessivo. Nos abates por mistura gasosa e hipotermia o peixe entrou em rigor quando as reservas de ATP ainda estavam em $3,03$ e $2,22 \mu\text{mol/g}$, respectivamente.

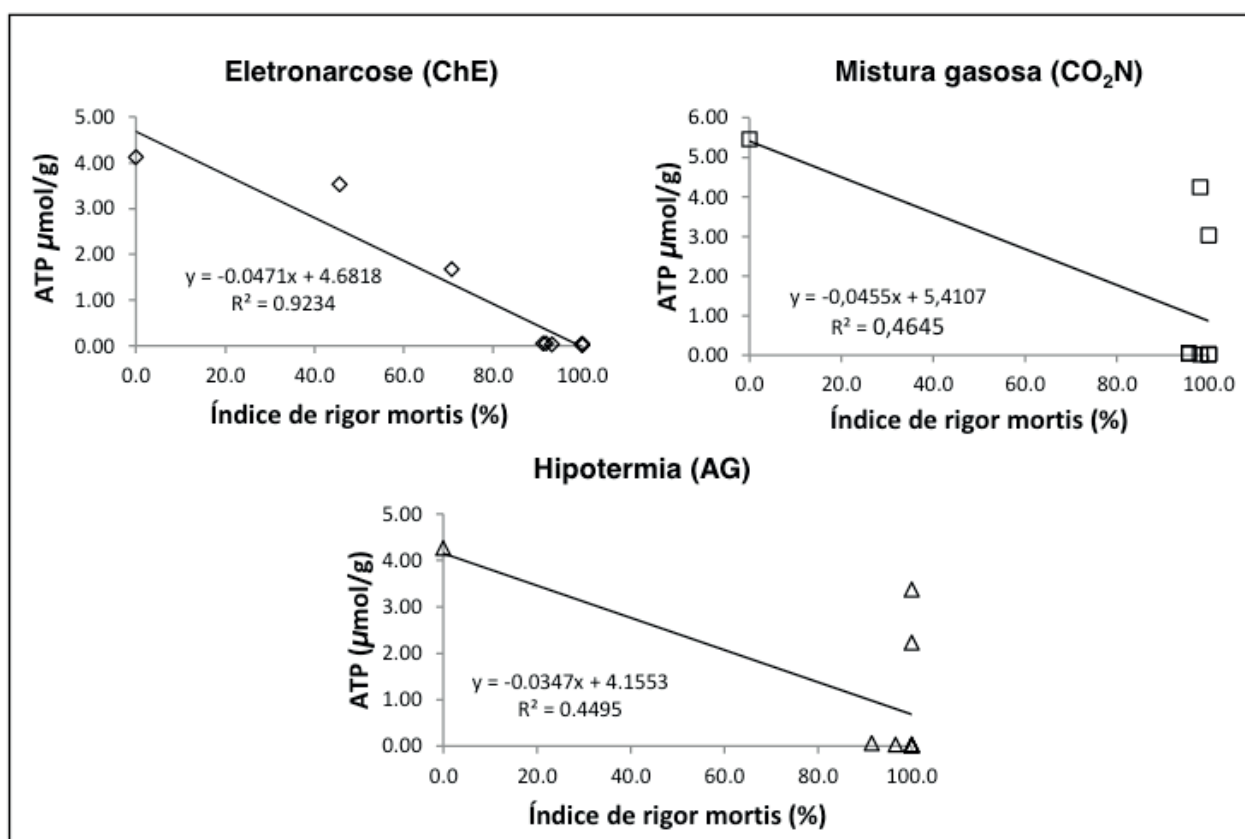


FIGURA 2. Relação ATP x índice de *rigor mortis* em tilápias submetidas ao abate por eletronarcese (ChE), mistura gasosa (CO_2N) e hipotermia (AG).

A ocorrência do *rigor mortis* está relacionada aos efeitos da temperatura de armazenamento. Um fato que pode ocorrer no peixe abatido por hipotermia e estocado em gelo, que ainda possuem reservas de ATP muscular é o fenômeno

“cold shock, termo usado para descrever um estado de rigidez muscular (PEREZ et al., 2001). Nambudiri & Gopakumar (1988), estudaram peixes tropicais e mostraram que há diferenças entre o “cold shock” e o *rigor mortis* principalmente no que se refere ao conteúdo de ATP presente no músculo no momento que o rigor é instalado e observaram que o estado de “cold shock” ocorreu quando 40% da concentração de ATP ainda estava presente no músculo (ALMEIDA et al., 2005).

O início do rigor ocorre quando o conteúdo de ATP do músculo diminui atingindo um nível crítico. Ao alcançar essa concentração, a actina e miosina das miofibrilas associam-se formando complexos de actomiosina, o qual promove a contração muscular irreversível, promovendo o *rigor mortis* (PATE & BROKAW 1980). Fraser et al. (1976) encontraram valor de ATP de 1,25mmol/g no início do *rigor mortis* do bacalhau. O conteúdo de ATP e dos seus catabolitos encontrados neste estudo, não apresentaram diferença entre os tratamentos. Algumas variações foram observadas nos níveis de AMP e no valor de K para o abate por mistura gasosa (FIGURA 3). Este fato pode estar ligado à dinâmica experimental, já que o modelo aplicado não permitiu que os mesmos exemplares fossem utilizados em todos os tempos de amostragem.

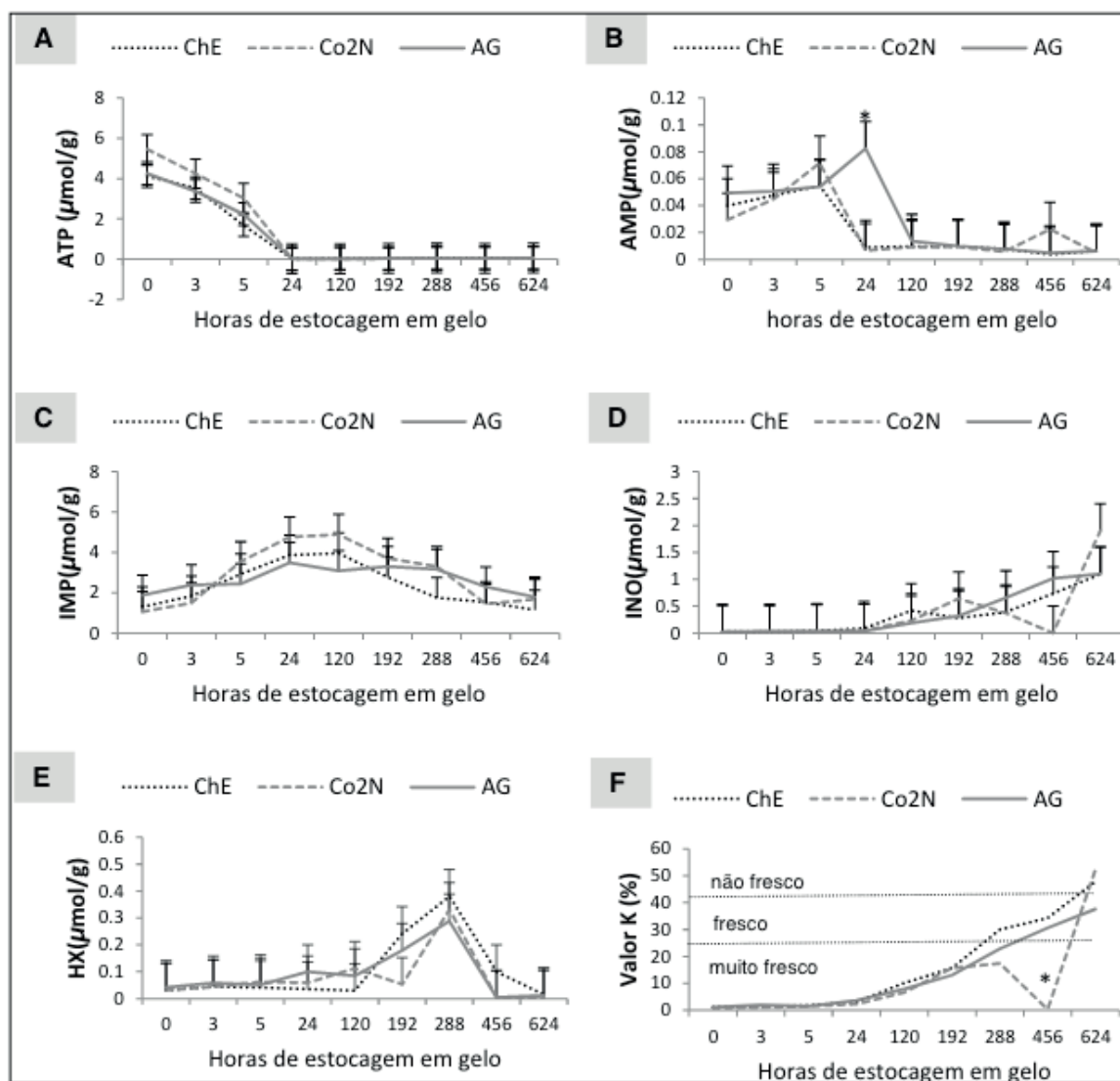


FIGURA 3. Degradação do ATP (A) e seus catabolitos (adenosina monofosfato -AMP(B),

inosina nonofosfato -IMP(C), inosina - INO(D), hipoxantina - HX (E) e K (F), no abate da tilápia por eletronarcose (ChE), mistura gasosa (CO₂N) e hipotermia (AG).

O valor de K logo após o abate não ultrapassa 10%, aumentando de forma gradual como consequência do desdobramento das enzimas. Neste estudo o percentual de K aumentou de 2,2% nas 24h para 52,2% nas 624 horas para o abate por CO₂N, sendo esta a maior variação entre os tratamentos. De acordo com os limites de K como indicador de frescor, apenas o abate por AG manteve-se dentro do limite considerado fresco até a 624^a hora. Perez et al. (2001) observaram que o valor K em híbridos de cachara, armazenados a 0°C, não ultrapassou 20% até o 14^o dia de estocagem em gelo. Ryder et al. (1984) estudaram o “jack mackerel” (*Trachurus novaezelandiae*), estocado em gelo e observaram que ocorreu uma variação do valor K de 2% a 60%. Batista et al. (2004) analisou o valor de K para matrinxã e observou que houve um aumento de 2% no primeiro dia para 19% após 16 dias de armazenagem refrigerada. Hatula et al. (1993) estudaram o “whitefish” (*Coregonus wartmanni*) que foi considerado aceitável, quando apresentou valor K acima de 80%. Perez et al. (2001) concluíram que o valor K pode ser usado como indicador de qualidade para o consumo do peixe na forma de “sashimi” (peixe cru) e como índice de frescor durante o tempo de vida útil.

4 | CONCLUSÕES

O método de abate não influencia na qualidade final da carne da tilápia refrigerada. É recomendável a utilização do abate por eletronarcose por ter demonstrado uma interferência positiva na velocidade de entrada em *rigor mortis* e na degradação do ATP.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo financiamento do projeto de pesquisa e pela concessão da bolsa de estudos ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

ABABOUC, L.H.; SOUIBRI, L.; RHALIBY, K.; OUAHDI, O.; BATTAL., M.; BUSTA, M.M. **Quality changes in sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature.** Food Microb., Sidcup, v. 13, p. 123-132, 1996

ACERETE, L., REIG, L., ALVAREZ, D., FLOS, R., TORT, L.,. **Comparison of two stunning/ slaughtering methods on stress response and quality indicators of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*).** Aquaculture, v. 287, p.139–144, 2009.

ALMEIDA, N.M. BATISTA, G.M.,KODAIRA, M., LESSI, A.L.V.E., **Determinação do índice de rigor-mortis e sua relação com a degradação dos nucleotídeos em tambaqui (*Colossoma***

- macropomum**), de piscicultura e conservados em gelo, *Ciencia Rural.*, Santa Maria, v.35, n.3, mai-jun, 2005.
- AMLACHER, E. **Rigor mortis in fish.** In: BORGSTROM, G. (Ed.) *Fish as Food.* New York: Academic Press, Cap 12, p.385-409, 1961.
- ASHLEY, P. J. **Fish welfare: current issues in aquaculture.** *Applied Animal Behaviour Science*, Amsterdam, 2007.
- BATISTA, G.M. LESSI, E., KODAIRA, M. AND FALCÃO, P.T. **Alterações bioquímicas post mortem de matrinxã *Brycon cephalus*(GUNTHER, 1869) procedente da piscicultura, mantido em gelo.** *Ciênc Tecnol Aliment*, v.24, p.573-581. 2004.
- BORGHETTI, J. R.; OSTRENSKY, A. Pesca e aquicultura de água doce no Brasil. In: REBOUÇAS, A. C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. **Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação.** São Paulo: Escrituras, 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº.3, de 07 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue.** S.D.A./M.A.A. Diário Oficial da União, Brasília, p.14-16, 24 de janeiro de 2000, Seção I. [online] [citado em 24 11 07] Disponível em: www.agricultura.gov.br/das/dipoa/Anexo%20Abate.htm.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA 2001 Pescados e derivados**, Capítulo VII. Brasília. Disponível em: www.agricultura.gov.br Acesso em: 13 maio. 2012.
- CARTONILHO, M. M.; JESUS, R. S. **Qualidade de cortes congelados de tambaqui cultivado.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira.*, Brasília, v.46, n.4, p.344-350, abr. 2011
- FRASER DI, DINGLE JR, HINES JA, NOWLAN SC, DYER J. **Nucleotide degradation, monitored by thin-layer chromatography, and associated post-mortem changes in relaxed cod muscle.** *J Fish Res Board Can*, v.24(8), p.1837-1841, 1967.
- GREASER, M.L., **Conversion of Muscle to Meat**, In: BECHTEL, P.J. *Muscle as Food* New York: Academic Press, p.37-102, 1986.
- HATTULA, T., & KIESVAARA, M. **Patterns of adenosine triphosphate catabolism as freshness indicators in fish species from the Baltic Sea.** *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.58, p.485–488, 1992.
- HUSS, H.H. **El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad.** In: FAO. *Manual de Capacitación Preparado por el Programa de Capacitación FAO/DANIDA en Tecnología Pesquera y Control de Calidad.* Roma: FAO, 1988. V. 29.
- HUSS, H.H., A. ROESPSTORFF, H. KARL E B. BLOEMSMA. **Handling and processing of herring infected with *Anisakis simplex*.** In *Proceedings from 3rd World Congress on Foodborne Infections and Intoxications.* Inst. Of Vet. Med. Robert v. Ostertag Inst. Berlin, p.388-394, 1992.
- HUSS, H.H. 2003. **Assessment and management of sea food safety and quality.** Food Agriculture Organization (FAO). Fisheries Technical Paper 444. Rome; FAO.
- KYRANA, V. R.; LOUGOVOIS, V. P. **Sensory, chemical and microbiological assessment of farm-raised European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in melting ice.** *International Journal of Food Science and Technology*, v.37, p.319-328, 2002.
- KNOWLES, T.G, BROWN, S.N., WARRISS, P.D., LINES, J., TINARWO, A., SENDON, M.; **Effect of**

- electrical stunning at slaughter on the quality of farmed turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture Research*, v. 39, p. 1731-1738, 2008.
- LAMBOOIJ, E., VAN DER VIS, J.W., KLOOSTERBOER, R.J., PIETERSE, C., **Welfare aspects of live chilling and freezing of farmed eel (*Anguilla Anguilla* L.): neurological and behavioural assessment.** *Aquaculture*, v. 210, p.159-169, 2002.
- LAMBOOIJ, E., KLOOSTERBOER, R.J, GERRITZEN M.A., VAN DE VIS, J.W., **Assessment of electrical stunning in fresh water of African Catfish (*Clarias gariepinus*) and chilling in ice water for loss of consciousness and sensibility.** *Aquaculture*, v. 254, p. 388–395, 2006.
- LOUGOVOIS, V. **Comparison of selected methods of assessing freshness quality and remaining storage life of iced gilthead sea bream (*Sparus aurata*).** *Food Research International.*, v.36, p.551–560, 2003.
- MELO FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo, Atheneu, 1996. 182 p.
- MITTON CJA, MCDONALD DG. Consequences of pulsed DC electrofishing and air exposure to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Can J Aquat Sci.**, v.51(8), p.1791-1798, 1994.
- NAMBUDIRI, D.D., GOPAKUMAR, K. Cold Shock reactions in tropical fishes. **J. Food Sci. Technol.**, v.25, n.2, p.89-91, 1988.
- OSMAN KILINCCEKER, ISMAIL S. DOGAN, ERDOGAN KUCUKONER. Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets **Food Science and Technology SWISS.** v.42, p.868–873, 2000.
- PARISI, G.; FRANCI, O.; POLI, B. M; Application of multivariate analysis to sensorial and instrumental parameters of freshness in refrigerated sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during shelf life. **Aquaculture**, v. 214, p. 153–167, 2002.
- PATE EF, Brokaw CJ. Cross-bridge behaviour in rigor muscle. **Biophys Struct Mech**, v.7(1) , p.51-63, 1980.
- PÉREZ, M. et al. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre los cambios *post-mortem* y frescura en híbridos de Cachama (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) cultivados. **Anales Venezolanos de Nutrición**, v.14, p. 53-59, 2001.
- POLI, B. M.; PARISI, G.; SCAPPINI, F.; ZAMPACAVALLLO, G. Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. **Aquaculture Internacional.**, 2005.
- ROBB, D.H.F., KESTIN, S.C., WARRISS, P.D., Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout. **Aquaculture**, v.182, 2000.
- ROBB, D.H.F., & ROTH B. Brain activity of Atlantic salmon (*Salmosalar*) following electrical stunning using various field strengths and pulse durations. **Aquaculture**, v. 216, 2003.
- ROTH, B.; MOELLER, D., VELAND, J. O., IMSLAND, A. SLINDE, E. The effect of stunning methods on rigor mortis and texture properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Journal of Food Science**, v.67, p.1462-1466. 2002.
- ROTH, B., GRIMSBØ, E., SLINDE, E., FOSS, A., STIEN, L.H. AND NORTVEDT, R. Crowding, pumping and stunning of Atlantic salmon, the subsequent effect on pH and rigor mortis. **Aquaculture**, 326-329: 178-180. 2012.

- RYDER, J.M. storage of New Zealand jack mackerel (*Trachurus novaezelandiae*) in ice: chemical, microbiological and sensory assessment. **Journal of Food Science**, v.49, p.1453-1477, 1984.
- SCHERER, R. Effect of slaughter method on postmortem changes of grass carp (*CtenopHaryngodon idella*) stored in ice. **Journal Food Science**, v. 70, p. C348-354, 2005.
- SEBASTIO, P., AMBROGGI, F., BALDRATI, G. Influence of slaughtering method on rainbow trout bred in captivity. 1. **Biochemical considerations. Ind. Conserve** v.71, p.37–49. 1996.
- SEBRAE - SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICROS E PEQUENAS EMPRESAS. **Aquicultura e pesca**: tilápias: relatório completo: estudos de mercado SEBRAE/ESPM. São Paulo. 160 p., 2008.
- SHENDERYUK, V. I., & BYKOWSKI, P. Salting and marinating of fish. In Z. E. Sikorski (Ed.), **Seafood: Resources, nutritional composition and preservation**. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc. 1989.
- SIGURGISLADOTTIR, S., INGVARSDOTTIR, H., TORRISSEN, O. J., CARDINAL.,M., & HAFSTEINSSON, H.. Effects of freezing/thawing on the micro-structure and the texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Food Research International**, v.33, p.857–865. 2000.
- SIGHOLT, T., ERIKSON, U., RUSTAD, T., JOHANSEN, T.S.. Handling stress and storage temperature affect meat quality of farm-raised Atlantic salmon. **Journal of Food Science**, v.11, p.16-24. 1997.
- SIKORSKI, Z. E., &KOLAKOWSKA, A. Changes in proteins in frozen stored fish. In Z. E. Sikorski, B. Sun Pan, & F. Shahidi (Eds.), **Seafood proteins** London, UK: Chapman & Hall, p. 99–112, 1994.
- STEVANATO, F. B. et al. Aproveitamento dos resíduos de pescado. **Aquicultura & Pesca**, São Paulo, v. 14, p. 15-17, 2005.
- TORNBERG, E.,WALGREN, M., BRØNDUM, J., ENGELSEN, S.B. Pre-rigor conditions in beef under varying temperature and pH falls studied with rigormeter NMR and NIR. **Food Chem**. v.69, p.407–418. 2000.
- URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J. E. P. *et. al.* Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo, TecArt, 2004.
- VAN DE VIS, H. KESTIN, S., ROBB, D., OEHLENSCHLAGER, J., LAMBOOIJ, B., MUNKNER, W., KUHLMANN, H., TEJADA,M., HUIDOBRO, A., OTTERA, H., ROTH, B. SORENSEN, N.K., AKSE, L., BYRNE, H. NESVADBA, P., Is humane slaughter of fish possible for industry? **Aquaculture Research**, v. 34, 2003.
- ZIMMERMANN, S.; FITZSIMMONS, K. Tilapicultura intensiva. In: José Eurico Possebon Cyrino, Elisabeth Criscuolo Urbinati, Débora Machado Fracalosi, Newton Castagnolli (Eds), **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**, São Paulo: TecArt, 2004.

EFEITOS CITOHEMATOLOGICOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM *AGARICUS BRASILIENSIS* NA CRIAÇÃO DE TILÁPIAS DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

Flávio Ferreira Silva

Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados, Instituto de Biologia e Saúde, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

Wiliam César Bento Regis

Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados, Instituto de Biologia e Saúde, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

Programa de Pós-Graduação em Infectologia e Medicina Tropical Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

RESUMO: A criação de Tilápia do Nilo é um dos tipos de piscicultura mais difundida em todo o mundo e está presente em todos os continentes, neste tipo de criação, sistemas intensivos caracterizados por serem ambientes de alto risco e produtividade são amplamente empregados, entretanto o estresse proveniente desses sistemas levam a redução da taxa de crescimento bem como supressão das funções imune e reprodutiva dos peixes. O Cogumelo *Agaricus brasiliensis* desperta grande interesse científico e econômico, devido a suas propriedades imunológicas e antioxidantes, podendo ser utilizado na piscicultura e

aquicultura. Dessa forma o objetivo desse trabalho foi avaliar através de ensaio clínico os efeitos da suplementação deste cogumelo em ambientes de criação. Com base em nossos achados, conclui-se que a suplementação com o cogumelo *Agaricus brasiliensis* é justificada na piscicultura pela potencial atividade imunomoduladora exercida e possivelmente pelo seu efeito antioxidante.

PALAVRAS-CHAVE: *Agaricus brasiliensis*; piscicultura; Tilápia; suplementação.

CYTOHEMATOLOGICAL EFFECTS OF SUPPLEMENTATION WITH *AGARICUS BRASILIENSIS* IN THE BREEDING OF NILE TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

ABSTRACT: The breeding of Nile tilapia is one of the most widespread types of fish farming worldwide and is present in all continents, in this type of creation, intensive systems characterized by being high-risk environments and productivity are widely Employees, however, the stress from these systems leads to a reduction in growth rate as well as suppression of fish immune and reproductive functions. The *Agaricus brasiliensis* mushroom awakens great scientific and economic interest due to its immunological and antioxidant properties and can be used in fish farming and aquaculture.

Thus, the objective of this study was to evaluate the effects of supplementation of this mushroom in breeding environments through a clinical trial. Based on our findings, it is concluded that supplementation with the mushroom *Agaricus brasiliensis* is justified in fish farming due to the potential immunomodulating activity exerted and possibly by its antioxidant effect.

KEYWORDS: *Agaricus brasiliensis*; fish farming; Tilapia; supplementation.

1 | INTRODUÇÃO

A criação de Tilápia do Nilo é um dos tipos de piscicultura mais difundida em todo o mundo e está presente em todos os continentes (FAO, 2019). Neste tipo de criação, os sistemas de cultivo podem ser classificados em extensivo, semi-intensivos e sistemas intensivos, como Raceway's, que são caracterizados por serem ambientes de alto risco e produtividade devido ao estresse causado pelas condições de criação (MANUAL TECNICO 21, 2012). Os fatores estressantes em peixes são comumente encontrados nestes sistemas de criação (HEIN, G.; BRIANESE, R. H., 2004), eles podem ser físicos, que são derivados de lesões e manipulações, ambientais que incluem temperatura, oxigênio dissolvido, compostos de nitrogênio, salinidade, pH e social, relacionado a dominância, apinhamento e agressividade (TORT, 2011). O estresse agudo acontece em curto prazo e com alta intensidade, já no estresse crônico a intensidade do estressor é baixa, mas persistente (TORT, 2011). O cortisol é o fator plasmático preponderante no mecanismo de estresse (OBA et al., 2009). Os principais efeitos bioquímicos desencadeados pelo estresse e liberação de cortisol em peixes são a alteração da regulação osmótica e iônica (Silva et al., 2012), redução da mobilização de leucócitos e linfócitos circulantes (Oba et al., 2009) e redução da taxa de crescimento bem como supressão das funções imune e reprodutiva (SHAW & TUME, 1992). Os leucócitos de teleósteos se diferenciam nos subgrupos de leucócitos granulares, caracterizados por neutrófilos, basófilos, leucócitos granulares PAS positivo e eosinófilos, e leucócitos não granulares (monócitos e linfócitos) (LIESCHKE; TREDE, 2009). Os monócitos são os principais produtores de citocinas, secretam radicais livres e ainda possuem a capacidade de fagocitação (VALLEJO, Et al., 1992; ELLIS, 1999). Mas os leucócitos mais comuns em teleósteos são os linfócitos e, assim como em humanos, são responsáveis pela resposta adaptativa se dividindo em células T e B, que se se diferenciam em linfócitos T auxiliares e plasmocitos, respectivamente (SWAIN Et al., 2006). Os neutrófilos por sua vez, são as primeiras células envolvidas em inflamação em teleósteos e também desempenham papel de fagocitose (LIESCHKE; TREDE, 2009; MANNING, 1994).

Sendo assim, por reduzir a imunocompetência ao influenciar o número de linfócitos e afetar a reprodução pela alteração dos níveis e padrões de hormônios reprodutivos que influenciam a maturação (BARTON et al., 1991), é claramente perceptível porque o estresse é um dos principais fatores determinantes na

piscicultura.

O Cogumelo *Agaricus brasiliensis* sempre foi relatado na literatura como potente antioxidante e imunomodulador, e atualmente desperta grande interesse científico e econômico, devido a suas propriedades bem documentadas (HETLAND, 2011), podendo ser utilizado na piscicultura e aquicultura para evitar problemas sanitários e uso excessivo de antibióticos (BERNARDSHAW; JOHNSON; HETLAND, 2005). Tratando-se de parâmetros citohematológicos diretos, não é novidade que a suplementação do cogumelo *A. brasiliensis* pode estimular respostas. Em 1998 já era elucidado seus potenciais benefícios estimulando a produção de linfócitos. (MIZUNO et al., 1998). A suplementação deste cogumelo em condições normais também pode gerar um aumento do número de eosinófilo e de macrófagos circulantes (FANHANI et al., 2016.). Ainda, tratando-se da imunomodulação promovida por este cogumelo, o efeito estimulatório em monócitos também é descrito como atividade de frações isoladas do *A. brasiliensis* (HETLAND et al., 2008). Um único estudo avaliou a suplementação deste cogumelo em tilápias, entretanto, em um curto período experimental, mas ainda assim Schalch et al. (2016) observou um aumento de leucócitos imaturos.

Tendo em vista a necessidade de se desenvolver tratamentos eficientes contra os danos imunológicos gerados pelo estresse em peixes, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos citohematológicos, de crescimento e de peso associados a suplementação com o cogumelo *Agaricus brasiliensis*, em juvenis de tilápias do Nilo em condições normais e frente situação de estresse.

2 | METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado na Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUC-Minas), sob registro de protocolo no. 029/2017 da Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA PUC Minas. Foram utilizados 40 juvenis de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alojados em dois tanques circulares de 300 L na densidade de 15 litros/peixe, em temperatura média de $27^{\circ}\pm 1.2$ em um período de foto-iluminação de 12 h:12 h luz / escuro e após o período de aclimatação, os tratamentos experimentais foram diferentes para cada tanque, consistindo em uma dieta controle composta por ração comercial e uma dieta experimental composta por ração comercial enriquecida com 1% com *Agaricus brasiliensis* durante 90 dias prévios ao estresse induzido por inanição conforme EL-khaldi (2009). O arraçoamento foi feito à vontade uma vez ao dia (16:30 h), de forma a não houvesse sobra excessiva nos tanques. Foi utilizada uma ração comercial que apresentava 32,0% de proteína digestível, tanto para enriquecimento com o cogumelo como para dieta controle. Para realizar o enriquecimento, a ração foi triturada e foi adicionado o cogumelo *Agaricus brasiliensis* no teor de 1% do peso seco, umidificada a 60%, extrusada e seca por exposição ao sol, durante 24 horas. Para avaliação dos parâmetros hematológicos,

foram retirados aleatoriamente quatro peixes por tratamento e anestesiados com Eugenol na concentração de 1,0ml/L. Após a anestesia, foi coletado sangue por meio de punção do vaso caudal com auxílio de seringa de 1,0 mL, banhada com anticoagulante (EDTA 5,0%) e o sangue (0,5 ml) coletado foi estocado em tubos de heparina e levado imediatamente para análise no laboratório DMVET. Os peixes submetidos a coleta de sangue eram separados em outro tanque com as mesmas condições ambientais e após o efeito da anestesia eram realocados no tanque do experimento/controle.

As análises estatísticas foram realizadas no programa Biostat 5.0, através do teste *t de student*.

3 | RESULTADOS

3.1 Análise biométrica entre grupos (90 dias)

As tabelas abaixo (tabela 1 e tabela 2) apresentam a média e desvio padrão inicial e final para o tamanho dos grupos testados.

Tamanho Inicial entre grupos		
Grupo	Média (cm)	Desvio Padrão (±)
Controle	23.25	1.36
Experimento	22.8	2.6

Experimento inicia 0,45 menor que o controle

Tabela 1: Comparação inicial do tamanho dos peixes (pré-tratamento)

Tamanho Final entre grupos		
Grupo	Média (cm)	Desvio Padrão (±)
Controle	26.6	1.36
Experimento	26	2.6

Experimento termina 0,6 menor que o controle

Tabela 2: Comparação final do tamanho dos peixes (pós-tratamento)

Embora não significativa estatisticamente, o cogumelo *A. brasiliensis* apresentou uma tendência a retardar o ganho de peso e a taxa de crescimento dos peixes. (Tabela 3) (Tabela 4).

Peso inicial entre grupos

Grupo	Média	Desvio Padrão (\pm)
Controle	253	61
Experimento	220.16	69.3

Experimento inicia com -33,14 g em comparação com o controle

Tabela 3: Comparação inicial do peso dos peixes (pré-tratamento)

Peso final entre grupos

Grupo	Média	Desvio Padrão (\pm)
Controle	333,2	44.17
Experimento	250,2	101.1

Experimento termina com -83g em comparação com o controle

Tabela 4: Comparação final do peso dos peixes (pós-tratamento)

3.2 Efeito citohematológico da suplementação (90 dias)

Inicialmente, através de uma coleta basal foi averiguado se ambos os tratamentos partiram de condições imunológicas iguais (Tabelas 5,6,7 e 8) e como esperado, não foi observada diferença significativa entre as análises realizadas, indicando que os grupos iniciaram os experimentos em condições estatisticamente similares.

Linfócitos iniciais entre grupos (%)

Grupo	Média	Desvio Padrão (\pm)
Controle	76.87	11.15
Experimento	82.75	7

$P > 0.05$ ($P = 0.40$)

Tabela 5: Análise inicial dos níveis de linfócitos entre grupos controle e experimento

Neutrófilos iniciais entre grupos (%)

Grupo	Média	Desvio Padrão (\pm)
-------	-------	-------------------------

Controle	19.62	9.28
Experimento	13.37	6.89
P>0.05 (P= 0.32)		

Tabela 6: Análise inicial dos níveis de neutrófilos entre grupos controle e experimento

Monócitos iniciais entre grupos (%)		
Grupo	Média	Desvio Padrão (±)
Controle	1.87	1
Experimento	3.25	1.9
P>0.05 (P= 0.25)		

Tabela 7: Análise inicial dos níveis de monócitos entre grupos controle e experimento

Eosinófilos iniciais entre grupos (%)		
Grupo	Média	Desvio Padrão (±)
Controle	0.37	0.47
Experimento	0.62	1.25
P>0.05 (P= 0.77)		

Tabela 8: Análise inicial dos níveis de eosinófilos entre grupos controle e experimento

Partindo da informação que os grupos não apresentaram diferenças no número de leucócitos iniciais, foi analisado o período experimental entre grupos (tabela 9, 10,11 e 12) e observamos que o número de monócitos circulantes foi estatisticamente mais baixo no grupo suplementado ($P < 0,05$). Este resultado indica que a suplementação com o cogumelo *A. brasiliensis* foi capaz de modificar esta variável imunológica entre grupos. Com relação aos eosinófilos, não apresentaram números significativos para análise estatística.

Linfócitos pós 90 dias de teste controle vs experimento (%)		
Grupo	Média	Desvio Padrão (±)
Controle	77.5	15.84

Experimento	87.75	8.61
-------------	-------	------

P<0.05 (P= 0.29)

Tabela 9: Análise dos níveis de linfócitos pós tratamento entre grupos controle e experimento

Neutrófilos Pós 90 dias de teste controle vs experimento (%)

Grupo	Média	Desvio Padrão (±)
Controle	19	15.34
Experimento	11	7.79

P<0.05 (P= 0.23)

Tabela 10: Análise dos níveis de neutrófilos pós tratamento entre grupos controle e experimento

Monócitos Pós 90 dias de teste controle vs experimento (%)

Grupo	Média	Desvio Padrão (±)
Controle	3.5	1
Experimento	1.25	1.25

P<0.05 (P= 0.04)*

Tabela 11: Análise dos níveis de monócitos pós tratamento entre grupos controle e experimento

Eosinófilos Pós 90 dias de teste controle vs experimento (%)

Grupo	Média	Desvio Padrão (±)
Controle	0.375	0.48
Experimento	0.625	1.25

P<0.05 (P= 0.87)

Tabela 12: Análise dos níveis de eosinófilos pós tratamento entre grupos controle e experimento

Quando as variáveis imunológicas para o período pós-stress entre grupos foram avaliadas, não foram observadas diferenças significativas (Tabelas 13,14,15 e 16).

Linfócitos pós estresse entre grupos (%)

Grupo	Média	Desvio Padrão(±)
-------	-------	------------------

Controle	86.6	7.5
Experimento	85	7.9

P<0.05 (P= 0.70)

Tabela 13: Comparação de níveis de linfócitos entre grupos pós estresse

Neutrófilos pós estresse entre grupos (%)

Grupo	Média	Desvio Padrão (±)
Controle	7.5	3.87
Experimento	6.25	2.62

P<0.05 (P= 0.46)

Tabela 14: Comparação de níveis de neutrófilos entre grupos pós estresse

Monócitos pós estresse entre grupos (%)

Grupo	Média	Desvio Padrão (±)
Controle	2.75	2.06
Experimento	9	9

P<0.05 (P= 0.26)

Tabela 15: Comparação de níveis de monócitos entre grupos pós estresse

Eosinófilos pós estresse entre grupos (%)

Grupo	Média	Desvio Padrão (±)
Controle	0.25	0.5
Experimento	0	0

P<0.05 (P= 0.60)

Tabela 16: Comparação de níveis de eosinófilos entre grupos pós estresse

4 | DISCUSSÃO

Neste estudo, mesmo que de forma ligeira, que o cogumelo *A. brasiliensis* provou ser capaz de modular a resposta imunológica de tilápias do Nilo no que diz

respeito ao número de monócitos circulantes, e em peixes, de forma geral a defesa inata é composta principalmente por monócitos, macrófagos e granulócitos (linfócitos) (MAGNADÓTTIR, 2006) e assim como em mamíferos, os monócitos circulantes dão origem a macrófagos (CRUVINEL et al., 2010) (LOCKSLEY Et al., 1987). Durante uma inflamação ou um processo infeccioso, os níveis de monócitos podem ser incrementados, sendo uma das principais células envolvidas na inflamação aguda como parte da resposta imunitária inata (CRUVINEL et al., 2010), dessa forma, a redução de monócitos circulantes observada nos resultados apresentados, pode indicar que houve uma redução da inflamação aguda, que possivelmente é gerada pelo próprio manejo de captura (MARTINS et al., 2018), esta ideia é reforçada pela confirmação os monócitos são os principais produtores de citocinas e secretam radicais livres (VALLEJO, Et al., 1992; ELLIS, 1999).

Os TLRs desempenham um papel crucial tanto na imunidade inata como na adaptativa. Sua capacidade de detectar Padrões moleculares associados a patógenos está relacionada com a resposta inflamatória (VIDYA Et al. 2018) e apesar de existir mais de 17 tipos de TLRs identificados em peixes, é possível que a função do TLR4, um dos principais sítios de modulação de monócitos do cogumelo *A. brasiliensis* (MARTINS, 2017; LIU et al., 2017) tenha sido perdida em teleostes (TANEKHY, 2016), explicando assim, a resposta imunomoduladora baixa frente a suplementação.

Outro fato que deve ser levado em consideração e de que para imunostimulantes, como o β -glucanos, a via de administração é um fator determinante na resposta imunológica, principalmente tratando-se de tilápias, uma vez que a oferta de imunostimulantes via alimentação produz efeito atenuante nas células do sistema imunológico quando comparada a oferta via imersão e injeção intraperitoneal, no que diz respeito a contagem de monócitos, leucócitos e linfócitos. (SADO et al., 2016).

Os resultados do nosso estudo corroboram com resultados apresentados por Schalch Et al. (2016), dessa forma, trazendo o conceito que que baixas doses deste cogumelo não apresentaram forte atividade imunomoduladora em tilápias, resultados semelhantes a dose-dependência foram observados em estudos de suplementação com imunostimulante (SOLEIMANI et al, 2012).

Recentemente, foi evidenciado que o estresse por hipóxia pode gerar alterações no sistema imunológico de peixes (ABDEL-TAWWAB, 2019), entretanto até hoje não se tinha investigado o efeito da inanição sobre a contagem de leucócitos circulantes em peixes. Dessa forma, ainda com base nos resultados apresentados nesse artigo, sugerimos que é possível que a resposta à inanição não desencadeie mudanças imunológicas significativas em *O. niloticus*, ou ainda que, os peixes possam apresentar diferentes mecanismos de resposta imunitária não dependente de cortisol.

Os ictiologistas consideram mudanças na contagem diferencial de leucócitos como um dos indicadores mais sensíveis de estresse agudo em peixes, pois existe uma estreita ligação entre os perfis de leucócitos e os níveis de glicocorticóides.

Altas taxas de neutrófilos para os linfócitos em amostras de sangue indicam com segurança altos níveis de glicocorticoides, como respostas agudas ao estresse (DAVIS et al., 2008). Neste trabalho podemos observar uma relação mais alta de neutrófilo:linfócito para ambos os grupos pós período de estresse quando comparado ao período sem estresse, observamos que o tratamento com *A. brasiliensis* também foi capaz manter esse escore calculado pela razão neutrófilo:linfócito em 0.7 após o período de estresse, enquanto que no grupo controle o escore foi aproximadamente 0.9 o que pode indicar um menor estresse no grupo suplementado.

5 | CONCLUSÃO

Com base em nossos achados, podemos concluir que a suplementação com o cogumelo *Agaricus brasiliensis* é justificada na piscicultura pela potencial atividade imunomoduladora e possivelmente efeito antioxidante, entretanto, mais estudos serão necessários para averiguar possíveis efeitos negativos.

REFERÊNCIAS

ABDEL-TAWWAB, Mohsen Et al. **Fish response to hypoxia stress: growth, physiological, and immunological biomarkers.** Fish physiology and biochemistry, p. 1-17, 2019.

BARTON, Bruce A.; IWAMA, George K. **Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids.** Annual Review of fish diseases, v. 1, p. 3-26, 1991.

BERNARDSHAW, S.; JOHNSON, E.; HETLAND, G. **An extract of the mushroom *Agaricus blazei* Murill administered orally protects against systemic *Streptococcus pneumoniae* infection in mice.** Scandinavian Journal of Immunology, v. 62, n. 4, p. 393–398, 2005

CRUVINEL Wilson de Melo Et al. **Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória.** Revista Brasileira de Reumatologia, 2010.

DAVIS, A. K.; MANEY, D. L.; MAERZ, J. C. **The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists.** Functional Ecology, v. 22, n. 5, p. 760-772, 2008.

EL-KHALDI, Aziza TF. **Effect of different stress factors on some physiological parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).** Saudi journal of biological sciences, v. 17, n. 3, p. 241-246, 2010.

ELLIS, A. E. **Immunity to bacteria in fish.** Fish & shellfish immunology, v. 9, n. 4, p. 291-308, 1999.

FANHANI, Jamile Corina et al. **Effect of *Agaricus blazei* in the diet of broiler chickens on immunity, serum parameters and antioxidant activity.** Semina: Ciências Agrárias, v. 37, n. 4, p. 2235-2246, 2016

FAO - **Food and Agriculture Organization of the United Nations.** Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 02 de mai. de 2019.

HEIN, G.; BRIANESE, R. H. **Modelo Emater de produção de tilápia.** EMATER–Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural, 2004.

- HETLAND, G. et al. **Effects of the medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murill on immunity, infection and cancer.** Scandinavian journal of immunology, v. 68, n. 4, p. 363-370, 2008.
- HETLAND, Geir et al. **The mushroom *Agaricus blazei* Murill elicits medicinal effects on tumor, infection, allergy, and inflammation through its modulation of innate immunity and amelioration of Th1/Th2 imbalance and inflammation.** Advances in pharmacological sciences, v. 2011, 2011.
- LIESCHKE, Graham J .; TREDE, Nikolaus S. **Imunologia de peixes.** Current Biology , v. 19, n. 16, p. R678-R682, 2009.
- LIU, Wenjing Et al. **The effects of *Agaricus blazei* Murill polysaccharides on cadmium-induced apoptosis and the TLR4 signaling pathway of peripheral blood lymphocytes in chicken.** Biological trace element research, v. 180, n. 1, p. 153-163, 2017.
- LOCKSLEY, Richard M. Et al. **Loss of granule myeloperoxidase during in vitro culture of human monocytes correlates with decay in antiprotozoa activity.** The American journal of tropical medicine and hygiene, v. 36, n. 3, p. 541-548, 1987.
- MAGNADÓTTIR, Bergljót. **Innate immunity of fish (overview).** Fish & shellfish immunology, v. 20, n. 2, p. 137-151, 2006.
- MANNING, M.J., 1994. In: Turner, R.J. (Ed.), **Immunology: A comparative Approach.** Wiley, Chichester, p. 69.
- MANUAL TÉCNICO, 21 Pereira, Augusto da Costa **Produção de tilápias/Augusto da Costa Pereira, Rodrigo Fróes Silva.** -- Niterói: Programa Rio Rural, ISSN 1983-5671, 2012.
- MARTINS, Maurício et al. **Hematologia e resposta inflamatória aguda em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) submetida aos estímulos único e consecutivo de estresse de captura.** Boletim do Instituto de pesca, v. 30, n. 1, p. 71-80, 2018.
- MARTINS, Priscila Raquel Et al. ***Agaricus brasiliensis* polysaccharides stimulate human monocytes to capture *Candida albicans*, express toll-like receptors 2 and 4, and produce pro-inflammatory cytokines.** Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, v. 23, n. 1, p. 17, 2017.
- MIZUNO, Masashi et al. **Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice.** Bioscience, biotechnology, and biochemistry, v. 62, n. 3, p. 434-437, 1998.)
- OBA, E. **Fish leukocyte responses.** In: Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. Veterinary hematology, (Ed. Fifth). P.436-439. 2009
- SADO, R. Y.; GIMBO, Rodrigo Yukihiro; SALLES, F. B. **Routes of β -glucan administration affect hematological and immune responses of *Oreochromis niloticus*.** Archivos de zootecnia, v. 65, n. 252, p. 519-524, 2016.
- SCHALCH, Sergio Henrique Canello et al. **Hematological parameters of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with supplemented diet based on the mushroom *Agaricus blazei*.** Bioikos, v. 29, n. 1, p. 29-34, 2015.
- SHAW, F. D.; TUME, R. K. **The Assessment of Pre-slaughter and Slaughter Treatments of Livestock by Measurement of Plasma Constituents – A Review of Recent Work.** Meat Science, Barking, v. 32, p. 311-329, 1992.
- SILVA, R. D.; ROCHA L. O.; FONTES D. A.; VIERA D.; FIORAVANTI M. C. **Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar.** Pesqui. Vet. bras, v. 32, n. supl. 1, p. 99-107, 2012

SOLEIMANI, Narges et al. **Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry.** *Fish & shellfish immunology*, v. 32, n. 2, p. 316-321, 2012.

SWAIN, Priyabrat et al. (Ed.). **Fish and shellfish immunology: an introduction.** Narendra Publishing House, 2006.

TANEKHY, Mahmoud. **The role of Toll-like Receptors in innate immunity and infectious diseases of teleost.** *Aquaculture research*, v. 47, n. 5, p. 1369-1391, 2016.

TORT, Lluís. **Stress and immune modulation in fish.** *Developmental & Comparative Immunology*, v. 35, n. 12, p. 1366-1375, 2011.

VALLEJOS-VIDAL, Eva et al. **The response of fish to immunostimulant diets.** *Fish & shellfish immunology*, v. 56, p. 34-69, 2016.

VIDYA, Mallenahally Kusha et al. **Toll-like receptors: significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals.** *International reviews of immunology*, v. 37, n. 1, p. 20-36, 2018.

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO PROFILÁTICA COM *AGARICUS BRASILIENSIS* EM DE TILÁPIAS DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) DESAFIADAS POR *AEROMONAS HYDROPHILA*

Flávio Ferreira Silva

Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados, Instituto de Biologia e Saúde, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

Wiliam César Bento Regis

Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados, Instituto de Biologia e Saúde, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

Programa de Pós-Graduação em Infectologia e Medicina Tropical, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

RESUMO: A aquicultura diz respeito à criações de peixes, e um problema frequente em populações de animais aquáticos é a ocorrência de doenças. Perdas anuais associadas às bactérias somam mais de meio bilhão de reais atualmente. Entre as bactérias encontradas em peixes, a *Aeromonas hydrophila* é uma das mais importantes causadora de enfermidades. O uso de antibióticos contribui para a geração de bactérias resistentes, além de deixar resíduos em alimentos destinados a consumo humano e o tratamento profilático realizado por meio de vacina, tem baixa resposta. O cogumelo *Agaricus blazei* é amplamente estudado devido

as suas propriedades imunomoduladoras e antioxidantes e pode ser utilizado na piscicultura e aquicultura para evitar problemas sanitários e uso excessivo de antibióticos. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos protetores da suplementação do cogumelo *Agaricus brasiliensis* em Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a infecção por *Aeromonas hydrophila* após desafio de estresse através de um ensaio clínico. Conclui-se que embora o cogumelo *Agaricus brasiliensis* não cause prejuízo fisiológico em condições normais de tratamento, entretanto, mais estudos são necessários para avaliar os possíveis efeitos na biossegurança no uso para piscicultura.

PALAVRAS-CHAVE: *Agaricus brasiliensis*; piscicultura; infecção; *Aeromonas hydrophila*.

EFFECTS OF PROPHYLACTIC SUPPLEMENTATION WITH *AGARICUS BRASILIENSIS* IN NILE TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) CHALLENGED BY *AEROMONAS HYDROPHILA*

ABSTRACT: Aquaculture relates to fish breeding, and a frequent problem in aquatic animal populations is the occurrence of diseases. Annual losses associated with bacteria add up

to more than half a billion reais currently. Among the bacteria you find in fish, *Aeromonas hydrophila* is one of the most important causes of disease. The use of antibiotics contributes to the generation of resistant bacteria, besides leaving residues in food intended for human consumption and the prophylactic treatment performed by means of a vaccine, has low response. The mushroom *Agaricus brasiliensis* is widely studied due to its immunomodulatory and antioxidant properties and can be used in fish farming and aquaculture to avoid sanitary problems and excessive use of antibiotics. Thus, the objective of this study was to evaluate the protective effects of the supplementation of the mushroom *Agaricus brasiliensis* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) submitted to infection by *Aeromonas Hydrophila* after stress challenge through a clinical trial. It is concluded that the mushroom *Agaricus brasiliensis* does not cause physiological impairment in normal treatment conditions, however, more studies are needed to evaluate the possible effects on biosafety in the use of fish farming.

KEYWORDS: *Agaricus brasiliensis*; fish farming; infection; *Aeromonas hydrophila*.

1 | INTRODUÇÃO

A aquicultura diz respeito à criações de peixes, camarões, rãs, moluscos e algas e vem sendo o principal meio regulador da oferta de pescado no mercado mundial (CAVALLI et al., 2011). Um problema frequente em populações de animais aquáticos é a ocorrência de doenças, uma vez que a água funciona como um facilitador de transmissão de patógenos em uma população da mesma espécie (MELO et al., 2016). Entre as doenças observadas em pescados, às causadas por bactérias são a de maior potencial de risco, já que, bactérias com importância econômica para a piscicultura estão normalmente presentes na água e na microbiota de peixes (LEIRA et al., 2016). Fagundes et al. (2016) relatam que em cativeiros, perdas anuais associada á bactérias sejam de mais de meio bilhão de reais só por *streptococoses*. Os custos relacionados à mortalidade de peixes incluem custos com medicamentos, vacinas e perdas de produção (FAGUNDES et al., 2016). Entre as bactérias encontras em peixes, a *Aeromonas hydrophila* é uma das mais importantes causadora de enfermidades (SUN et al., 2016).

A capacidade da *A. hydrophila* causar doenças com manifestações clínicas está relacionada às condições de estresse do hospedeiro. Entre os fatores geradores de estresse estão a má qualidade da água e o manejo inadequado, que são frequentes empregados nas condições de criação intensiva, além, é claro, do alto volume de peixes por m³. (TORT, 2011; MANUAL TECNICO 21, 2012; LEIRA et al., 2016). Como resposta terciária a esse estresse, os peixes apresentam supressão imunológica, facilitando assim a contaminação por patógenos.

Nos casos de tratamento de infecções o uso de antibióticos contribui para a geração de bactérias resistentes, além de deixar resíduos em alimentos destinados a consumo humano (LEIRA et al., 2016; HOLMSTRÖM et al., 2003). Paralelamente,

o tratamento profilático tem sido realizado por meio de vacina, porém com baixa resposta (LEIRA et al., 2016; LIM; WEBSTER, 2006).

O cogumelo *Agaricus blazei* reclassificado como *Agaricus brasiliensis* por Wasser et al. (2002) é amplamente estudado devido as suas propriedades imunomoduladoras e antioxidantes (HETLAND, 2011) e pode ser utilizado na piscicultura e aquicultura para evitar problemas sanitários e uso excessivo de antibióticos (BERNARDSHAW; JOHNSON; HETLAND, 2005).

A atividade antimicrobiana exibida por este cogumelo não está relacionada somente a imunomodulação, a suplementação oral reduziu o número de colônias de bactérias no intestino de cobaias e foi capaz de criar halo de inibição em 12 linhagens diferentes de bactérias (JESUS PEREIRA; DE ASSIS ROSA; RÉGIS, 2012). Além disso, este cogumelo se mostra muito eficaz como tratamento profilático contra infecções dado que a suplementação cinco dias antes de um desafio de infecção por leishmaniose foi capaz de reduzir a carga parasitária mesmo quando cessado o tratamento (VALADARES et al., 2012). Ele também produziu proteção em infecções cerebrais em um experimento com malária cerebral (VAL et al., 2015).

Embora este cogumelo seja bastante estudado em várias espécies, pesquisas em peixes são negligenciadas, ainda que as características de criação intensiva sejam propícias para a atividade bioativas do cogumelo, principalmente relacionadas a seus efeitos profiláticos, de resposta imunológica e frente a estresse oxidativo. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos protetores da suplementação do cogumelo *Agaricus brasiliensis* em Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a infecção após desafio de estresse.

2 | METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado na Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUC-Minas), sob registro de protocolo no. 029/2017 da Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA PUC Minas. Para este experimento, 100 alevinos Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foram utilizadas e mantidas em quatro tanques circulares de 150 L na densidade de 25 alevinos por tanque, consistindo num tratamento em duplicata. A temperatura média foi de $27^{\circ}\pm 1.2$ e o período de fotoperíodo de 12 h:12 h luz / escuro. Após o período de aclimação, os tratamentos experimentais foram diferentes para cada tratamento, que consistiram em uma dieta controle composta por ração comercial e uma dieta experimental composta por ração comercial enriquecida com 1% com *Agaricus brasiliensis* durante 30 dias prévios ao estresse induzido por inanição conforme EL-khaldi (2009). Foi utilizada uma ração comercial que apresentava 32,0% de proteína digestível, tanto para enriquecimento com o cogumelo como para dieta controle. Para realizar o enriquecimento, a ração foi triturada e foi adicionado o cogumelo *Agaricus brasiliensis* no teor de 1% do

peso seco, umidificada a 60%, extrusada e seca por exposição ao sol durante 24 horas. Logo após o período de estresse os peixes foram desafiados por *Aeromonas hydrophila* (ATCC7966) via injeção intraperitoneal em baixas doses (1×10^{-4} UFC) ou solução salina a 0,9%. O surgimento de sinais clínicos foram observado durante 10 dias. Após este período, os peixes foram desafiados novamente com uma dose de $7,1 \times 10^{-2}$ UFC da mesma bactéria via injeção intraperitoneal e então foram observados pelos próximos 10 dias ou até morrerem.

A análise biométrica ocorreu no dia 0 e no dia 30 do experimento, caracterizando os efeitos da suplementação no peso e no tamanho dos peixes.

As análises estatísticas foram realizadas no programa Biostat 5.0, foram utilizados os testes *t de student*.

3 | RESULTADOS

Abaixo (tabelas 1 e 2), comparamos o peso dos peixes ao início e ao final do experimento entre grupos e não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) mostrando que o cogumelo não apresentou efeito negativo quanto ao crescimento, o mesmo resultado pode ser observado com relação ao peso (tabelas 3 e 4).

Peso inicial entre grupos (30 dias)		
Grupo	Média	Desvio Padrão(±)
Controle	3	1.23
Experimento	3.14	1.21

Tabela 1: Comparação inicial do peso dos peixes (pré-tratamento)

Peso final entre grupos (30 dias)		
Grupo	Média	Desvio Padrão (±)
Controle	15.6	5.9
Experimento	16.6	4.7

Tabela 2: Comparação final do peso dos peixes (pós-tratamento)

Tamanho Inicial entre grupos (30 dias)		
Grupo	Média	Desvio Padrão (±)
Controle	5.5	0.75

Experimento	5.64	0.58
-------------	------	------

Tabela 3: Comparação inicial do tamanho dos peixes (pré-tratamento)

Tamanho Final entre grupos (30 dias)		
Grupo	Média	Desvio Padrão(±)
Controle	9.4	1.26
Experimento	9.3	1.21

Tabela 4: Comparação final do tamanho dos peixes (pós-tratamento)

DIAS	Mortalidade (%)		SINAIS
	Controle	Experimento	
1 a 10	0	0	Não observados
DIAS	Segundo desafio		SINAIS
	Controle	Experimento	
1 a 10	0	100%	Não observados

Tabela 5: Mortalidade observada no desafio de infecção

No desafio de sobrevivência frente a infecção podemos observar uma maior mortalidade relacionada a suplementação com o cogumelo *Agaricus brasiliensis*.

4 | DISCUSSÃO

Este cogumelo apresenta em sua composição entre 33,14 a 54,22% de carboidratos (SHIBATA; DEMIATE. 2003) o que representa um acréscimo considerável (0,3g a 0,54g/kg) de carboidratos na suplementação uma vez que a dieta controle é isenta de carboidratos. A baixa capacidade dos peixes, em utilizar os carboidratos da dieta é relatada por uma inadequada regulação na utilização (glicólise) e produção (gliconeogênese) de glicose hepática (ENES et al., 2009), o que também pode levar a uma maior mortalidade ou levar a prejuízos no crescimento e ganho de peso dos peixes (FAVERO, 2010). Em peixes alimentados com uma dieta rica em carboidratos comparada com uma dieta rica em proteínas pode-se observar menor taxa de ganho de peso e taxa de crescimento específico (ZHOU et al., 2017). Entretanto, o cogumelo não apresentou efeitos negativos sobre os aspectos fisiológicos de crescimento e peso de tilápias. Todavia, os efeitos sobre o crescimento e peso podem ser dependentes da quantidade de β -glucana incorporada na dieta, duração da alimentação, temperatura ambiente e das espécies em estudo (SKJERMO et al. 2006; CONCEIÇÃO, et al. 2001).

Embora o conhecimento sobre a *Aeromonas hydrophila* seja limitado, sua

virulência já foi elucidada frente a populações aquáticas. Dos fatores de virulência já documentados para *A. hydrophila* destacam-se as hemolisinas, aerolisinas, proteases, adesinas, enterotoxinas, fosfolipase e lipase, enzimas que levam principalmente a septicemia hemorrágica em peixes estressados (PARKER; SHAW, 2010).

Observamos uma resposta sistêmica ao segundo desafio de bactérias, onde os peixes suplementados morreram logo em seguida a aplicação. Uma de nossas hipóteses é a hiperreação ocasionada pela suplementação, entretanto, sabe-se que os glucanos isoladamente ou em combinação com PAMPs (Padrões moleculares associados a patógenos) ou injeção bacteriana não causam apoptose em órgãos relacionados ao sistema imune (MIEST, Et al. 2018), outro caminho bioquímico plausível é interação entre os mecanismos bioquímicos da via de atividade do *Agaricus brasiliensis* com o eugenol.

Recentemente foi evidenciado que o eugenol pode atuar sinergicamente com a cisplatina aumentando seu potencial quimioterápico por principalmente inibir a via do fator de transcrição (NF- κ B) (ISLAM, Et al. 2018). O cogumelo por sua vez, atua na modulação da resposta imune de enterócitos, reduzindo a transativação de NF- κ B em células Caco-2 (AYEKA, 2018). Além de atuar como mediador de estresse, o NF- κ B está presente constitutivamente em neurônios participando de funções fisiológicas do SNC, como sinapse, desenvolvimento e plasticidade neural, por isso, uma resposta fisiológica exacerbada, frente a um agente estressor, tendo como resultado uma redução drástica do nível deste neurotransmissor, poderia resultar em morte.

5 | CONCLUSÃO

Embora o cogumelo *Agaricus brasiliensis* não cause prejuízo fisiológico em condições normais de tratamento mais estudos são necessários para avaliar os possíveis efeitos dose-dependente para a biossegurança no uso para piscicultura.

REFERÊNCIAS

- AYEKA, Peter Amwoga. **Potential of Mushroom Compounds as Immunomodulators in Cancer Immunotherapy: A Review.** Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 2018, 2018.
- BERNARDSHAW, S.; JOHNSON, E.; HETLAND, G. **An extract of the mushroom *Agaricus blazei* Murill administered orally protects against systemic *Streptococcus pneumoniae* infection in mice.** Scandinavian Journal of Immunology, v. 62, n. 4, p. 393–398, 2005
- CAVALLI, R. O.; DOMINGUES, E. D. C.; HAMILTON, S. **Desenvolvimento da produção de peixes em mar aberto no Brasil : possibilidades e desafios.** Revista Brasileira De Zootecnia, v. 40, p. 155–164, 2011.
- CONCEIÇÃO, L. E. C. et al. **Effect of an immunostimulating alginate on protein turnover of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae.** Fish Physiology and Biochemistry, v. 24, n. 3, p. 207-212, 2001.

- ENES, P.; PANSERAT, S.; KAUSHIK, S.; OLIVA-TELES, A. **Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish.** *Fish Physiology and Biochemistry*, Utrecht, v. 35, p. 519 – 539, 2009.
- FAGUNDES, L. C. et al. **Passive transfer of hyperimmune serum anti *Streptococcus agalactiae* and its prophylactic effect on Nile tilapia experimentally infected.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 68, n. 2, p. 379–386, 2016.
- FAVERO, Gisele Cristina. **Níveis de carboidratos em dietas extrusadas para tilápias-do-nilo revertidas ou não sexualmente.** Dissertação: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, 2010.
- HETLAND, Geir et al. **The mushroom *Agaricus blazei* Murill elicits medicinal effects on tumor, infection, allergy, and inflammation through its modulation of innate immunity and amelioration of Th1/Th2 imbalance and inflammation.** *Advances in pharmacological sciences*, v. 2011, 2011.
- HOLMSTRÖM, K. et al. **Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health.** *International journal of food science & technology*, v. 38, n. 3, p. 255–266, 2003.
- ISLAM, Syed S. et al. **Eugenol potentiates cisplatin anti-cancer activity through inhibition of ALDH-positive breast cancer stem cells and the NF- κ B signaling pathway.** *Molecular carcinogenesis*, v. 57, n. 3, p. 333-346, 2018.
- JESUS PEREIRA, N. C.; DE ASSIS ROSA, A.; RÉGIS, W. C. B. **Avaliação dos potenciais benefícios da ingestão do cogumelo *Agaricus blazei* para a microbiota endógena: análise de efeitos in vivo e in vitro sobre diferentes linhagens bacterianas.** *Percurso Acadêmico*, p. 10–18, 2012.
- LEIRA, M. H. et al. **PRINCIPAIS INFECÇÕES BACTERIANAS NA CRIAÇÃO DE PEIXES DE ÁGUA DOCE DO BRASIL—UMA REVISÃO.** *Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública*, v. 3, n. 1, p. 44–59, 2016.
- WEBSTER, Carl D.; LIM, Chhorn (Ed.). **Tilapia: biology, culture, and nutrition.** CRC Press, 2006.
- MANUAL TÉCNICO, 21 Pereira, Augusto da Costam **Produção de tilápias/Augusto da Costa Pereira, Rodrigo Fróes Silva.** -- Niterói: Programa Rio Rural, ISSN 1983-5671, 2012.
- MELO, C. C. V. et al. **Desenvolvimento dos tecidos muscular e adiposo em linhagens de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*.** *Caderno de Ciências Agrárias*, v. 8, n. 2, p. 72–82, 2016.
- MIEST, Joanna J. et al. **The influence of dietary β -glucan, PAMP exposure and *Aeromonas salmonicida* on apoptosis modulation in common carp (*Cyprinus carpio*).** *Fish & shellfish immunology*, v. 33, n. 4, p. 846-856, 2012.
- PARKER, Jennifer L.; SHAW, Jonathan G. ***Aeromonas* spp. clinical microbiology and disease.** *Journal of Infection*, v. 62, n. 2, p. 109-118, 2011.
- SHIBATA, Cristina Keiko Rebonato; DEMIATE, Ivo Mottin. **CULTIVO E ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO COGUMELO DO SOL (*Agaricus blazei* Murril)(Cultivation and chemical analysis of the sun mushroom (*Agaricus blazei* Murril)).** *Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 9, n. 2, 2003.
- SKJERMØ, Jorunn et al. **Evaluation of β -(1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 6)-glucans and High-M alginate used as immunostimulatory dietary supplement during first feeding and weaning of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.).** *Aquaculture*, v. 261, n. 3, p. 1088-1101, 2006.
- SUN, J. et al. **Inapparent *Streptococcus agalactiae* infection in adult/commercial tilapia.** *Scientific*

reports, v. 6, 2016.

TORT, Lluís. **Stress and immune modulation in fish.** *Developmental & Comparative Immunology*, v. 35, n. 12, p. 1366-1375, 2011.

VAL, C. H. et al. **Effect of mushroom *Agaricus blazei* on immune response and development of experimental cerebral malaria.** *Malaria journal*, v. 14, p. 311, ago. 2015.

VALADARES, D. G. et al. **Prophylactic or therapeutic administration of *Agaricus blazei* Murill is effective in treatment of murine visceral leishmaniasis.** *Experimental Parasitology*, v. 132, n. 2, p. 228–236, 2012

WASSER, S. P. et al. **Is a Widely Cultivated Culinary-Medicinal Royal Sun *Agaricus* (the Himematsutake Mushroom) Indeed *Agaricus blazei* Murrill?** *International Journal of Medicinal Mushrooms*, v. 4, p. 267-290, 2002.

ZHOU, Chuanpeng et al. **Comparative study on the effect of high dietary carbohydrate on the growth performance, body composition, serum physiological responses and hepatic antioxidant abilities in Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*) and black carp (*Mylopharyngodon piceus* Richardson, 1846).** *Aquaculture research*, v. 48, n. 3, p. 1020-1030, 2017.

EFEITOS DE DIFERENTES MÉTODOS DE COCÇÃO NAS CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS E FÍSICO-QUÍMICAS DE CENOURAS (*Daucus carota* L.) PRONTAS PARA CONSUMO

Fabiana Bortolini Foralosso

Instituto Federal Catarinense, Departamento de Engenharia de Alimentos
Concordia - SC

Cauana Munique Haas

Instituto Federal Catarinense, Departamento de Engenharia de Alimentos
Concordia - SC

Maria Eduarda Peretti

Instituto Federal Catarinense, Departamento de Engenharia de Alimentos
Concordia - SC

Alvaro Vargas Júnior

Instituto Federal Catarinense, Departamento de Engenharia de Alimentos
Concordia - SC

Sheila Mello da Silveira

Instituto Federal Catarinense, Departamento de Engenharia de Alimentos
Concordia - SC

Nei Fronza

Instituto Federal Catarinense, Departamento de Engenharia de Alimentos
Concordia - SC

RESUMO: A demanda por alimentos prontos para consumo está aumentando devido a mudanças no estilo de vida da população que mostram praticidade e conveniência. Manter as propriedades dos alimentos vegetais é um

desafio, já que após a colheita ocorrem reações biológicas, químicas e físicas e influenciam sua qualidade. Além disso, a maioria dos vegetais é comumente cozida antes do consumo. Sabe-se que a cocção induz alterações significativas na composição química, influenciando na concentração e biodisponibilidade de compostos bioativos em hortaliças, podendo gerar impactos positivos ou negativos, considerando a mudança de nutrientes. As condições de processamento podem causar perdas de qualidade, que dependem do método usado para conservação e do tipo de vegetal. Embora estudos correlacionem o processamento industrial e seus efeitos na composição de alimentos, o conhecimento desse assunto ainda é disperso e insuficiente. Assim, diferentes tratamentos térmicos para a conservação de cenouras prontas foram estudados, e os impactos na qualidade destes produtos termicamente processados foram avaliados. Diferentes processos térmicos foram testados: branqueamento a vapor (BV), branqueamento por imersão (BI), sistema sous vide (SV), pasteurização (PA) e esterilização (ES) com variações de tempo e temperatura. As perdas nutricionais foram avaliadas por análise de vitamina C, carotenóides, composição centesimal e parâmetros físico-químicos. Com base nos resultados obtidos, o tratamento que apresentou os resultados mais significativos na

manutenção das propriedades nutricionais e físico-químicas foi o sistema *sous vide*.

PALAVRAS-CHAVE: Cenoura pronta para consumo. Métodos de cozimento. Qualidade físico-química e nutricional.

EFFECTS OF DIFFERENT COOKING METHODS ON THE NUTRITIONAL AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF READY-TO-EAT CARROTS (*Daucus carota* L.)

ABSTRACT: Demand for ready-to-eat foods is increasing due to changes in the lifestyle of the population that show practicality and convenience. Maintaining the properties of plant foods is a challenge, since after harvesting biological, chemical and physical reactions occur and influence their quality. Additionally, most vegetables are commonly cooked before consumption. It is known that cooking induces significant changes in chemical composition, influencing the concentration and bioavailability of bioactive compounds in vegetables, and can generate positive or negative impacts, considering the change in nutrients. Processing conditions can cause quality losses, which depend on the method used for conservation and the type of vegetable. Although studies correlate industrial processing and its effects on food composition, knowledge of this subject is still scattered and insufficient. Thus, different heat treatments for the conservation of ready-to-eat carrots were studied, and the impacts on the quality of these thermally processed products were evaluated. Different thermal processes were tested: steam bleaching (BV), immersion bleaching (BI), *sous vide* system (SV), pasteurization (PA) and sterilization (ES) with time and temperature variations. Nutritional losses were evaluated by analysis of vitamin C, carotenoids, centesimal composition and physicochemical parameters. Based on the results obtained, the treatment that presented the most significant results in maintaining the nutritional and physicochemical properties was the *sous vide* system.

KEYWORDS: Carrot ready for consumption. Cooking methods. Physicochemical and nutritional quality.

1 | INTRODUÇÃO

As novas tendências no consumo de alimentos, ocorridas devido às mudanças nos hábitos e estilo de vida da população contemporânea, indicam cada vez mais a necessidade de oferta de alimentos processados que proporcionem praticidade, conveniência e saudabilidade.

A conveniência no consumo de alimentos é um dos principais determinantes da sociedade moderna, onde produtos prontos desempenham um papel fundamental (RIVERA; AZAPAGIC, 2019). Para Osman et al. (2014), produtos convenientes substituem as escolhas pela praticidade no preparo dos alimentos, pelo fator tempo e pelo valor nutricional de alimentos.

Assim, as indústrias, em busca de expansão da produtividade, vêm investindo consideravelmente em tecnologias de processamento, buscando atender as exigências do mercado (LAGE, 2012).

Porém, alimentos processados termicamente sofrem modificações indesejáveis, como por exemplo, podem ser citadas as alterações de cor, sabor, textura, e propriedades nutricionais, especialmente tratando-se de alimentos de origem vegetal. Se o tratamento térmico não for conduzido de maneira adequada, podem-se produzir alimentos com qualidades inferiores às aquelas esperadas pelo consumidor (BARBOSA et al., 2008).

A conservação pelo uso do calor combina a diminuição da carga microbiana, a inativação de enzimas, a eliminação de água e a manutenção da qualidade sensorial do produto. Entre os diversos métodos, é evidenciado o branqueamento por imersão, branqueamento à vapor, pasteurização, esterilização (OETTERER et al., 2006).

Entretanto, existem técnicas de cocção relativamente recentes, que empregam baixas temperaturas, tais como o sistema *sous vide*, que consiste no cozimento dos alimentos em seu próprio vapor dentro da embalagem plástica selada a vácuo em tanques com água aquecida a baixa temperatura (entre 60-100 °C) (CREA, 2000). Nesse processo, o sabor original dos alimentos e de seus nutrientes são preservados, o que resulta na eliminação dos efeitos de cor, sabor, textura, perdas por evaporação de água além de aromas voláteis durante o tratamento térmico. O sistema oferece segurança, pois elimina os riscos de contaminação dos alimentos por bactérias, uma vez que os alimentos sofrem cocção na embalagem final (BALDWIN, 2012).

Considerando a necessidade de estudo dos diferentes processos para o preparo dos alimentos e a necessidade de preservar a qualidade nutricional dos mesmos, este trabalho tem por finalidade comparar processos tradicionais e métodos inovadores, para a conservação de vegetais, capaz de avaliar tais tecnologias na preservação da qualidade destes alimentos processados.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Aplicação do tratamento térmico: branqueamento por imersão, branqueamento à vapor, pasteurização, esterilização e sistema *sous vide*

Foram testadas diferentes combinações de tempo e temperatura aplicadas à cenoura (*Daucus carota L.*), em cinco tratamentos: controle (CO - amostras acondicionadas em embalagem Nylon-poli), branqueamento por imersão (BI - amostras dispostas em cestas metálicas imersas em banho-maria com temperatura de ebulição, durante 10 minutos), branqueamento a vapor (BV- cenouras acondicionadas em cestas metálicas e acondicionada em tanque com cozimento à vapor, durante 10 minutos), *sous vide* (SV - cenouras dispostas em embalagens

Nylon-poli seladas a vácuo, submetidas a cocção na temperatura de 90°C em banho-maria, durante 10 minutos), pasteurização (PA- cenouras em embalagens Nylon-poli não selada a vácuo, à 90°C durante 10 minutos em banho-maria) e esterilização (ES - em embalagem Nylon-poli não selada a vácuo, e submetida a cocção em autoclave à 121°C, sob alta pressão, por 10 minutos). Todos os tratamentos foram conduzidos em triplicata, totalizando 18 unidades amostrais de 100g de cenoura cada.

2.2 Caracterização da composição centesimal, dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e nutricionais dos tratamentos térmicos

Composição centesimal: a determinação dos componentes de umidade, cinzas, proteínas totais, lipídeos e carboidratos totais (CHO) seguiram as metodologias do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), em triplicata.

Determinação dos parâmetros físico-químicos: a determinação de cor foi realizada por meio da medida instrumental com colorímetro (Minolta® Color Reader, modelo CR400), com fonte de luz padronizada, previamente calibrado na cor branca. Os parâmetros aferidos são a^* , b^* e L, onde a^* indica as cores do vermelho ($+a^*$) ao verde ($-a^*$); b^* , do amarelo ($+b^*$) ao azul ($-b^*$) e L do branco (L=100) ao preto (L=0).

A atividade de água (A_w) foi determinada utilizando o equipamento Tecnal, Labmaster. A determinação dos sólidos solúveis totais (SST) foi realizada utilizando-se refratômetro de ABBE. A análise de carotenoides foi realizada conforme a metodologia descrita por Nagata & Yamashita (1992), com medida de absorbância em diferentes comprimentos de onda: 663nm, 645nm, 505nm e 453nm. Já o índice de acidez total titulável (ATT) em ácido cítrico, a análise de pH e a determinação do ácido ascórbico (vitamina C) foram determinadas segundo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

Para a análise de firmeza, utilizou-se o texturômetro (TA XP Plus, Texture Analyser Stable Micro Systems – Inglaterra) para analisar a força da penetração a 2mm, a uma distância de 30mm. As leituras foram realizadas em unidade de força, Newton (N), nos pedaços de tamanho padronizado.

Análise estatística: Foi realizada utilizando-se a análise de variância, no software *Microsoft Excel* ferramenta *Action* versão 2.9.29.368.534. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão. O tratamento estatístico dos resultados foi realizado utilizando a análise de variância (ANOVA), a 5% de probabilidade pelo teste F e quando significativos o teste de Tukey foi utilizado para estimar as diferenças mínimas significativas entre as médias de cada teste ao nível de 5% de significância.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 2 expressa as médias e desvios padrões das análises de pH, sólidos solúveis totais (SST), atividade de água (A_a) e acidez titulável total (ATT), para todos

os tratamentos aplicados a cenoura.

Tratamentos	pH	SST	Aa	ATT
Controle (C)	6,84±0,05 a	9,03±0,1b	0,96±0,002a	0,66±0,06d
Sous vide (SV)	6,02±0,02 c	10,23±0,1a	0,952±0,0b	1,12±0,0bc
Vapor (BV)	5,92±0,02 d	7,94±0,1c	0,943±0,003d	1,86±0,26a
Imersão (BI)	5,94±0,01d	4,99±0,2d	0,95±0,003bc	1,05±0,06c
Pasteurização (P)	6,17±0,01b	7,97±0,2c	0,941±0,001d	1,45±0,12b
Esterilização (E)	5,49±0,02 e	8,03±0,1c	0,943±0,001cd	2,07±0,06a

Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos obtidos entre os diferentes tratamentos: pH, SST, Aa e ATT. Média e desvio padrão em três repetições.

Notas: Sobrescritos iguais na mesma linha indicam tratamentos estatisticamente iguais ($p>0,05$). Análises realizadas em triplicata.

Para os valores de pH obtidos, pode-se perceber que quando o vegetal é submetido ao cozimento independente do tratamento, ocorre uma redução significativa de pH ($p<0,05$). Visualiza-se na Figura 1 que o tratamento que obteve o menor valor de pH entre os demais foi a E, e o maior valor equivale a P. Essa distinção deve-se aos diferentes tratamentos empregados, bem como, os valores mantiveram-se maiores nos tratamentos considerados mais brandos e menores nos tratamentos considerados mais intensos, com temperaturas mais elevadas.

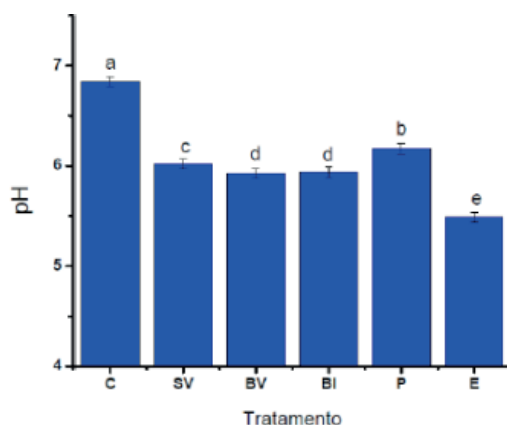


Figura 1 –Valores de pH obtidos frente os diferentes tratamentos térmicos aplicados. Média e desvio padrão em três repetições.

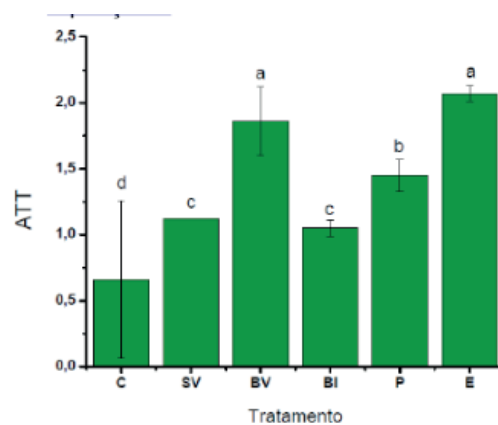


Figura 2 –Valores de ATT obtidos frente os diferentes tratamentos térmicos aplicados. Média e desvio padrão em três repetições.

Notas: Sobrescritos iguais na mesma linha indicam tratamentos estatisticamente iguais ($p>0,05$). Análises realizadas em triplicata.

Referindo-se aos dados da acidez titulável total, o tratamento com maior temperatura empregada na cocção do vegetal, teve maior desnaturação proteica, aumentando a acidez e diminuindo o pH de maneira mais significativa que os demais tratamentos. Segundo RIBEIRO, PRUDENCIO-FERREIRA & MIYAGUI, (2005),

o aumento da acidez em vegetais é devido à desnaturação proteica, por possuir propriedades ácidas decorrentes da diminuição do pH, e essa desnaturação pode ser gerada pela alta temperatura.

Os SST são uma propriedade hidrossolúvel medida em °Brix (SPADA, 2009). Isso explica os valores mais baixos para o tratamento por imersão quando contrastados com a amostra controle, Nota-se que os tratamentos: E, SV e P, os quais utilizam embalagem plástica Nylon-poli, obtiveram valores mais elevados em comparação com o BV e o BI, gerando assim, maiores perdas de processo. Todavia o SV foi o que obteve maior valor entre os tratamentos e a amostra controle, compreendendo-se assim, que em relação aos SST a barreira de embalagem Nylon-poli a vácuo é eficiente e superior, pois enalteceu as características da amostra in natura, preservando a propriedade hidrossolúvel presente no vegetal. Comprova-se assim, o que Church e Parsons, (2000) estudaram, quando relataram que a técnica *sous vide* inibe sabores estranhos gerados pela oxidação, além da perda evaporativa de sabores voláteis e de propriedades hidrossolúveis por lixiviação.

Na análise da atividade de água não houve uma variação entre os tratamentos de maneira expressiva. Os tratamentos SV e o BI apresentaram valores mais altos que os demais tratamentos, exceto o controle, sendo estatisticamente iguais ($p>0,05$). Compreende-se assim que o SV preservou essa característica devido ao uso da embalagem Nylon-poli selada a vácuo durante a cocção do vegetal, já o BI, segundo Moura, (2004), pelo fato das cenouras possuírem em sua composição teores de água livre inferiores ao meio em que foram submetidas à cocção, essa água livre do meio de maior concentração, passa para o de menor até o equilíbrio ser atingido. Os resultados entre os tratamentos para a composição centesimal apresentam-se na Tabela 3:

Tratamentos	Umidade (%)	Cinzas(%)	Proteínas (%)	Lipídios (%)	CHO (%)
Controle (C)	90,49±0,06 bc	0,40±0,04 b	0,46±0,13 a	0,31±0,09 a	8,33±0,17 ab
Sous vide (SV)	90,56±0,49 bc	0,68±0,02 a	0,40±0,07 a	0,19±0,03 a	9,17±0,84 a
Vapor (BV)	90,29±0,04 c	0,61±0,16 ab	0,91±0,27 a	0,44±0,3 a	7,75±0,10 bc
Imersão (BI)	92,38±0,27 a	0,41±0,06 b	0,87±0,11 a	0,61±0,36 a	5,72±0,29 d
Pasteurização(P)	91±0,09 b	0,83±0,01 a	0,86±0,05 a	0,33±0,07 a	6,98±0,07 c
Esterilização(E)	90,94±0,21 bc	0,82±0,09 a	0,80±0,09 a	0,2±0,06 a	7,24±0,02 c

Tabela 3– Análises de umidade, cinzas, proteínas e lipídios entre os tratamentos térmicos utilizados. Média e desvio padrão em três repetições.

Notas: Sobrescritos iguais na mesma linha indicam tratamentos estatisticamente iguais ($p>0,05$). Análises realizadas em triplicata.

A análise de umidade e o teor de carboidratos foram os parâmetros mais variáveis entre os tratamentos. O teor de umidade foi semelhante ao recomendado

na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011), que especificou para a cenoura cozida em método tradicional, o valor de 91,7 (%) de umidade, valor este, semelhante ao encontrado no tratamento BI. Verificou-se também que, o teor de umidade do tratamento SV esteve igual estatisticamente à amostra controle, desse modo, ressalta-se que mediante uso da tecnologia SV, que utiliza a embalagem aliada ao vácuo, evita o contato direto com a água impedindo o ganho de umidade, principalmente devido ao tipo de embalagem empregada, pois a mesma tem baixa permeabilidade ao vapor d'água (OLIVEIRA, 2013).

No que se refere aos carboidratos, a amostra in natura obteve maior valor seguido dos tratamentos SV e BV, que preservaram melhor essa propriedade. As alterações nos demais tratamentos devem-se ao fato dos tratamentos térmicos danificarem a estrutura celular da cenoura, provocando assim, a hidrólise dos carboidratos presentes no vegetal, já que a quebra das ligações glicosídicas pode ser gerada por alterações de pH ácido, temperatura e tempo (FENNEMA; PARKIN; DAMODARAN, 2010).

Já no que se refere as cinzas, Moreira (2006) relata que as perdas de minerais nos alimentos acontecem quando há algum tipo de processamento que pode causar danos aos tecidos vegetais, estes podem ser: método de cocção, congelamento, secagem, entre outros. Todavia os tratamentos que utilizam de embalagem protetora, como o SV, P e E, obtiveram os valores mais altos encontrados, mantendo-se iguais estatisticamente ($p > 0,05$). Ressalta-se também que na TACO (2011), o valor de cinza para a cenoura cozida é de 0,6 % (p/p). Percebe-se assim que os tratamentos que ficaram mais próximos a essa quantia foram o BV e o SV.

Os teores de carotenoides e de vitamina C são encontrados nas Figuras 3 e 4. Verifica-se que os carotenoides, reduziram em todos os tratamentos quando comparados com a amostra controle, entretanto, mantiveram-se iguais estatisticamente ($p > 0,05$), fato que comprova que com a ação da temperatura proveniente da cocção degrada essa propriedade, independente da embalagem.

No que se refere aos resultados da vitamina C, os valores dos tratamentos ficaram inferiores a amostra controle, comprovando assim a sua sensibilidade com a exposição ao calor. Evidencia-se, principalmente com a esterilização, o tratamento que obteve o menor valor entre os demais, conseqüentemente o que teve maiores perdas de processo, ou seja, pela utilização de uma temperatura intensa (121°C), degradou-se mais tal propriedade durante a cocção. Já o BI obteve o segundo menor valor, fato que pode ser explicado devido à lixiviação ocorrida durante o processo térmico da cenoura em contato direto com o meio aquoso.

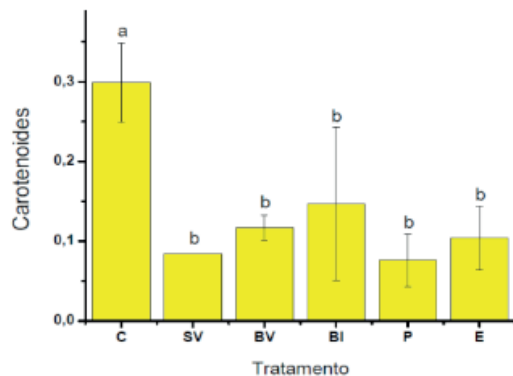


Figura 3—Teores de β -caroteno (mg/100mL) obtidos frente os diferentes tratamentos térmicos aplicados. Média e desvio padrão em três repetições.

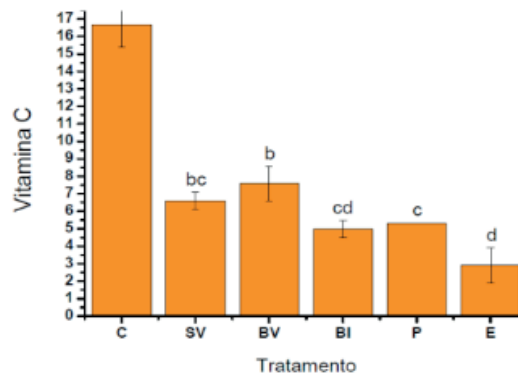


Figura 4 -Teores de vitamina C (mg/100g) obtidos frente os diferentes tratamentos térmicos aplicados. Média e desvio padrão em três repetições.

Notas: Sobrescritos iguais na mesma linha indicam tratamentos estatisticamente iguais ($p > 0,05$). Análises realizadas em triplicata.

Acresce que, devido à alta solubilidade do ácido ascórbico em soluções aquosas, podem ocorrer perdas significativas por lixiviação a partir do contato do vegetal depois de submetido a cortes e descascamento com o meio (FENNEMA; PARKIN; DAMODARAN, 2010). O tratamento BV foi o que obteve menor perda de vitamina C quando comparado com a amostra in natura, seguido do sistema SV. Dessa forma, ambos preservaram melhor tal propriedade, o que pode ser explicado devido às melhores condições de processo para a cenoura. Segundo Fennema; Parkin; Damodaran, (2010), a degradação anaeróbia do ácido ascórbico é insignificante pela existência de oxigênio residual nos alimentos, fato empregado no tratamento SV.

Na análise de cor (Tabela 5), pode-se perceber que para todos os tratamentos térmicos ocorreu um aumento dos parâmetros L^* e b^* , e uma redução do parâmetro a^* , quando comparados com a amostra controle. O aumento do parâmetro L^* pode ocorrer pelas injúrias provocadas pelo descascamento e corte em cenouras processadas, podendo ser causado devido às reações enzimáticas do fenômeno da lignificação, que tem potencialização possivelmente pela atividade da lipoxigenase, enzima que contém ferro em sua composição e pode atuar como catalisador (BOLIN et al.; 1991).

Tratamentos	L^*	a^*	b^*
Controle (C)	45,74±0,8 b	35,62±1,7 a	29,7±0,7 b
Sous vide (SV)	50,20±1,3 ab	23,88±2,9 b	31,31±1,2 b
Vapor (BV)	52,36±0,9 a	21,95±0,6 b	56,21±0,8 a
Imersão (BI)	52±1,1 a	20,26±1,6 b	58,47±1,9 a
Pasteurização (P)	53,36±3,6 a	23,76±3,0 b	54,46±5,3 a
Esterilização (E)	52,98±0,5 a	20,48±1,9 b	58,21±3,6 a

Tabela 5 – Valores de $L^*a^*b^*$ obtidos entre os tratamentos e a amostra controle. Média e desvio

padrão em três repetições.

Notas: Sobrescritos iguais na mesma linha indicam tratamentos estatisticamente iguais ($p > 0,05$). Análises realizadas em triplicata.

Acresce que para Miglio et al. (2008), os valores de cor dos vegetais, diminuíram significativamente após os tratamentos térmicos realizados no estudo. No presente trabalho apenas o parâmetro a^* diminuiu após o processamento, enquanto os demais parâmetros aumentaram. Essa variação pode ser elucidada devido a diferença de temperaturas e métodos utilizados, pois neste estudo os vegetais foram mensuradas após trituração e no trabalho de Miglio et al (2008), foi realizada medidas na parte interna e externa do vegetal. Todavia, de acordo com a Tabela 5, o SV preservou melhor as características da cenoura in natura, principalmente no que se refere ao parâmetro de cor b^* , enquanto os demais tratamentos aumentaram significativamente. Desse modo, o tratamento resguardou de maneira mais eficiente a coloração da amostra in natura, aspecto importante na escolha do produto pelo consumidor.

A textura é uma característica imprescindível para a aceitabilidade dos alimentos e o controle desta propriedade é essencial para a obtenção de produtos agradáveis aos consumidores. É dependente do estado da parede celular e dos polissacarídeos da lamela média, que inclui a pectina, um agente estrutural, que confere firmeza e elasticidade para o tecido, uma vez que degradada, gera alterações da textura do alimento (RASTOGI et al., 2008; RODRIGUES, 2009). Os resultados da análise de firmeza podem ser verificados na Figura 5.

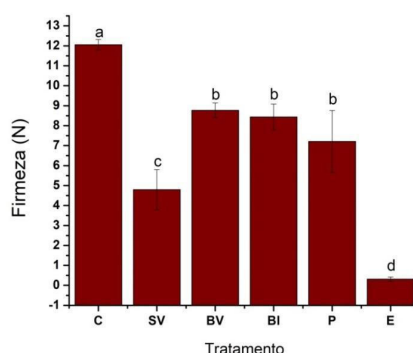


Figura 5- Dados frente análise de firmeza (N) para as amostras controle e demais submetidas ao processamento térmico.

Notas: Sobrescritos iguais na mesma linha indicam tratamentos estatisticamente iguais ($p > 0,05$). Análises realizadas em triplicata

Verificou-se diferença significativa entre os tratamentos com a amostra controle ($p < 0,05$), sendo possível observar que, nenhum dos tratamentos obteve valores de firmeza iguais ou superiores à cenoura in natura. A partir disso pode-se visualizar que as temperaturas utilizadas bem como os tempos de cozimento foram satisfatórias, já que todos os tratamentos causaram amolecimento do vegetal, pois um cozimento

excessivo pode provocar ruptura celular, implicando em redução da qualidade do vegetal, devido que o amido presente em vegetais tuberosos durante o tratamento térmico se gelatiniza, provocando um aumento da pressão interna, podendo levar à separação das células, reduzindo a coesão e o amolecimento (NOURIAN et al., 2003).

Sabe-se assim, que todos os processamentos térmicos estudados causaram mudanças na textura do vegetal, comprovando a degradação da parede celular e a alteração da pectina, que resulta no amolecimento do vegetal. Além disso, essa perda de rigidez pode ser explicada também, já que as macromoléculas de proteína formam uma estrutura globular tridimensional amorfa e organizada, presente está nas cenouras, as quais podem tornar-se massa plasticizada em temperaturas de cocção (FÉLIX, 2011). Os tratamentos BV, BI e P mostraram-se iguais entre si, estatisticamente ($p > 0,05$), obtendo os maiores valores para essa propriedade, seguido das amostras da tecnologia SV e da E, que obteve o menor valor de firmeza entre os testes analisados. O fato pode ser explicado pela alta temperatura que é empregada na E, degradar de maneira mais intensa a parede celular do vegetal, além de tornar a cenoura mais maleável com uma rigidez mais diminuta.

4 | CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos, foi possível definir o melhor tratamento como o sistema *sous vide*. Considerando que este, obteve melhor conservação das propriedades da cenoura, principalmente no que se refere a vitamina C e a cor, parâmetros importantes ao consumidor. No que se refere ao parâmetro de firmeza foi o tratamento que conferiu melhor suculência ao produto, reduzindo aproximadamente metade da rigidez encontrada na amostra in natura, sendo essa uma rigidez intermediária entre os tratamentos, e esperada pelo consumidor.

REFERÊNCIAS

BALDWIN, D. E. *Sous vide cooking: a review*. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 1, n 1, p 15-30, jan, 2012.

BARBOSA, J. H. P.; OLIVEIRA, S. L.; TOJAL, L.; SEARA. O papel dos produtos finais da glicação avançada (AGEs) no desencadeamento das complicações vasculares do diabetes. **Arq. Bras. Endocrinol Metab**. vol. 52 n°.6 São Paulo Ago. 2008.

BOLIN, H. R.; HUXSOLL, C. C. Control of minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 2, p. 416- 418, 1991.

CHURCH, Ivor J. and. PARSONS, Anthony L. The sensory quality of chicken and potato products prepared using cook-chill and sous vide methods. **International Journal of Food Science and Technology**, 35:155–162, 2000.

CREA, **Centre de Recherche et D'Estudes pour L'Alimentation**. França, novembro de 2000.

- EVANGELISTA, José. **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 644 p.
- FÉLIX, Ananda Portella. **Avaliação Nutricional de Derivados Proteicos de soja para Cães**. 2011. 188 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.
- FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 602 p.
- FENNEMA, Owen R; PARKIN, Kirk L.; DAMODARAN, Srinivasan. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Brasil. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos Físico – químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. Brasília, DF. 2008.
- SPADA, S, M. INTERNATIONAL FOOD INFORMATION SERVICE. **Dicionário de ciência e tecnologia de alimentos**. São Paulo: ROCA, 2009. 525 p. ISBN 9788572417280.
- LAGE, B. de C. F. **Avaliação das condições do processo *sous vide* na vida útil de salmão (*Salmo salar*)**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP: [s.n.], 2012. Disponível em: < http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/255769/1/Lage_BrunadeCarvalhoFonseca_M.pdf> Acesso em: 22 abril 2019.
- MIGLIO, C. et al. Effects of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 139–147, 2008.
- MOREIRA, R. T. **Análise de perdas de mineiras em hortaliças submetidas a dois métodos de cocção**. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição/Ciências da Saúde)-Centro Universitário São Francisco, Curitiba, 2006.
- MOURA, L. S. de. **Obtenção por Extração Supercrítica do Extrato de Funcho (*Foeniculum vulgare*): Determinação das Isotermas de Rendimento Global, de Parâmetros Cinéticos e do Equilíbrio de Fase**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Departamento de Engenharia de Alimentos – Campinas, SP: [s.n.], 2004.
- NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **Journal of Japan Society of Nutrition and Food Science** (Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi), 1992.
- NOURIAN, F.; RAMASWAMY, H.S.; KUSHALAPPA, A.C. Kinetic changes in cooking quality of potatoes stored at different temperatures. **Journal of Food Engineering**, v. 60, p. 257–266, 2003.
- OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE.M.A.B; SPOTO, M.H.F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri-SP: Manole, 2006. 612 p.
- OLIVEIRA, T. C. A. **Estudo da qualidade microbiológica, físico-química, química e sensorial de cenoura (*Daucus carota L.*) submetida à tecnologia *sous vide* produzida industrialmente**. Universidade Federal do Ceará. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós – Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Fortaleza, CE. 2013.
- ORDÓÑEZ, JUAN A. **Tecnologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 294 p.
- OSMAN, I.; OSMAN S.; MOKHTAR, I.; SETAPA, F.; SHUKOR, S. A. M.; TEMYATI Z. Family Food

Consumption: Desire towards Convenient Food Products. **Procedia - Social and Behavioral Sciences** 121 (2014) 223 – 231.

RASTOGI, N. K.; et al. Improvement in texture of pressure-assisted thermally processed carrots by combined pretreatment using response surface methodology. **Food Bioprocess Technol.** 2008.

RIBEIRO, H. J. S. de S.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H.; MIYAGUI, D. T. Propriedades físicas e químicas de feijão comum preto, cultivar lapar 44, após envelhecimento acelerado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2005, v.25, n.1, pp.165-169.

RIVERA XIMENA C. SCHMIDT; AZAPAGIC, ADISA. Life cycle environmental impacts of ready-made meals considering different cuisines and recipes. **Science of the Total Environment** 660 (2019) 1168–1181.

RODRIGUES, L. G. G. **Processo Integrado de Cozimento e Resfriamento de Legumes.** Dissertação. Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC. 2009.

TACO, 2011. **Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos.** NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl.- Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p. Disponível em: <http://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf> Acesso em: 04 mar. 2019.

TEIXEIRA, L. J. Q.; et. al. Cenoura (*Daucus carota*): processamento e composição química. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.7, n.12. 2011.

ERVAS AROMÁTICAS E ESPECIARIAS COMO FONTE DE ANTIOXIDANTES NATURAIS

Aline Sobreira Bezerra

Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia de Alimentos
Fortaleza - CE

Angélica Inês Kaufmann

Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste
Pinhalzinho - SC

Maiara Cristíni Maleico

Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Alimentos e Nutrição
Palmeira das Missões - RS

Mariana Sobreira Bezerra

Universidade Federal do Ceará, Departamento de Odontologia
Fortaleza - CE

RESUMO: A crescente procura por alimentos mais saudáveis e naturais impulsionou as pesquisas acerca de aditivos químicos. Muitas dessas pesquisas demonstram os malefícios causados pelos antioxidantes sintéticos, e a possível atividade antioxidante de ervas e especiarias. Esse trabalho objetivou analisar dezenove ervas aromáticas e especiarias utilizadas como condimentos na culinária mundial acerca de quantificar seus compostos fenólicos e analisar sua atividade antioxidante. Utilizando o extrato hidroalcoólico (80:20, v/v) de cada condimento, foi realizada a

quantificação de compostos fenólicos, de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu e a avaliação da capacidade antioxidante dos condimentos foi determinada pelo método do DPPH através da determinação da capacidade do extrato de sequestrar o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Os resultados demonstraram significativas quantidades de compostos fenólicos e atividade antioxidante entre as ervas e especiarias analisadas. A cúrcuma apresentou a menor quantidade de compostos fenólicos (23,02 mg EAG/g), no entanto apresentou o maior percentual de atividade antioxidante (75,92%). Além disso, o cravo foi o condimento que apresentou a maior quantidade de compostos fenólicos (166,96 mg EAG/g), enquanto o gengibre apresentou o menor percentual de atividade antioxidante (14,74%). Portanto esse trabalho compreende novos achados relevantes, contribuindo no progresso das pesquisas acerca de antioxidantes naturais.

PALAVRAS-CHAVE: Antioxidante, Condimentos, Compostos Fenólicos.

AROMATIC HERBS AND SPICES AS A SOURCE OF NATURAL ANTIOXIDANTS

ABSTRACT: Growing demand for healthier, natural foods has boosted research on chemical

additives. Many of these researches demonstrate the harm caused by synthetic antioxidants and the possible antioxidant activity of herbs and spices. This work aimed to analyze nineteen herbs and spices used as condiments in the world cuisine about quantifying their phenolic compounds and analyzing their antioxidant activity. Using the hydroalcoholic extract (80:20, v / v) from each condiment, quantification of phenolic compounds was performed according to the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method and the evaluation of the antioxidant capacity of the condiments was determined by the DPPH method through of the extract's ability to sequester the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical. The results showed significant amounts of phenolic compounds and antioxidant activity among the analyzed herbs and spices. Turmeric presented the lowest amount of phenolic compounds (23.02 mg EAG / g) however, it presented the highest percentage of antioxidant activity (75.92%). In addition, clove was the condiment that presented the highest amount of phenolic compounds (166.96 mg EAG / g), while ginger showed the lowest percentage of antioxidant activity (14.74%). Therefore, this work includes new relevant findings, contributing to the progress of research on natural antioxidants.

KEYWORDS: Antioxidant, Condiments, Phenolic Compounds.

1 | INTRODUÇÃO

Atualmente, grande parte da população tem interesse por produtos naturais, não só no que diz respeito à alimentação, mas também ao tratamento de doenças. A busca por produtos de qualidade e a preocupação com os impactos na saúde tornaram o consumidor mais exigente quanto à origem dos produtos adquiridos (ALMASSY JÚNIOR; SILVA; FONSECA, 2010).

Na alimentação humana, as ervas aromáticas e especiarias atuam realçando o sabor dos alimentos e ativando o processo digestivo. Além disso, cada tipo de planta tem em suas composições diferentes substâncias que agem no organismo mesmo quando a planta é usada apenas como tempero (CARDOSO et al., 2005). Ervas e especiarias trazem benefícios à saúde de quem os consome, quando usados adequadamente, estimulam a secreção gástrica e aumentam o tônus dos órgãos digestivos (CARRIJO et al., 2012).

A utilização de ervas e especiarias na preparação dos alimentos tem sido incentivada pelo fato delas possuírem atividade antioxidante, através de compostos capazes de desativar os radicais livres. As indústrias de alimentos vêm aumentando a utilização das especiarias, que atendam às exigências cada vez maiores dos consumidores, sendo que várias pesquisas estão sendo realizadas com a finalidade de se obterem quantidades adequadas de utilização, oferecendo melhoria de qualidade dos produtos a fim de desempenhar sua ação antioxidante e antimicrobiana, além de suas propriedades nutricionais, funções fisiológicas, funcionais e tecnológicas, os quais possam ser consumidos numa dieta habitual (GONÇALVES; SANTOS;

MORAIS, 2015).

Considerando a preocupação atual com efeitos maléficos que os antioxidantes sintéticos podem causar ao organismo, observa-se que os extratos de especiarias podem constituir uma fonte acessível de antioxidantes naturais. A adição de especiarias pode evitar a deterioração oxidativa em vários sistemas, além de fornecer possível suplemento alimentício e farmacêutico. Evidências demonstram que novos antioxidantes podem ser empregados como terapêuticos, indicando que as pesquisas envolvendo antioxidantes naturais devem prosseguir, pois as mesmas se mostram de suma importância para a saúde humana (DEL RÉ; JORGE, 2012).

Com ênfase no exposto, realizou-se este trabalho com o objetivo de aprofundar o estudo das ervas aromáticas e especiarias, abordando características como utilização, propriedades e quantificação de compostos fenólicos bem como, sua atividade antioxidante.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostras

A maioria das amostras foi adquirida em forma de pó através da loja virtual, Estação dos Grãos Ltda., com sede localizada no estado de São Paulo/SP. O alho foi adquirido “*in natura*” no comércio de Palmeira das Missões/RS e a cebolinha foi coletada no município de Três de Maio/RS.

As amostras de louro, cominho, alecrim, cravo, anis estrelado e noz moscada, juntamente com o alho e a cebolinha foram levadas ao Laboratório de Apoio à Nutrição da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, onde foram submetidas à desidratação em estufa ventilada a temperatura de 60°C durante 24 horas. Após a secagem o material foi triturado em processador, armazenado em saco plástico e congelado até o momento das análises.

2.2 Preparo das amostras

Para a quantificação de compostos fenólicos totais, foi preparada uma solução hidroetanólica (80:20, v/v), e acrescentada em 10 mL desta, um grama (1g) de cada amostra (previamente seca e triturada) em tubos Falcon de 50 ml (1:10, m/v). Os tubos foram agitados cuidadosamente por 2 minutos. Posteriormente, foram colocados em banho-maria a 40°C por 30 minutos. Após esse período, os extratos foram filtrados em papel filtro e armazenados em refrigeração para posterior análise.

2.3 Análise de compostos fenólicos

A análise de compostos fenólicos foi realizada no Laboratório de Apoio da UFSM. A análise de compostos fenólicos foi realizada de acordo com o método

espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton, Orthofer e Lamuel (1999) e Bezerra (2012), utilizando ácido gálico como padrão.

Os extratos obtidos foram diluídos e, uma alíquota de 0,1 mL de cada amostra diluída foi transferida para um tubo e adicionado 2,0 mL do reagente Folin-Ciocalteu, diluído em água destilada na proporção de 1:10 (v/v). A mistura permaneceu em repouso 5 minutos. Em seguida foram adicionados 2,0 mL de carbonato de sódio 7,5% e os tubos deixados em repouso por 1 hora, na ausência de luz. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 740 nm. As análises foram conduzidas em triplicata.

2.4 Análise da atividade antiodante

O método está baseado na capacidade do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) em reagir com doadores de hidrogênio. Na presença de substâncias antioxidantes o mesmo recebe H^+ sendo então reduzido. Pode ser facilmente detectado por espectroscopia devido a sua intensa absorção na região visível. O ensaio é iniciado pela adição do DPPH na amostra, em solução e mensurado pela capacidade da amostra de reduzir o DPPH.

A capacidade da amostra de reduzir o DPPH é expressa em percentual (% AA), e calculada em relação ao controle, segundo a equação (1):

$$\%AA = \frac{A_C - (A_A - A_B) \times 100}{A_C}$$

(1)

Onde A_C é a absorvância do DPPH, A_A é a absorvância da amostra e A_B é a absorvância do branco da amostra.

A capacidade antioxidante dos extratos das plantas foi determinada pelo método do DPPH através da determinação da capacidade do extrato de sequestrar o radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), conforme Bezerra (2012). Os extratos elaborados para determinação foram analisados por meio de espectroscopia na região do visível em comprimento de onda de 522 nm. Os resultados foram expressos em percentual de capacidade antioxidante e analisados em triplicata.

2.5 Análise Estatística

Os dados referentes à pesquisa, foram interpretados por análise descritiva simples no programa Excel 2010 e calculados em média \pm desvio padrão e submetidos à análise de variância pelo teste Tukey ($p < 0,05$) no programa SASM-Agri versão 4 (CANTERI et al., 2001).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Quantificação de compostos fenólicos das amostras

Observando os resultados da **Tabela 1**, pode-se perceber que a maioria das ervas analisadas exibiram uma maior quantidade de compostos fenólicos, enquanto que as especiarias obtiveram resultados menores com exceção do cravo e da canela.

Amostras	mg/g fenólicos totais (mg EAG/g)	Desvio Padrão
Cravo	166,96 ^a	±1,01
Orégano	158,90 ^b	±3,72
Canela	151,79 ^b	±1,95
Tomilho	144,01 ^c	±2,91
Alecrim	137,99 ^c	±2,90
Hortelã	127,15 ^d	±1,06
Louro	120,48 ^{de}	±2,85
Manjeriço	118,53 ^e	±3,40
Sálvia	108,50 ^f	±0,36
Anis	89,72 ^g	±1,73
Coentro	86,18 ^g	±6,54
Cebolinha	60,46 ^h	±2,09
Cominho	56,70 ^{hi}	±1,51
Erva Doce	50,12 ^{ij}	±1,60
Salsa	49,08 ^j	±1,57
Alho	31,34 ^k	±0,24
Noz Moscada	28,00 ^{kl}	±0,60
Gengibre	25,53 ^{kl}	±0,88
Cúrcuma	23,02 ^l	±1,06

Tabela 1- Quantificação de fenólicos totais das amostras analisadas (EAG: equivalentes de ácido gálico).

* Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as amostras ao nível de 5% pelo teste Tukey. (CV: 2,71%; Quadrado médio do resíduo: 6,12).

Analisando o alecrim, Pereira e Pinheiro (2013) encontraram um resultado inferior em seu estudo, apenas 40,15 mg/g de compostos fenólicos em extrato etanólico 80% (v/v) de alecrim. Também no estudo de Silva et al. (2011) o extrato aquoso de alecrim apresentou uma quantidade de compostos fenólicos de 30,70 mg/g.

Andreo e Jorge (2011) encontraram uma concentração de compostos fenólicos totais, de 251 mg/g em extrato etanólico de gengibre, resultado superior comparado com o presente estudo. Já no estudo de Matioli (2014) constatou-se uma quantidade bastante inferior de fenóis totais em extratos aquosos de canela (4,34 mg/g), manjeriço (3,56 mg/g) e orégano (3,52 mg/g).

Shan et al. (2005) analisaram 26 condimentos diferentes utilizando 2 g de amostra extraída com 50 mL de metanol a 80%. Estes obtiveram os seguintes

resultados: canela (119,0 mg/g), orégano (101,7 g), sálvia (53,2 mg/g), alecrim (50,7 mg/g), tomilho (45,2 mg/g), louro (41,7 mg/g), manjeriço (36,4 mg/g), anis (20,2 mg/g), noz moscada (16,1 mg/g), salsa (9,7 mg/g), coentro (8,8 mg/g), gengibre (6,3 mg/g), cominho (2,3 mg/g).

É possível perceber que os resultados foram inferiores aos encontrados no presente trabalho. Essas diferenças estão relacionadas às soluções extratoras utilizadas em cada estudo. Porém pode-se observar que, como no presente trabalho, os condimentos que apresentaram resultados superiores foram a canela, o orégano e a maior parte das ervas.

3.2 Avaliação da atividade antioxidante das amostras

Observando os resultados da **Tabela 2**, pode-se perceber que a cúrcuma apresentou o maior percentual de atividade antioxidante, e, no entanto obteve a menor quantificação de compostos fenólicos.

Amostras	% Atividade Antioxidante	Desvio Padrão
Cúrcuma	75,92 ^a	±0,23
Hortelã	68,77 ^{ab}	±0,39
Louro	68,23 ^{abc}	±0,67
Sálvia	66,88 ^{bc}	±0,81
Manjeriço	62,70 ^{bcd}	±0,10
Anis	60,14 ^{cd}	±1,75
Cominho	53,93 ^{de}	±0,67
Coentro	47,73 ^{ef}	±1,81
Cebolinha	46,85 ^{efg}	±1,14
Erva Doce	45,16 ^{efg}	±0,29
Orégano	43,21 ^{fgh}	±1,44
Tomilho	42,53 ^{fghi}	±0,92
Noz Moscada	41,45 ^{fghij}	±2,08
Alecrim	39,50 ^{fghij}	±0,10
Canela	39,43 ^{ghij}	±3,78
Cravo	39,03 ^{ij}	±9,74
Alho	34,57 ^{hij}	±0,95
Salsa	33,50 ^j	±1,73
Gengibre	14,74 ^k	±1,76

Tabela 2- Percentual de atividade antioxidante (%AA) das amostras analisadas.

* Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as amostras ao nível de 5% pelo teste Tukey. (CV: 6,15%; Quadrado médio do resíduo: 8,65).

Apesar da baixa quantificação de fenólicos, a avaliação da atividade do extrato em sequestrar o radical DPPH foi significativamente elevada, o que mostra que os antioxidantes presentes na cúrcuma são extremamente eficientes na captura do radical livre do que outros condimentos que obtiveram uma maior quantificação destes. Segundo Balasundram, Sundram, Samman (2006), a estrutura dos

compostos fenólicos é um fator determinante para a atividade antioxidante, assim sendo conhecido como relação estrutura-atividade. Isso explica o fato de alguns compostos exibirem altas quantificações de fenólicos totais e em algumas vezes um baixo percentual de atividade antioxidante frente a um radical livre.

Os dados obtidos por Sobral (2012) revelaram que as correlações entre a atividade antioxidante e o conteúdo de fenólicos totais podem depender do método escolhido (DPPH, FRAP, ABTS) e das características hidrofóbicas e hidrofílicas do método. Portanto os resultados de atividade antioxidante não necessariamente correspondem à quantidade de compostos fenólicos, mas dependem da interação entre o extrato e o radical livre.

O estudo de Matioli (2014) obteve resultados de atividade antioxidante utilizando o método DPPH de extratos aquosos de manjeriço (82,01%), orégano (81,32%) e canela (77,82%) e gengibre (12,59%). O percentual de atividade antioxidante encontrado no presente trabalho para o gengibre, foi semelhante ao encontrado pelo autor.

Gonçalves, Santos e Morais (2015) encontraram uma grande variabilidade dos resultados para a capacidade antioxidante, entre 73,8% (manjeriço), 83,9% (alecrim), 84,1% (cebolinha), 75,2% (cominho), 90,3% (orégano), 87,2% (salsa), 82,5% (tomilho) para os extratos aquosos, e 92,6% (manjeriço), 93,9% (alecrim), 55,2% (cebolinha), 89,6% (cominho), 96,0% (orégano), 97,2% (salsa), 94,4% (tomilho) para os extratos alcoólicos.

Já Andreo e Jorge (2011) encontraram 79,1% de atividade antioxidante em extrato etanólico de gengibre através do método DPPH.

Supõe-se que esta grande variabilidade de resultados obtidos pode ser explicada, pelo emprego de diferentes processos de extração (em água ou em álcool), obtendo extratos com diferentes concentrações destes compostos e, conseqüentemente, influenciando na quantificação. Estes fatos tornam difícil a comparação dos resultados entre os estudos.

Dessa forma, são necessárias outras análises acerca da quantificação de compostos fenólicos e da atividade antioxidante por diferentes metodologias, em virtude da necessidade de se investigar outros métodos de preparação da amostra, extração dos compostos fenólicos e solvente extrator para utilização desses antioxidantes de fontes naturais na indústria de alimentos ou farmacêutica.

4 | CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram significativas quantidades de compostos fenólicos e atividade antioxidante entre as ervas e especiarias analisadas. A cúrcuma apresentou a menor quantidade de compostos fenólicos, mas ao mesmo tempo apresentou o maior percentual de atividade antioxidante.

Pode-se concluir que alguns compostos fenólicos são mais eficientes que outros na captura do radical DPPH, e nem sempre os compostos fenólicos quantificados serão efetivos na captura de um radical livre explicando a discrepância entre os resultados da quantificação de compostos fenólicos em relação à atividade antioxidante.

REFERENCIAS

ALMASSY JÚNIOR, A. A.; SILVA A. F.; FONSECA, M. C. M. Conhecimento tradicional do uso medicinal das plantas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 20- 25, 2010.

ANDREO, D.; JORGE, N. Capacidade Antioxidante e Estabilidade Oxidativa de *Gengiber officinale*. **Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, São Paulo, v. 13, p.33-37, 2011.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BEZERRA, A. S. **Avaliação de compostos funcionais de grãos e extrato concentrado de cevada visando aplicações nutricionais**. 108 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

CANTERI, M. G. et al. SASM-Agri – Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v. 1, p. 18-24, 2001.

CARDOSO, M. G. et al. **Plantas aromáticas e condimentares**. Boletim Técnico 62. 2005. Disponível em: <http://livraria.editora.ufla.br/upload/boletim/tecnico/boletim-tecnico-62.pdf>. Acesso em: 15/09/2019.

CARRIJO, K. F. et al. Condimentos e especiarias empregados no processamento de alimentos: considerações a respeito de seu controle físico-químico. **PUBVET**, Londrina, v. 6, n. 26, ed. 213, art. 1419, 2012.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n. 2, p.389-399, 2012.

GONÇALVES, J. H. T., SANTOS, A. S. E MORAIS, H. A. Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e triagem fitoquímica de ervas condimentares desidratadas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 13, n. 1, p. 486-497, 2015.

MATIOLLI, L. S. **Avaliação da citotoxicidade e atividade antioxidante de plantas condimentares**. 43f. Dissertação (Mestrado em Biociências). Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2014.

PEREIRA, D. E PINHEIRO, S. R. **Elaboração de hambúrgueres com antioxidantes naturais oriundos de extratos etanólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)**. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

SHAN, B. et al. Antioxidant capacity of 26 Spice extracts and characterization of their phenolic constituents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Hong Kong, v. 53, n. 20, p.7749-7759, 2005.

SILVA, A. M. O. et al. Efeito do extrato aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o estresse oxidativo em ratos diabéticos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 1, n. 1, p.121-130, 2011.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods of Enzymology**, v. 299, p.152-178, 1999.

SOBRAL, A. I. B. **Efeito do solvente nas propriedades antioxidantes e no conteúdo em compostos fenólicos de extratos de frutos e folhas de Rubus**. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Biológica, Universidade do Algarve, Faro, 2012.

EVALUATION OF THE PROCESS OF DESPECTINIZATION OF CUPUAÇU PULP (*Theobroma grandiflorum*)

Luana Kelly Baltazar da Silva

University of the State of Pará - CCNT
Cametá-PA

Lenice da Silva Torres

University of the State of Pará - CCNT
Castanhal-PA

Tatyane Myllena Souza da Cruz

Federal University of Pará - PPGCTA
Belém-PA

Layana Natália Carvalho de Lima

University of the State of Pará - CCNT
Cametá-PA

Rayssa Silva dos Santos

University of the State of Pará - CCNT
Cametá-PA

Adriano César Calandrini Braga

University of the State of Pará - CCNT
Castanhal-PA

ABSTRACT: Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), is a fruit considered exotic and of great economic potential in the national and international market, which has great sensorial characteristics like attractive aroma and pleasant taste. The objective of the research was to evaluate the conditions of the enzymatic treatment in the pulp of the cupuaçu, through the process of despectinization of the pulp. The pectin analysis was performed on

the cupuaçu pulp samples, before and after the treatments. The design was the complete factorial design composed of three replicates at the central point. The effect of these variables was studied in three experimental levels: -1, 0, 1, where -1 and 1 correspond to the minimum and maximum levels, and 0 corresponds to the central point. The factors were time (30, 55, 80 min.) And temperature (25, 40, 55°C) treatment. The results were evaluated through Analysis of Variance (ANOVA) and response surface methodology, using a statistical program called *Statística*, Version 7.0. The enzymatic treatment provided a reduction in the pectin chains in all the tests, the highest percentage being found at 25°C for 80 minutes (46.82%).

KEYWORDS: Enzymatic treatment. Pectin. Physicochemical.

RESUMO: O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), é um fruto considerado exótico e de grande potencial econômico no mercado nacional e internacional, que possui grandes características sensoriais como aroma atrativo e sabor agradável. O objetivo da pesquisa foi avaliar as condições do tratamento enzimático na polpa do cupuaçu, através do processo de despectinização da polpa. A análise da pectina foi realizada nas amostras de polpa de cupuaçu, antes e após os tratamentos. O delineamento utilizado foi o fatorial completo composto por

três repetições no ponto central. O efeito dessas variáveis foi estudado em três níveis experimentais: -1, 0, 1, onde -1 e 1 correspondem aos níveis mínimo e máximo, e 0 corresponde ao ponto central. Os fatores foram tempo (30, 55, 80 min.) E temperatura (25, 40, 55 ° C). Os resultados foram avaliados através da Análise de Variância (ANOVA) e da metodologia de superfície de resposta, utilizando um programa estatístico denominado Statística, versão 7.0. O tratamento enzimático proporcionou redução nas cadeias de pectina em todos os testes, sendo o maior percentual encontrado a 25 °C por 80 minutos (46,82%).

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento enzimático. Pectina. Físico química.

1 | INTRODUCTION

The cupuaçuzeiro stands out as being one of the fruit of great importance for the Amazon and stands out for having great sensorial characteristics like attractive aroma and pleasant flavor. Its pulp also has a remarkable content of acidity, soluble solids and pectin, besides the seeds contain high content of lipids and theobromine (LIRA et al., 2012; VIANA, 2010). The cupuaçu processing represents the fruit breakage and removal of the pulp, this activity being performed manually or mechanized. (JORGE, 2011; SOUZA, et al., 2011).

The production of fruit pulp is a process of beneficiation of the fruit indispensable for its conservation, besides its processing is favorable for the full use of the fruits, both in the harvest period or in the off-season, since it is an important raw material in the food industry for the production of derivatives (CAVALCANTE, 2005).

In general, the economic importance of cupuaçu comes from the production of juices, soft drinks, ice cream, candies, compote, yogurts, concentrates, dehydrated pulps and flavorings made from its pulp, which has a high content of pectin, which favors the production of other derivatives such as jelly (GONÇALVES, 2014).

Pectin “is a polysaccharide which has in its structure linear chains of α -1,4-linked D-galacturonic acid, which together with cellulose and hemicellulose, form the structural material of the cell walls of the plants, conferring the mechanical strength of the cell wall (BOBBIO & BOBBIO, 2001).

In this respect, some attributes such as consistency and turbidity in fruit juices occur due to the presence of these pectic substances and cause a significant increase in viscosity, interfering in the processing stages, such as filtration and concentration.

Thus, the use of these enzymes promotes a better use of the raw material, increasing the efficiency of the unit operations involved in its production process, energy consumption, and minimizing waste (PALUDO & KRÜGER, 2011).

Therefore, the objective of this work was to evaluate the conditions of enzymatic treatment of the fruit pulp of the cupuaçu fruit produced in the municipality of Santa Isabel do Pará, by means of the depectinization, in order to contribute to the improvement of the fruit processing.

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 Raw material

The fruit was purchased in the municipality of Santa Izabel do Pará and then transported to the Food Laboratory of the State University of Pará, Campus XX, located in the municipality of Castanhal - PA. It was followed by the steps of selection, cleaning and sanitization by immersion in a solution containing 100 mg / L of active chlorine for 15 minutes. The fruits were pulped and the pulp obtained was packed in 100 g polyethylene packs, frozen and stored at -20 ° C until analysis.

2.2 Determination of pectin

The pectin analysis was performed on the cupuaçu pulp samples, as well as on the samples after each treatment, in order to analyze the efficiency of the enzyme action in the different treatments. The analysis followed the methodology proposed by Matissek et al. (1998). The results were expressed as mg of galacturonic acid/L (mg AG/L). From the results of the final pectin content it was verified which treatments showed higher pectin hydrolysis in the samples.

2.3 Experimental design

The design used in this research was the complete factorial design. The evaluated factors were time and temperature of enzymatic treatment, as shown in Table 1, with an enzymatic preparation provided by Novozymes, and the trials were conducted in a randomized manner. The design was performed with three replicates at the central point, in order to estimate the analytical error. The effect of these variables was studied in three experimental levels: -1, 0, 1, where -1 and 1 correspond to the minimum and maximum levels, and 0 corresponds to the central point. The analysis of the results was performed by analysis of variance (ANOVA) at a significance level of 5% and response surface methodology using Statistica 7.0 software.

Treatments	Temperature (°C)	Time (min)
1	40	55
2	25	80
3	40	55
4	55	30
5	25	30
6	40	55
7	55	80

Table 1 - Experimental delineation.

2.4 Enzymatic treatment

In order to perform the enzymatic treatment in the frozen cupuaçu pulp, 100 g of the pulp was first diluted in 300 ml of water, followed by the addition of 15 ml of the diluted pulp in each 50 ml stainless steel tube and the insertion of a fixed concentration of 200 mg/L of the enzyme Pectinex SMASH XXL. Then, the tubes were submitted to the water bath, as determined in the complete factorial design. After the enzymatic treatment, the enzymes were inactivated at 85°C for 15 minutes and pectin determination was carried out.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Determination of pectin

The result obtained from the pectin concentration in the frozen cupuassu pulp was 5,384.01 mg AG/L. However, Villachica (1996) and Nazaré (2003), both found the pectin value of 390 mg / 100g of fresh cupuaçu pulp. Rodrigues (2009), established a pectin concentration of 9,280 mg/100g in the cupuaçu pulp.

According to Coelho (2008), this divergence occurs as a function of the source from which it is extracted, as well as the diversity of the fruit, the maturation process, the extraction procedure and the mode of cultivation, has a total influence on the quantity determination of pectin.

3.2 Enzymatic treatment

The experimental values obtained from the pectin concentration after the enzymatic treatment at the points of the complete factorial design are presented in Table 2.

Treatments	Variable		[] of Pectin *
	Temperature (°C)	Time (min)	Enzyme (mg AG/L)
1	40	55	3.289,40
7	55	80	3.136,14
3	40	55	3.238,31
4	55	30	3.731,48
5	25	30	3.323,46
6	40	55	3.263,85
2	25	80	2.862,98

Table 2 - Results of pectin concentration after enzymatic treatment.

Notes: Concentration []; * after treatment; Enzyme Pectinex SMASH XXL.

The results found in Table 2 confirm that the time and temperature of treatment variables have a significant effect on the enzyme performance, showing the reduction of the pectin concentration in the analyzed samples.

The use of a lower temperature (25°C) with the longest time (80 min) provides the highest efficiency of the enzyme (Treatment 2). In contrast, the use of higher temperatures (55°C) for a short period of time (30 min) showed the lowest enzymatic action (Treatment 4).

Thus, Table 3 expresses the result of the analysis of variance for the enzymatic treatments, where it was verified that the effect of time and temperature exerted a significant effect on the response, for $p < 0.05$.

Factors	DF	SS	SM	F	P
Temperature (1)	1	116001,5	116001,5	177,76*	0,005*
Time (2)	1	278688,9	278688,9	427,08*	0,002*
1:2	1	4546,8	4546,8	6,96	0,12
Lack of adjustment	1	0,2	0,2	0,0003	0,98
Pure Error	2	1305,1			
Total SS	6	400542,6			
$R^2 = 0,9967$					

Table 3 - Results of model variance line.

Notes: Degree of Freedom (DF); Sum of squares (SS); Square of the mean (SM); Test F (f).

According to Table 3, the interrelation between variables does not have a significant statistical effect on the response ($p < 0.05$). However, the time and the temperature have great influence on the process, since these variables are of fundamental importance for the enzymatic reactions.

Balischi et al. (2002) confirmed in his research with acerola pulp, that the variations of time and temperature, as the data exposed in this work, has a great influence on the enzymatic treatment for the degradation of pectin chains, as well as the concentration of the enzyme preparation.

Figure 1 shows the response surface of the data obtained in the enzymatic treatment.

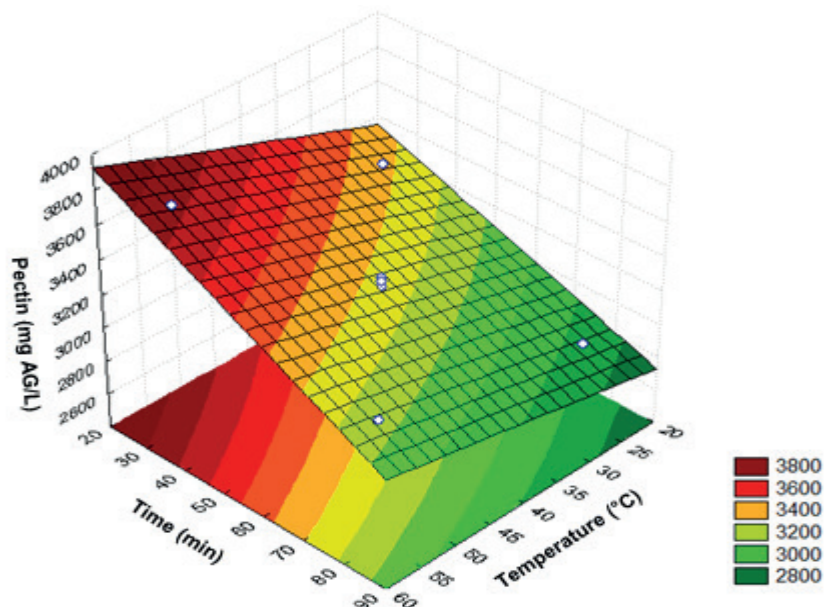


Figure 1 - Line model response surface result.

Figure 1 represents a linear fit for the time and temperature variables. Where it can be seen that the lowest pectin concentration was 2,862.98 mg AG / L, since increasing time and decreasing temperature resulted in greater hydrolysis of the pectin chains present in the pulp. Thus, the best treatment condition for the enzyme was the treatment 2, which had a temperature of 25 ° C for 80 minutes, promoting a reduction of 46.82% in the pectin concentration of the analyzed pulp.

Balischi et al. (2002) obtained better results, varying the time, temperature and concentration of two enzyme preparations under the following conditions: Citrozym Ultra L and Pectinex Ultra SP-L, in the concentrations of 100 and 120 ppm, temperatures of 45 and 35 ° C and treatment times 60 and 75 minutes, with a reduction in pectin content of 68.2% and 32.4%, respectively.

4 | CONCLUSIONS

The complete factorial design that was used allowed to find the ideal conditions of the enzymatic treatment, reducing pectin concentration in the raw material. Therefore, treatment 2, with longer time (80 min) and lower temperature (25 ° C), was the most suitable for enzymatic action, with 46, 82% pectin hydrolysis in the cupuaçu pulp. Studies related to the depectinization of regional fruit pulps are still limited, since there is a great variety of fruits from different regions. Therefore, it is necessary to increase the incentive in research, so that parameters can be raised to improve the application of industrial enzymatic complexes, with a view to better processing of this raw material.

REFERENCES

- BALISCHI, L., PEREIRA, N. C., LIMA, O. C. M., BARROS, S. T. D., DAMASCENO, J. W., MENDES, E. S. Influência do tratamento enzimático sobre as características reológicas e microscópicas da polpa de acerola. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 6, p. 1649-1658, 2002.
- BOBBIO, P. A., BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001.
- CAVALCANTE, R. M. S. **Análise higiênico-sanitária de polpas de cupuaçu e bacuri comercializadas na cidade de Belém, Pará**, 2005. 68 f. Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2005.
- COELHO, M. T. **Pectina: Características e aplicações em alimentos**, 2008, 33 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Química de Alimentos) Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2008
- GONÇALVES, M. V. V. A. **Segurança microbiológica de polpa de cupuaçu processada termicamente**, 2014. 127 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos químicos e bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2014
- JORGE, L. H. A. **Cultivo e beneficiamento do cupuaçu**. Dossiê Técnico. SENAI/AM, p. 3-27, 2011.
- LIRA, J.S.S.; MELLO, A.A; AZEREDO, D.R.P.. Caracterização físico-química da polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* schum) congelada. In **VI Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica do IFRJ**, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.
- MATISSEK, R., SCHNEPEL, F. M., STEINER, G. **Análisis de los alimentos: fundamentos, métodos e apliciones**. Zaragoza: Acribia, 1998
- NAZARÉ, R. F. R. DE. **Preparo de produtos derivados do cupuaçu**.: Embrapa Amazônia Oriental, 2003. il. (Embrapa Amazônia Oriental. Recomendações técnicas). Belém, 2003.
- PALUDO, M. C., KRÜCKER, R. L. Ação da enzima pectinase na extração de suco de jabuticaba. **Arquivos de Ciência da Saúde UNIPAR**, v.15, n. 3, p. 279-286, 2011.
- RODRIGUES, L. A. **Contribuição ao estudo bioquímico de frutas tropicais e exóticas produzidas no Brasil: pectina, açúcar e proteína**, 2009, 110 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.
- SOUZA, A. G. C., SOUZA, M. G., PAMPLONA, A. M. S. R., WOLFF, A. C. S. **Boas práticas na colheita e pós-colheita do cupuaçu**. Circular Técnica, 36. p. 1-8, 2011.
- VIANA, A. D. **Propriedades termofísicas e comportamento reológico da polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) em diferentes concentrações e temperaturas**, 2010. 99 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Universidade Estadual do sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2010.
- VILLACHICA, H. **Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonia**. Lima: Tratado de Cooperacion Amazonica, Secretaria Pro-Tempore, 1996.

EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM PARA OBTENÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE CASCA DE ATEMOIA (*Annona cherimola* Mill x *Annona squamosa*)

Caroline Pagnossim Boeira

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM),
Programa de Pós-graduação em Ciência e
Tecnologia dos Alimentos, Santa Maria, RS,
Brasil.

Déborah Cristina Barcelos Flores

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM),
Programa de Pós-graduação em Ciência e
Tecnologia dos Alimentos, Santa Maria, RS,
Brasil.

Bruna Nichelle Lucas

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM),
Programa de Pós-graduação em Ciência e
Tecnologia dos Alimentos, Santa Maria, RS,
Brasil.

Claudia Severo da Rosa

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM),
Programa de Pós-graduação em Ciência e
Tecnologia dos Alimentos, Santa Maria, RS,
Brasil.

Natiéli Piovesan

Instituto Federal do Rio Grande do Norte, Pau dos
Ferros, RN, Brasil

Francine Novack Victoria

Universidade Federal de Pelotas (UFPel),
Programa de Pós-graduação em Ciência dos
Alimentos, Centro de Ciências Químicas,
Farmacêuticas e de Alimentos, Pelotas, RS,
Brasil.

RESUMO: A utilização e aproveitamento de resíduos de frutas, corresponde a uma

alternativa sustentável, pois o aproveitamento integral de frutas e outros produtos de origem vegetal minimiza a produção de lixo orgânico e fornece novas fontes de nutrientes e compostos bioativos. Este trabalho foi realizado com o objetivo de extrair os compostos bioativos presentes na casca de atemoia por ultrassom, em diferentes temperaturas. Os extratos hidroalcoólicos foram preparados a partir da amostra moída e álcool de cereais 70%. Para a realização da extração assistida por ultrassom, a casca e o álcool de cereais foram imersas em banho ultrassônico, durante 20 minutos nas temperaturas de 30 e 60°C. Foram realizadas as determinações de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, DPPH, IC₅₀ e ORAC. Os resultados obtidos demonstram que a extração a 60°C influenciou positivamente na extração de compostos bioativos da casca de atemoia. Considerando a importância econômica e nutricional do aproveitamento das partes usualmente desprezadas de frutas, a casca de atemoia pode ser considerada uma promissora fonte natural de obtenção de extratos ricos em compostos bioativos.

PALAVRAS-CHAVE: Atemoia, ultrassom, compostos bioativos, antioxidantes naturais

ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION TO
OBTAIN BIOACTIVE FROM BARK ATEMOIA

ABSTRACT: The use and recovery of fruit waste corresponds to a sustainable alternative, since the integral use of fruits and other products of vegetal origin minimizes the production of organic waste and provides new sources of nutrients and bioactive compounds. This work was carried out with the objective of extracting the bioactive compounds present in the shell of atemoia by ultrasound, at different temperatures. The hydroalcoholic extracts were prepared from the ground sample and 70% cereal alcohol. To perform the ultrasound assisted extraction, the husk and cereal alcohol were immersed in an ultrasonic bath for 20 minutes at temperatures of 30 and 60 °C. The determinations of total phenolic compounds, total flavonoids, DPPH, IC 50 and ORAC were performed. The results obtained demonstrate that the extraction at 60 °C positively influenced the extraction of bioactive compounds from the atemoia peel. Considering the economic and nutritional importance of the use of the usually neglected parts of fruits, the atemoia peel can be considered a promising natural source of extracts rich in bioactive compounds.

KEYWORDS: Atemoia, ultrasound, bioactive compounds, natural antioxidants

1 | INTRODUÇÃO

Dentro do agronegócio, uma área na qual o Brasil se destaca é a produção de frutas, chamada de fruticultura, sendo considerado um dos maiores produtores mundiais. As frutas são boas fontes de nutrientes, porém os subprodutos como a casca e as sementes de vegetais costumam ser descartadas pela indústria e pelos consumidores. Esses subprodutos poderiam ser aproveitados como fonte alternativa de nutrientes e como fonte de outros compostos benéficos para saúde humana (CRUZ et al., 2013).

A utilização e aproveitamento de resíduos de frutas, corresponde a uma alternativa sustentável, pois o aproveitamento integral de frutas e outros produtos de origem vegetal minimiza a produção de lixo orgânico e fornece novas fontes de nutrientes e compostos bioativos (SILVA; RAMOS, 2009).

A atemoia é um híbrido derivado do cruzamento entre um fruto tropical, a frutido-conde, mais conhecida como ata (*Annona squamosa* L.) com a cherimoia (*Annona cherimola* Mill.), nativa das regiões andinas do Chile, Peru, Bolívia, Equador e em locais de clima ameno. Segundo CRUZ et al. (2013) cerca de mil hectares de atemoia são plantados no Brasil, sendo o estado de São Paulo o maior produtor, responsável por 44% da produção, seguido por Minas Gerais, Paraná e Bahia (LEMOS et al., 2014).

O cruzamento entre espécies ocorre naturalmente, porém o híbrido atemoia foi resultado de um cruzamento intencional, com o objetivo de se obter um fruto de tão boa qualidade quanto a cherimoia, que se adaptasse melhor ao clima tropical. Segundo Donadio (1997), a produção de atemoia tende a crescer no Brasil em

virtude dessa versatilidade e maior adaptação às condições tropicais e subtropicais

Os frutos de atemóia apresentam a casca de cor verde-escura/amarelada com textura rugosa e pontiaguda, a polpa branca, cremosa e doce, geralmente apresenta poucas sementes, que possuem cor escura. Além disso, apresenta características sensoriais superiores a fruta-do-conde e a cherimoia (MARCELLINI, et al., 2003; LIU et al., 2016).

Alguns estudos sobre fisiologia e qualidade pós-colheita foram realizados com esta planta (SCALOPPI-JUNIOR; MARTINS, 2003; OLIVEIRA et al., 2010; PEREIRA; KAVATI, 2011), porém poucos estudos sobre a fitoquímica e a atividade biológica foram conduzidos no Brasil.

A extração de compostos bioativos pode ser realizada de diferentes maneiras, normalmente utiliza-se a extração simples com uso de solventes orgânicos. Buscando melhorar a eficiência deste processo, diversas pesquisas têm reportado a utilização de ultrassom para extração desses compostos a partir de matrizes vegetais (SILVA; GARCIA; FRANCISCATO, 2016). A extração com o uso de ultrassom apresenta-se como uma técnica extrativa promissora por promover a extração exaustiva de princípios ativos de vegetais com gasto de energia relativamente pequeno, economia de tempo e maior segurança no processo (BOEIRA, et al., 2018)

Baseado no exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da temperatura na extração assistida por ultrassom sobre os compostos bioativos da casca de Atemoia.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção e preparo do material vegetal

A fruta foi obtida no comércio local de Santa Maria (RS). As cascas de atemoia foram secas em estufa a 45 ° C (± 5) por 48 horas, trituradas em moinho de facas tipo Willy e passadas em peneira de 20 mesh. O material foi armazenado em freezer doméstico em sacos de polietileno a temperatura de -18 ° C até o final das análises.

2.2 Preparação dos extratos

Os extratos hidroalcoólicos foram preparados com álcool de cereais 70% na proporção 1:10 (p/v). A extração por ultrassom foi realizada de acordo com as condições propostas por Piovesan et al. (2017) e Zibetti et al. (2013). O álcool de cereais e as cascas trituradas foram imersos em banho ultrassom (UNIQUE®, modelo USC1800, São Paulo, Brasil) operando em frequência de 40 kHz durante 20 minutos em diferentes temperaturas, 30°C e 60°C.

2.3 Determinação de fenólicos totais

A determinação de fenólicos totais foi feita pelo método de Folin-Ciocalteu descrito por ROESLER (2007), que sugere incubar os tubos durante 5 minutos em banho-maria a 50°C. Para a quantificação foi realizada uma curva de calibração utilizando ácido gálico em concentrações de 10 a 500 mg.L⁻¹. O teor de compostos fenólicos totais foi expresso em miligramas equivalentes de ácido gálico/ g de amostra (mg EAG g⁻¹).

2.4 Determinação de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi determinado pelo método proposto por ZHISHEN, MENGCHENG & JANMING (1999). Para o cálculo foi realizada curva de calibração utilizando quercetina em concentrações de 25 a 200 mg.L⁻¹. O teor de flavonóides totais foi expresso em mg equivalente de quercetina/ g de amostra (mg EQ g⁻¹).

2.5 Determinação de atividade antioxidante pelo método DPPH

A determinação da capacidade antioxidante pelo método DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) foi feita segundo BRAND-WILLIAMS, CUVELIER & BERSET (1995). Incubou-se 2,5 mL de uma solução metanólica de DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) 0,1 mM com 0,5 mL de soluções contendo concentrações crescentes dos extratos, por 30 minutos e ausência da luz. Os resultados foram expressos como percentual (%) de inibição do radical DPPH, de acordo com a equação abaixo:

$$\%DPHH_{inibição\ radical} = [(A_0 - A_s) \div A_0] \times 100$$

Onde A₀ é absorbância controle, A_s é a absorbância da amostra. Para o cálculo do IC50, utilizou-se a equação da reta obtida dos valores da absorbância (AA%) das concentrações crescentes das amostras, substituindo o valor de Y por 50, obtendo-se o valor de X como a concentração da amostra com capacidade para reduzir 50% do DPPH.

2.6 Determinação de atividade antioxidante pelo método ORAC

A capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) foi analisada conforme proposto por DÁVALOS, GÓMEZ-CORDOVÉS & BARTOLOMÉ (2004). A intensidade da fluorescência (excitação a 485 nm e emissão a 525 nm) foi monitorada a cada minuto, durante 120 minutos, no leitor de microplacas Sinergy Mx (BioTek, Winooski, EUA). A curva padrão foi preparada com solução de Trolox (0 a 96 mM), e os resultados foram expressos em μmol equivalente de Trolox por grama de amostra (μmol Trolox/g).

2.7 Análise estatística

Os extratos e as análises foram conduzidos em triplicata. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas entre si através do teste de Tukey, a 5% de significância, quando necessário, através do programa computacional Statistica ®10.0.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Compostos fenólicos totais

O teor de fenólicos totais dos extratos de atemoia está apresentado na Figura 1. O extrato a temperatura de 60 °C apresentou maior teor de fenólicos (559,75 mgGAE/g) quando comparado a temperatura de 30°C, que apresentou (475,66 mgGAE/g).

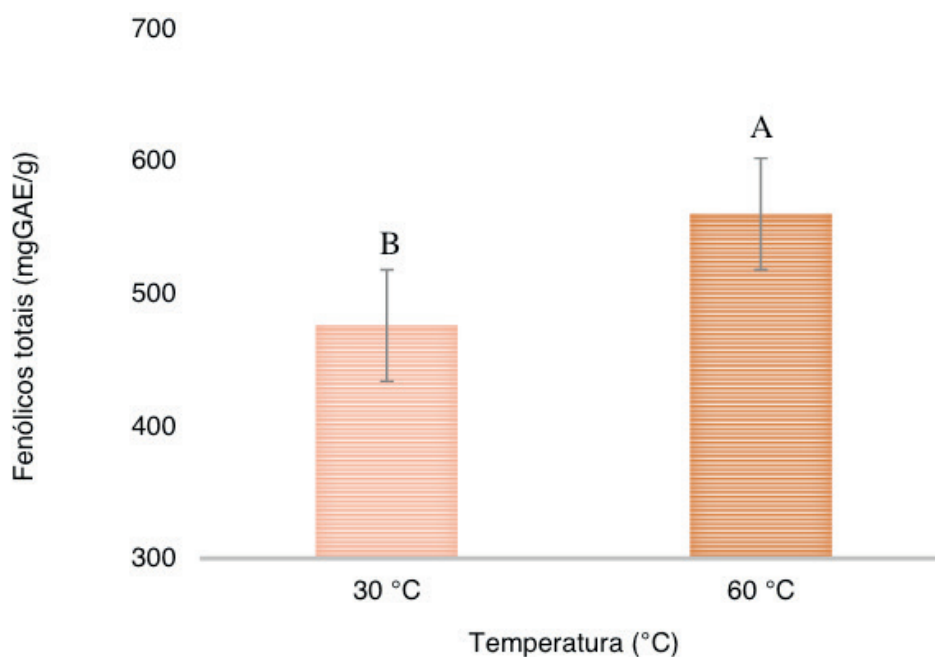


FIGURA 1: Fenólicos totais dos extratos obtidos em diferentes temperaturas de extração.

Resultados são expressos em Média ± DP (n=3).

GAE = equivalente ao ácido gálico

^{A,B}Letras maiúsculas iguais não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) entre as diferentes temperaturas testadas.

Em estudos de CACACE et al. (2002) o aumento da temperatura influenciou de forma positiva a extração de compostos fenólicos, pois aumentou sua solubilidade no solvente. TABARAKI et al. (2012) corrobora ao relatar que o aquecimento de extratos vegetais amolece o tecido da parede celular e hidrolisa os compostos fenólicos ligados. Em um estudo de CRUZ et al. (2013), ao analisarem diferentes

partes do fruto de atemoia, verificaram que o maior teor de compostos fenólicos estava presente na casca, quando comparado a polpa e semente.

3.2 Compostos flavonoides totais

O teor de flavonoides totais, assim como o teor de compostos fenólicos totais, foi influenciado pelo aumento da temperatura, como pode ser observado na Figura 2. Os flavonoides compreendem um grupo de compostos fenólicos amplamente distribuídos nas frutas e nos vegetais. Esses compostos agem como antioxidantes, não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em virtude de formar radicais intermediários estáveis, que podem impedir a oxidação de várias biomoléculas, particularmente de lipídios (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995).

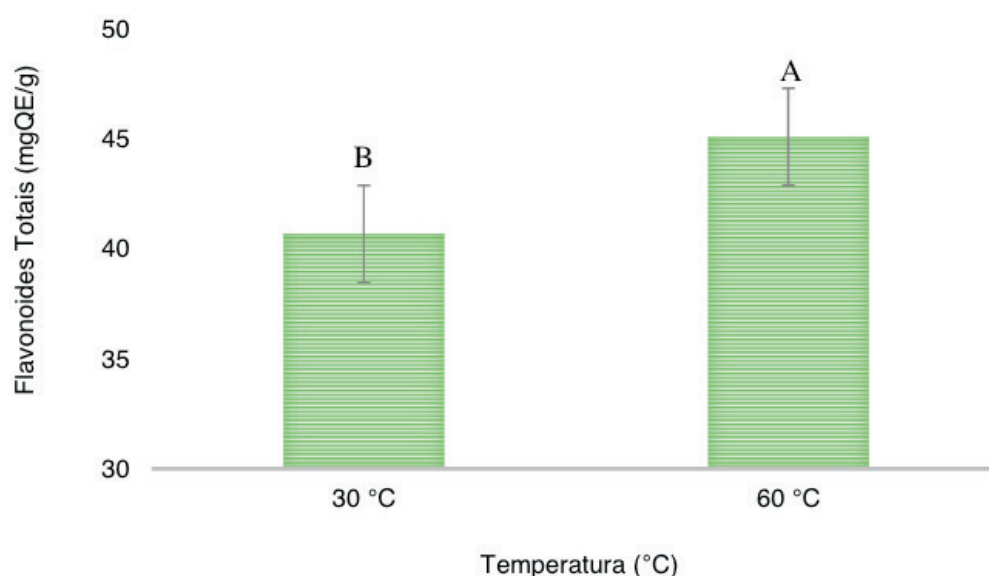


FIGURA 2: Flavonoides totais dos extratos obtidos em diferentes temperaturas de extração.

Resultados são expressos em Média \pm DP (n=3).

QE: equivalente a quercetina

^{A,B}Letras maiúsculas iguais não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) entre as diferentes temperaturas testadas.

3.3 Atividade antioxidante dos extratos obtidos

Diversas técnicas são utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, a fim de permitir a seleção de substâncias e matrizes puras com esta propriedade. No presente estudo, a atividade antioxidante dos extratos foi avaliada pelos seguintes métodos: DPPH e ORAC (Tabela 1).

Para atividade antioxidante pelo método DPPH, o aumento da temperatura de extração influenciou positivamente nos resultados obtidos, corroborando com o menor IC_{50} (0,82mg/mL). O efeito positivo do aumento da temperatura de extração na obtenção de compostos antioxidantes já foi relatado na literatura por diferentes

autores (GRUZ et al., 2013; SPIGNO; TRAMELLI; DE FAVERO, 2007). Isso ocorre devido ao aumento do coeficiente de difusão e da solubilidade das moléculas no solvente com a elevação da temperatura.

Atividade antioxidante	Temperatura	
	30 °C	60 °C
DPPH ($\mu\text{mol TEAC/g}$)	18,45 ^B ±1,88	41,36 ^A ±2,65
IC ₅₀ (mg/mL)	0,95 ^A ±0,26	0,82 ^B ±0,19
ORAC ($\mu\text{mol Trolox/g}$)	90,02 ^A ±1,47	66,88 ^B ±3,89

TABELA 1. Atividade antioxidante (DPPH), capacidade inibitória (IC₅₀) e capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) dos extratos obtidos em diferentes temperaturas de extração.

Resultados são expressos em Média ± DP (n=3).

TEAC = capacidade antioxidante equivalente ao trolox

^{A,B}Letras maiúsculas iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p>0,05$) entre as diferentes temperaturas testadas.

O IC₅₀ é um parâmetro usado para determinar o potencial antioxidante das plantas. Ele demonstra a quantidade de extrato da planta que é necessário para capturar em 50% o radical DPPH. Quanto maior o IC₅₀, maior será a concentração necessária para exercer a atividade antioxidante, dessa forma, um baixo IC₅₀ significa que a planta tem um grande poder antioxidante (NEGRI; POSSAMAI; NAKASHIMA, 2009).

A alta atividade antioxidante da casca de atemoia pode ser explicada pela elevada concentração de compostos fenólicos e flavonoides, que atuam como agentes redutores, sequestrantes de radicais livres, quelantes de metais e/ou desativadores do oxigênio singlete. Esses compostos têm se tornado de grande interesse, devido a suas propriedades benéficas a saúde, sendo alvo de muitos estudos (FERREIRA et al., 2016).

O ORAC é um método amplamente utilizado para investigar propriedades antioxidantes, embora poucos estudos foram conduzidos em resíduos de frutas (HUANG et al., 2002). Os valores encontrados neste estudo variaram de 60,88 a 90,02 $\mu\text{mol Trolox/g}$, sendo o maior valor encontrado na extração a 30°C, sugerindo que para esse método analítico os compostos antioxidantes sejam obtidos em menores temperaturas (Tabela 1). Tais resultados revelam o grande potencial antioxidante que a casca da atemoia possui, mas ainda não é aproveitado pela indústria alimentícia. Estudos de SONG et al. (2011), com diferentes espécies de camélia, planta rica em compostos antioxidantes, encontraram valores de 327,1 $\mu\text{mol Trolox/g}$ para *C. tunghinensis*, valor superior ao encontrado neste experimento.

4 | CONCLUSÃO

A extração assistida por ultrassom foi eficiente para obtenção de extratos de casca de atemoia ricos em compostos bioativos com alta atividade antioxidante. Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a temperatura de 60 °C apresentou maior quantidade de compostos extraídos. Considerando a importância econômica e nutricional do aproveitamento das partes usualmente desprezadas de frutas, a casca de atemoia pode ser considerada uma promissora fonte natural de obtenção de extratos ricos em compostos bioativos.

DECLARAÇÃO DE CONFLITOS DE INTERESSE

Não há conflitos de interesse a declarar.

REFERÊNCIAS

- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- BOEIRA, C.P.; PIOVESAN, N.; SOQUETTA, M.B.; FLORES, D.C.B.; LUCAS, B.N.; BARIN, J.S.; ROSA, C.S.; TERRA, N.N. Ultrasonic assisted extraction to obtain bioactive, antioxidant and antimicrobial compounds from marcela, **Ciência Rural**, v.48, n.6, p.e20170772, 2018.
- CACACE, J.E.; MAZZA, G. Extraction of anthocyanins and other phenolics from black currants with Sulfured Water. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p. 5939-5946, 2002.
- CRUZ, L.S.; LIMA, R.Z.; ABREU, C.M.P.; CORREA, A.D.C.; PINTO, L.M.A. Caracterização física e química das frações do fruto atemoia Gefner. **Ciência Rural**, v.43, n.12, p.2280-2284, 2013.
- DÁVALOS, A.; GÓMEZ-CÓRDOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Extending applicability of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC- Fluorescein) Assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52 p. 48-54, 2004.
- DONADIO, L. C. Situação atual e perspectivas das anonáceas. In: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B., MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H (Ed.). **Anonáceas: produção e mercado** (pinha, graviola, atemóia e cherimóia). Bahia: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. p. 1-4, 1997.
- FERRERA, T.S.; HELDWEIN, A.B.; DOS SANTOS, C.O.; SOMAVILLA, J.C.; SAUTTER, C.K. Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em erva-mate sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.18, n.2., p.588-596, 2016.
- GRUZ, A.P.G.; SOUSA, C.G.S.; TORRES, A.G.; FREITAS, S.P.; CABRAL, L.M.C. Recuperação de compostos bioativos a partir do bagaço de uva. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, n.4, p.1147-1157, 2013.
- HUANG, D.; OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J.A.; DEEMER, E.K. Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated β -cyclodextrin as the solubility enhancer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.7, p.1815-1821, 2002.
- LEMOS, E.E.P. The production of *annona* fruits in Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**,

Jaboticabal, v.36, p.77-85, 2014.

LIU, T.T.; CHAO, L.K.; PENG, C.W.; YANG, T.S. Effects of processing methods on composition and functionality of volatile components isolated from immature fruits of atemoya. **Food Chemistry**, v, 202, p. 176-183, 2016.

MARCELLINI, P.S.; CORDEIRO, C.E.; FARAO, A.S.; LIMA, A.S. Comparação físico-química e sensorial da atemoia com a pinha e a graviola produzidas e comercializadas no estado de Sergipe. **Alimentos e Nutrição**, v. 14, p. 187-187, 2003.

NEGRI, M.L.S.; POSSAMAI, J.C.; NAKASHIMA, T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa - *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, p.553-556, 2009.

OLIVEIRA, M. C.; FERREIRA, G.; GUIMARAES, V.F.; DIAS, G.B. Germinação de sementes de atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.) CV 'GEFNER' submetidas a tratamentos com ácido giberélico (GA₃) e ethephon. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 544-554, 2010.

PEREIRA, F.M.; KAVATI, R. Contribuição da pesquisa científica brasileira no desenvolvimento de algumas frutíferas de clima subtropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 92-108, 2011.

PIOVESAN, N.; VIERA, V.B.; MELLO, R.O.; SANTOS, R.C.V.; VAUCHER, R.A.; DRESSLER, V.L.; BIZZI, C.A.; FRIES, L.L.M. Microwave-assisted extraction of bioactive compounds from blueberry (*Vaccinium ashei* Reade) and their antioxidant and antimicrobial capacity. **International Food Research Journal**, v. 24, n.6, p.2526-2533, 2017.

ROESLER, R.; MALTA, L.G.; CARRASCO, L.C.; HOLANDA, R.B.; SOUSA, C.A.S.; PASTORE, G.M. Antioxidant activity of cerrado fruits. **Science and Food Technology**, v.27, p.53-60, 2007.

SCALOPPI-JÚNIOR, E.J.; MARTINS, A.B.G. Clonagem de quatro espécies de Annonaceae potenciais como porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 286-289, 2003.

SILVA, C.; GARCIA, V.A.S.; FRANCISCATO, L.M.S. Ultrasound Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Litchia Peels (*Litchi Chinensis* Sonn.), **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v.18, n.1, p. 81-96, 2016.

SILVA, M.B.; RAMOS, A.M. Composição química, textura e aceitação sensorial de doces em massa elaborados com polpa de banana e banana integral. **Revista Ceres**, v.56, p. 551- 554, 2009.

SONG, L.; WANG, X.; ZHENG, X.; HUANG, D. Polyphenolic antioxidant profiles of yellow camellia. **Food Chemistry**, v.129, n.2, p. 351-357, 2011.

SPIGNO, G.; TRAMELLI, L.; DE FAVERO, D. M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. **Journal of Food Engineering**, v. 81, p. 200-208, 2007.

TABARAKI, R.; HEIDARIZADI, E.; BENVIDI, A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punicagranatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. **Separation and Purification Technology**, v.98, p.16-23, 2012.

ZHISHEN J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v.64, p.555-559, 1999.

ZIBETTI, A.; AYDI, A.; LIVIA, M.A.; BOLZAN, A.; BARTH, D. Solvent extraction and purification of rosmarinic acid from supercritical fluid extraction fractionation waste: Economic evaluation and scale-up, **The Journal of Supercritical Fluids**, v.83, p.133-145, 2013.

FARELO DE MILHO: UM INGREDIENTE PARA DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS E PROCESSOS ALIMENTÍCIOS

Tainara Leal de Sousa

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, Rio Verde, Goiás.

Milena Figueiredo de Sousa

Faculdade Morgana Potrich, FAMP, Mineiros, Goiás

Rafaiane Macedo Guimarães

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, Rio Verde, Goiás.

Adrielle Borges de Almeida

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, Rio Verde, Goiás.

Mariana Buranelo Egea

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, Rio Verde, Goiás.

RESUMO: O milho é um cereal mundialmente conhecido e utilizado. A produção de derivados do milho da origem ao farelo de milho (FM) que é um coproduto de baixo valor agregado e que normalmente é subutilizado. O objetivo deste capítulo foi demonstrar o potencial de utilização do FM no desenvolvimento de novos produtos e no processo de fermentação. Foi possível perceber que o FM possui boa qualidade nutricional (alto valor de proteínas, fibras e ferro) e baixo valor de fatores antinutricionais. Assim,

o FM poderá ser utilizado na produção de pães e barra de cereais, e também na fermentação em estado sólido e submersa.

PALAVRAS-CHAVE: *Zea mays* L., pão, barra de cereal, fermentação

ABSTRACT: Corn is a worldwide known and used cereal. The production of corn products produce corn bran (CB) which is a low value-added co-product and which is normally underused. The purpose of this chapter was to demonstrate the potential use of CB in the development of new products and in the fermentation process. It was possible to notice that CB has good nutritional quality (high value of protein, fiber and iron) and low value of antinutritional factors. Thus, CB can be used in bread and cereal bar production, as well as in solid and submerged fermentation.

KEYWORDS: *Zea mays* L., bread, snack bar, fermentation.

1 | INTRODUÇÃO

Cereais têm um papel importante na nutrição humana, seja para o consumo direto ou para serem utilizados como matéria-prima para obtenção de farinha. O milho é um dos principais cereais produzidos mundialmente (VASCONCELOS et al., 2013), com destaque para a maior produção pelos Estados Unidos,

China e Brasil (USDA, 2017). Cultivado em diferentes sistemas produtivos, o milho é plantado principalmente nas regiões centro-oeste, sudeste e sul do Brasil e os três principais produtores nacionais são: Mato Grosso, Paraná e Goiás (IBGE, 2016).

O milho (*Zea mays* L.) é uma gramínea, pertencente à família Poaceae, subfamília Panicoideae do gênero *Zea*. Estima-se que tenha surgido a mais de 10 mil anos na região do México ou América Central (MAGALHÃES; SOUZA, 2012). Embora seja amplamente utilizado como alimento para o gado, forragem e silagem, o grão de milho é também importante como matéria-prima industrial, transformando-se em plástico, xaropes e álcool para biocombustíveis. Possui propriedades físico-químicas específicas, tais como elevado teor de amido, proteínas com um baixo teor de fração α -gliadina, sem glúten, lipídeos dietéticos, hipoalergênicos; compostos valiosos como flavonoides, oligoelementos, fibras alimentares; e sabor agradável (WÓJTOWICZ; KOLASA; MOSCICKI, 2013). Na produção de alimentos, o milho pode ser industrializado como pipoca, polenta, tortillas, cereais matinais, salgadinhos, produtos de panificação, farinha de milho, massas, grits cervejeiro, fubá e flocos (HÄNSCH; MENDEL, 2009).

Com a expansão do mercado global de milho, há produção de grande quantidade do farelo de milho (FM), que é um coproduto oriundo de partículas do grão através do processamento industrial (moinho seco) ou amido limpo (moinho úmido) (DAS; SINGH, 2015). São considerados coprodutos os resíduos de baixo valor financeiro gerados pela indústria através do processamento de grãos, que são subutilizados ou são descartados de forma inadequada. O aproveitamento dos coprodutos é muito limitado, devido ao desconhecimento de sua composição nutricional e falta de dados sobre o desempenho deles na nutrição e na produção de alimentos (LITZ et al., 2014).

O FM tem sido tradicionalmente utilizado na alimentação animal, porém, pode apresentar aplicações alimentares que é rico em fibra dietética (76-90 %) e apresenta elevado teor de amido (ROSE et al., 2010). Além disso, o FM pode fornecer propriedades funcionais importantes como alta capacidade de retenção de água, característica atribuída ao alto teor de fibra alimentar, e pode com isso proteger o corpo humano contra os efeitos nocivos dos compostos mutagênicos fecais (SINGH; LIU; VAUGHN, 2012).

A recente escassez global de alimentos tem justificado a utilização do FM para o consumo humano (SIDDIQ et al., 2009). Assim, a incorporação de FM em alimentos que atualmente são a base de trigo poderá elevar o seu conteúdo de fibras, como aconteceu com muffins (WILLIS et al., 2009), macarrão (SHARMA et al., 2012) e biscoitos tipo cookie (CASTRO et al., 2011).

O aproveitamento racional dos coprodutos agroindustriais, tanto na alimentação animal quanto humana, pode se constituir uma alternativa de grande valia na redução dos custos, além de permitir destino mais apropriado aos mesmos, e proporcionar aos consumidores alimentos com maior valor nutricional. Desta forma, a utilização

de coprodutos da agroindústria tem importância sob o ponto de vista econômico, nutricional e ambiental.

No entanto, existe aparente falta de informação fundamental sobre as características químicas, físico-químicas e reológicas do FM. Objetivou-se demonstrar neste capítulo o potencial do coproduto FM como nova fonte de nutrientes na dieta humana, avaliando suas possíveis aplicações.

2 | FARELO DE MILHO: PROCESSAMENTO E FATORES NUTRICIONAIS

Segundo Das e Singh (2015), o grão de milho é dividido em três frações, sendo: pericarpo, gérmen e endosperma (9,17, 12,43 e 78,36%, respectivamente). O milho é composto por carboidratos (68-73%), principalmente sob a forma de amido, com quantidades substanciais de proteína (8-12%), lipídios, vitaminas, minerais e fibra bruta (0,8-2,5%) (JAYARAM; KAPOOR; DHARMESH, 2015).

A industrialização do grão de milho é feita através de dois processos de moagem: via úmida e via seca. Na via seca, a mais utilizada no Brasil, o milho após limpeza e secagem, é degerminado e separado em endosperma, germe, e película/pericarpo, e a mistura do gérmen e da película dá origem ao farelo de milho (FM) (Figura 1), que pode ser desengordurado, ou rico em lipídeos (PRADO; PRADO, 2012).

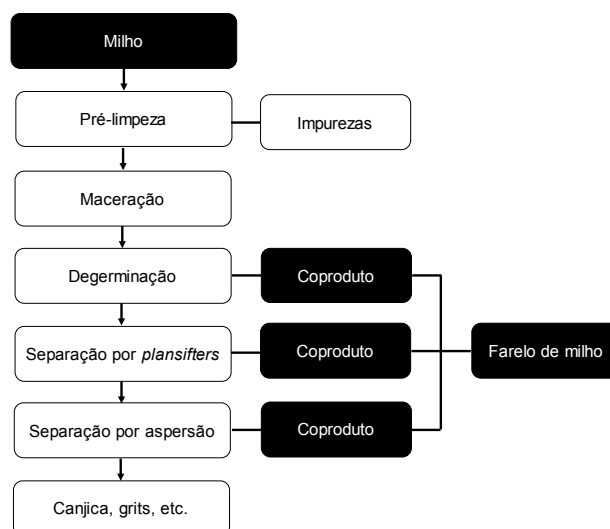


Figura 1. Processamento de grãos de milho por via seca com condicionamento

Como o farelo de milho é a combinação de várias etapas do processo, a partir de agora trataremos de frações que são na verdade a divisão do FM por tamanho de partículas (granulometria) (Figura 2).



Figura 2. Farelo de milho após a separação em peneiras, da esquerda para a direita as frações 2,0 (F5), 1,0 (F4), 0,5 (F3), 0,250 (F2) e 0,125 (F1) mm

As frações de FM apresentaram diferentes perfis: F5 maior teor de fibra alimentar (42%), F4 apresentou o maior teor de umidade (11%), F3 apresentou a maior proteína conteúdo (13%) e F2 apresentou o maior teor de cinzas (3,47%). Quanto às propriedades de absorção na água, leite e óleo, F3, F4 e F5 apresentaram os maiores valores, enquanto F1 e F2 apresentaram a maior solubilidade em água, além de atividade espumante e emulsificante. Quanto às propriedades de absorção na água, leite e óleo, F3, F4 e F5 apresentaram os maiores valores, enquanto F1 e F2 apresentaram a maior solubilidade em água, além de atividade espumante e emulsificante (SOUSA et al., 2019).

Naves et al. (2011) avaliaram a qualidade nutricional e proteica do gérmen de milho em relação ao milho, e constataram maiores teores de proteínas, lipídeos, fibra alimentar, cinzas, minerais (Fe, Zn e Ca) e lisina no gérmen. A fibra de milho é considerada uma rica fonte fibra dietética e substâncias antioxidantes, dentre elas, o ácido ferrúlico que atua como potente antioxidante e proteção contra a oxidação lipídica, favorecendo o estado de saúde de indivíduos (BAUER et al., 2013). Os produtos alimentícios, incluindo a farinha de milho, farelo de milho, grãos secos são utilizados como importantes fontes alternativas de proteína (LIU; PAN, 2017).

Na Tabela 1, estão apresentados os resultados de pH, acidez titulável, açúcares totais e redutores, compostos fenólicos totais, carotenoides e atividade antioxidante pelo método de DPPH das frações de FM. Pode-se verificar que as frações F1 e F2 apresentam pH mais elevados (6,18 e 6,19, respectivamente). A fração com menor valor de pH foi a F5 com 5,37. Desta forma, as frações com menores granulometrias apresentaram pH mais altos.

Foi possível verificar que as frações F1, F2 e F3 apresentam a acidez mais elevada, sem diferença significativa entre elas. As maiores frações demonstraram menores teores de acidez, sendo 1,77 (F5) e 1,53 (F4) NaOH 100 g⁻¹. A acidez encontrada em três frações (F2, F2 e F3) do farelo estão acima do que é recomendado para farinha pela legislação brasileira (2 mL NaOH 100 g⁻¹), que indica que a farinha apresenta boa qualidade (BRASIL, 1978). A avaliação da acidez em alimentos é importante porque através dela podem obter dados sobre o processamento e o estado de conservação, visto que teores elevados indicam provável contaminação microbiológica (ANDRADE et al., 2015).

O método pelo reagente ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) com curva padrão de glicose foi usado para a dosagem de açúcares totais e redutores. Assim como ocorreu com o pH, as quantidades mais elevadas de açúcares totais (Tabela 1) foram encontradas nas menores granulometrias do farelo de milho, com valores de 7,99; 8,75 e 7,42 g 100g⁻¹ para as frações F1; F2 e F3, respectivamente. O maior teor de açúcares redutores foi encontrado na F2 (8,33 g 100g⁻¹) e menores quantidades foram encontradas na F4 (2,69 g 100g⁻¹) e F5 (2,40 g 100g⁻¹).

	F1	F2	F3	F4	F5
pH	6,19±0,02 ^a	6,18±0,01 ^a	6,04±0,00 ^b	5,63±0,01 ^c	5,37±0,02 ^d
Acidez total titulável (g NaOH 100 g ⁻¹)	2,25±0,41 ^{ab}	2,61±0,02 ^a	2,77±0,21 ^a	1,77±0,60 ^{bc}	1,53±0,09 ^b
Açúcares totais (g 100g ⁻¹)	7,99±0,03 ^b	8,75±0,04 ^a	7,42±0,01 ^b	5,24±0,02 ^c	4,06±0,02 ^d
Açúcares redutores (g 100g ⁻¹)	7,14±0,02 ^b	8,33±0,03 ^a	6,46±0,01 ^c	2,69±0,00 ^d	2,40±0,00 ^d
CFT (aquoso) (mg EAG 100 g ⁻¹)	27,00±3,78 ^c	57,03±2,96 ^a	56,73±0,93 ^a	59,92±0,48 ^a	34,25±0,50 ^b
CFT (etanólico) (mg EAG 100 g ⁻¹)	66,28±5,38 ^a	72,70±1,67 ^a	40,89±1,67 ^c	53,09±4,35 ^b	49,31±1,55 ^{bc}
Carotenoides Totais (μg g ⁻¹)	3,56±0,39 ^c	3,84±0,23 ^c	6,47±0,22 ^{ab}	4,79±0,40 ^{bc}	7,68±1,27 ^a
Atividade antioxidante (μg mL ⁻¹)	0,183±0,01 ^a	0,189±0,00 ^a	0,162±0,02 ^{ab}	0,153±0,01 ^b	0,151±0,01 ^b

Tabela 1. Composição química das frações de farelo de milho (SOUSA, 2017)

Valores constituem média ± desvio-padrão de três amostras. Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p>0,05).

Os compostos fenólicos totais (CFT) foram avaliados pela metodologia de Waterhouse (2002) com extrações em solução aquosa e etanólica. Em solução aquosa, o teor de CFT foi maior no F4, F2 e F3 (59,92; 57,03 e 56,73 mg EAG 100 g⁻¹, respectivamente) do que nas outras frações. Já a F5 e F1 apresentaram menores teores de CFT, diferindo significativamente (p<0,05) com as outras frações, sendo a F1 com nível mais baixo (27,00 mg EAG 100g⁻¹).

Foi possível verificar que com a extração etanólica, as frações F2, F1 e F4 obtiveram maiores valores de CFT (72,70; 66,28 e 53,09 mg EAG 100g⁻¹,

respectivamente) sem diferença significativa entre elas. A F3 apresentou menores teores de CFT, apresentando diferença significativa com as demais frações avaliadas. Foi possível verificar que o perfil entre os valores de CFT de acordo com o tipo de extrato utilizado mostraram-se diferentes. Lopez-Martinez et al. (2009) encontrou maiores teores de compostos fenólicos totais, em seu estudo com 18 fenótipos de milho americano encontrou níveis de fenólicos entre 136-272 mg EAG 100 g⁻¹ em farinha de milho.

As frações que apresentaram maiores valores de carotenoides foram F5, F3 e F4 com 7,68; 6,47 e 4,79 µg g⁻¹, respectivamente. As frações com maior granulometria (F1 e F2) foram as que demonstraram menores teores de carotenoides, entretanto, todas as frações apresentaram valores acima dos que encontrados por Ndolo e Beta (2013) em gérmen de milho (3,19 µg g⁻¹).

Zilic et al. (2015) mostraram a variação de carotenoides no milho, que foi de 20 µg g⁻¹ em milho branco a 24 µg g⁻¹ em milho amarelo e esses resultados são superiores aos encontrados para farelo de milho. Pesquisas têm comprovado a importância dos carotenoides como potente antioxidante e na redução do risco de desenvolvimento de diversas doenças relacionadas à oxidação lipídica (MONEGO; ROSA; NASCIMENTO, 2017).

Em relação a atividade antioxidante total pelo método de sequestro de radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), observou-se que as frações com menor granulometria obtiveram maiores resultados para esta análise, sendo 0,183 µg mL⁻¹, 0,189 µg mL⁻¹ e 0,162 µg mL⁻¹ para F1; F2 e F3, respectivamente. Conforme a granulometria das frações diminuiu foi possível perceber que houve a diminuição da atividade antioxidante. Enquanto isso, Almeida et al. (2019) relataram 416,10 µM Trolox g⁻¹ para farelo de milho utilizando o método de sequestro do radical ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico (ABTS). Compostos antioxidantes naturais podem ajudar a proteger e retardar a causa da diabetes e da artrite, incluindo o controle do peso e aceleração do metabolismo no corpo (CHACKO et al., 2010).

O FM mostrou teores significativos em compostos fenólicos e minerais, todas as frações apresentaram quantidades insignificantes de fatores antinutricionais, tornando viável a utilização desse coproduto pela indústria de alimentos (SOUSA et al., 2019). Assim, as frações de milho mostraram-se com potencial para aplicação em alimentos, demonstraram possuir composições químicas e nutricionais que viabilizam suas utilizações na dieta humana e na indústria de alimentos, podendo contribuir como fontes alternativas de nutrientes e substâncias bioativas.

3 | USO DE FARELO DE MILHO NO DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS

A utilização do coproduto farelo de milho, na alimentação humana, pode melhorar o valor nutricional de produtos alimentícios, atendendo a grande tendência

do momento que é a procura de produtos enriquecidos com substâncias que possuam compostos bioativos, principalmente pela conscientização dos consumidores quanto a qualidade de alimentação e a sua influência na saúde (CASTRO et al., 2011).

As barras de cereais são classificadas como produto de confeitaria, com formato retangular, vendida em embalagens individuais, é um mercado que tem cada vez mais demonstrado crescimento (DEODATO et al., 2015). Para a elaboração de barras de cereal deve-se levar em consideração alguns fatores, como o tipo de cereal, o carboidrato apropriado, o enriquecimento com nutrientes e fibras, com a finalidade de otimizar o sabor e tempo de prateleira (GUTKOSKI et al., 2007).

A fração F4 apresentou elevado valor nutricional e foi aplicada no desenvolvimento de uma barra de cereal, com a variação do farelo de milho em diferentes proporções (SOUSA et al., 2019). Foram produzidas cinco barras em 0 (BC0), 10 (BC10), 25 (BC25), 40 (BC40) e 55 (BC55) % de FM em relação ao total de sólidos da formulação. As barras de cereais produzidas foram analisadas quanto a composição centesimal, gorduras saturadas e trans, sódio, características físicas e sensoriais. Os resultados encontrados nas análises químicas demonstraram que as formulações com as maiores proporções de FM apresentam maiores quantidades de fibra alimentar. As formulações com menores quantidades de FM apresentavam maiores teores de carboidratos, sendo que as barras BC0, BC10, BC25, BC40 e BC55 apresentaram quantidades de 79,42; 77,01; 75,16; 73,16 e 70,27 g 100g⁻¹ respectivamente, a B55 apresentou maior conteúdo de cinzas (1,22 g 100g⁻¹) e BC0 e BC10 maior valor calórico. O aumento da proporção do FM nas barras de cereais resultou em maior dureza. A avaliação sensorial demonstrou que as barras de cereais diferiram em relação a preferência foram as de BC0 e BC55, as demais não apresentaram diferença significativa. Pode-se perceber que as barras de cereais com FM apresentaram valores nutricionais elevados e importantes para a saúde (SOUSA et al., 2019).

Em outro trabalho do nosso grupo, o FM foi utilizado na produção de pão sem glúten. Desenvolver pães sem glúten é um desafio, já que a rede de glúten é responsável por grande parte das características sensoriais esperadas pelo consumidor. O pão destaca-se como um produto que pode ser enriquecido com ingredientes para fornecimento de nutrientes ou componentes especiais. Os coprodutos agroindustriais são fontes ricas de ingredientes funcionais, e suas composições químicas sugerem grande potencial como matéria-prima para a indústria alimentícia. No trabalho de Guimarães et al., (2019), objetivou-se desenvolver pães isentos de glúten utilizando diferentes proporções de farinha de okara (FO, 10-30 %) e farelo de milho (FM, 15-45 %), e caracterizá-los por meio das análises microbiológicas, físicas, tecnológicas, perfil sensorial, teste de preferência e composição proximal. Foram desenvolvidas cinco formulações de pães sem glúten que apresentaram segurança microbiológica e características tecnológicas satisfatórias. O maior teor de FO e menor teor de FM resultou em produtos com menor altura das fatias, menor volume específico,

maior firmeza e maior umidade, mas não teve efeito na preferência dos produtos pelos consumidores. O perfil sensorial indicou diferenças apenas na cor, porosidade, compactação, sabor de milho e umidade dos produtos, sendo que o aumento na FO e diminuição da FM resultou em produtos menos amarelados, com menor intensidade de sabor de milho e tamanho de poro, e maior umidade e compactação. O teste de intenção de compra indicou que 90 % dos provadores certamente comprariam uma das cinco formulações de pães sem glúten avaliadas. A composição proximal revelou que os teores de FM e FO influenciaram positivamente no conteúdo nutricional dos pães sem glúten, pois as formulações com maior proporção de FM e FO (F3 e F4) apresentaram os maiores teores de proteína, fibra alimentar e isoflavonas. Com este trabalho concluiu-se que os coprodutos okara e farelo de milho podem ser utilizados como ingredientes na preparação de pães sem glúten com características físicas, químicas, tecnológicas e sensoriais adequadas.

Foi possível perceber que o FM pode ser adicionado em novos produtos como ingrediente contribuindo principalmente com o teor de fibras, proteínas e ferro. A quantidade a ser adicionada deverá ser estudada para cada produto em específico.

4 | USO DE FARELO DE MILHO EM PROCESSOS FERMENTATIVOS

Atualmente, o conceito de biorrefinaria tem se difundido e nele busca-se a indicação de tecnologias que visem o aproveitamento integral da matéria-prima como fonte de macromoléculas a exemplo da celulose, hemicelulose, lignina, pectina, taninos, amido, ácidos graxos, colágeno, quitosana, corantes naturais e outros constituintes químicos, em produtos processados com valor agregado (energia, produtos químicos, bio-materiais e alimentos). A utilização dos coprodutos agroindustriais neste processo é de grande importância, diminuindo o impacto ambiental gerado e aumentando o valor agregado (FERNANDO et al., 2006, PANDEY, 2003). O farelo de milho (FM) é o coproduto mais abundante e de menor valor agregado do processo industrial de moagem de milho, apesar de conter grandes quantidades de conteúdo de polissacarídeo com quantidades marginais de lignina (YADAV et al., 2016) que poderia ser importante em processos fermentativos.

A maioria dos polissacarídeos vegetais como o FM não pode ser digerido diretamente por enzimas em humanos e animais monogástricos, mas eles podem ser degradados por comunidades bacterianas do cólon (SONNENBURG; SONNENBURG, 2014). Diversas tecnologias de processamento, como a fermentação em estado sólido (FES), têm sido aplicadas não só ao FM, mas também aos demais coprodutos da indústria, como um esforço para melhorar o valor nutritivo e aumentar a sua utilização (LIU et al., 2017).

Almeida et al. (2019) avaliou a fermentação do FM utilizando *Monascus purpureus* para obter pigmentos. Foram realizadas as análises de cor em espectrofotômetro

(L^* , a^* , b^*) e calculados croma e hue com a variação de tempo (4, 8, 12 e 16 dias), proporção de inóculo (10^5 , 10^6 e 10^7 esporos por mL) e temperatura (16, 24 e 32 °C). A composição proximal do FM e farelo de milho fermentado (FMF) foi avaliada através das análises de lipídeos, carboidratos, teor de água, cinzas e proteínas, posteriormente sendo calculado o valor calórico. Foram avaliadas as propriedades tecnológicas: capacidade de absorção em água, atividade emulsificante e solubilidade em água. Assim, para evitar a reprodução assexuada de *M. purpureus* e para a produção de novo ingrediente com cor vermelha, foram utilizados 10^5 esporos/mL de *M. purpureus* a 32 °C por 16 dias na FES. Os resultados de cor obtidos evidenciam que durante a reprodução assexuada houve inibição dos pigmentos. Comparando o FM e o FMF quanto a composição centesimal houve aumento na quantidade de lipídeos e diminuição dos carboidratos, elucidando como ocorre o metabolismo primário do *M. purpureus*. Não houve diferença estatística entre a atividade emulsificante e solubilidade em água do FMF (ALMEIDA et al., 2019).

Em complemento a este trabalho, avaliou-se a fermentação submersa utilizando *Monascus purpureus* para produção de pigmentos tendo como substrato o FM. A determinação da melhor condição de fermentação foi realizada um delineamento experimental com 11 tratamentos e diferentes proporções de FM e peptona. A extração dos pigmentos foi realizada com auxílio vortex e bomba a vácuo e quantificados em espectrofotômetro, submetidos a infravermelho e estabilidade em diferentes pHs. O FM e os pigmentos foram avaliados também quanto a capacidade antioxidante (métodos DPPH, FRAP e ABTS). O delineamento resultou no tratamento com 30 g L⁻¹ de peptona e 42,5 g L⁻¹ de FM. Durante a cinética no sexto dia a produção de pigmentos já a mesma do vigésimo dia e por isso, a fermentação foi parada neste dia. Os pigmentos extraídos apresentaram estabilidade térmica e a pH > 5,0. Os pigmentos extraídos apresentaram maior atividade antioxidante que o FM utilizado (ALMEIDA, 2019).

Ainda, utilizando-se a FES no substrato resíduo de caju (*Anacardium othonianum* Rizz) com FM para a fermentação com o fungo *Rhizopus oligosporus* foi possível comparar e observar a evolução dos coprodutos em diferentes concentrações para compostos fenólicos, atividade antioxidante avaliados pelos ensaios de DPPH, ABTS e FRAP e proteínas. Neste caso, o resíduo de caju foi mais eficiente em aumentar a atividade antioxidante, no entanto, a substituição de 25% deste substrato por FM não mostrou diferença significativa com o tratamento contendo 100% de resíduo de caju (SOUSA, 2019, resultados não publicados).

5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível perceber que o farelo de milho pode ser aplicado em produtos de panificação, em barras de cereais, assim como ser utilizado como substrato para a

fermentação utilizando micro-organismo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o auxílio financeiro da CAPES, CPNq, FAPEG e IF Goiano.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. B. **Aproveitamento de subproduto agroindustrial (farelo de milho) para obtenção de pigmentos naturais através da fermentação submersa e sólida com *Monascus purpureus***. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Agroquímica). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano. Rio Verde, 2019. 63p.
- ALMEIDA, A. B.; LIMA, T. M.; SANTANA, R. V.; SANTOS, S. C.; EGEA, M. B. An alternative for corn bran byproduct: fermentation using *Monascus purpureus*. **Nutrition & Food Science**, 2019.
- ANDRADE, L. A.; NAGATA, C. L. P.; ASSUMPCÃO, G. M. P.; GONÇALVES, G. A. S. PEREIRA, J. Demucilated taro corn flour used in cake preparation. **Científica**, v. 43, n. 3, p. 203-214, 2015.
- BAUER, J. L.; HARBAUM-PIAYDA, B.; STOCKMANN, H.; SCHWARZ, K. Antioxidant activity of corn fiber and wheat bran extracts and derivatives. **Food Science and Technology**, v. 50, p.132-138, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância Sanitária. Aprova normas técnicas especiais do estado de São Paulo, relativa a alimentos e bebidas. **Resolução da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos CNNPA n. 12, D.O.U. de 24 de julho de 1978**. Seção 1, pt.11.528. Acesso: <https://sogi8.sogi.com.br/Arquivo/Modulo113.MRID109/Registro4760/documento%201.pdf>. Acesso em 03 Agosto de 2019.
- CASTRO, M. V. L.; MENDONÇA, A. L.; SANTOS, G. G.; FROES, L. O.; FREITAS, J. B.; NAVES, M. M. V. Fração gérmen com pericarpo de milho na alimentação humana: qualidade nutricional e aplicação tecnológica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 2, p. 213-219, 2011.
- CHACKO, S. M.; THAMBI, P. T.; KUTTAN, R.; NISHIGAKI, I. Beneficial effects of green tea: A literature review. **Chinese Medicine**, v. 5, p. 1–9, 2010.
- DAS, A. K. SINGH, V. Antioxidative free and bound phenolic constituents in pericarp, germ and endosperm of Indian dent (*Zea mays* var. indentata) and flint (*Zea mays* var. indurata) maize. **Journal of Functional Foods**, v. 13, p. 363-374, 2015.
- DEODATO, J. N. V.; ARAÚJO, A. S.; SEVERO, D. S.; SILVA, C. C. M.; ALVES, G. S. Produção e avaliação da qualidade das barras de cereais elaborada com farinha de facheiro. **Revista Verde**, v. 10, n. 3, p. 42-46, 2015.
- FERNANDO, S.; ADHIKARI, S.; CHANDRAPAL, C.; MURALI, N. Biorefineries: Current Status, Challenges, and Future Direction. **Energy & Fuels**, v. 20, p. 1727-1737, 2006.
- GUIMARÃES, R. M.; PIMENTEL, T. C.; REZENDE, T. A. M.; SILVA, J. S.; FALCÃO, H. G.; IDA, E. I.; EGEA, M. B. Gluten-free bread: effect of soy and corn co-products on the quality parameters. **European Food Research And Technology**, v. 246, p. 1-12, 2019.
- GUTKOSKI, L. C.; BONAMIGO, J. M. A.; TEIXEIRA, D. M. F.; PEDO, I. 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.

HANSCH, R., MENDEL, R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p. 259-266, 2009.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Indicadores. Agropecuária. Produção Agrícola**. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgr_201706.pdf Acesso em 13/07/2017.

JAYARAM, S.; KAPOOR, S.; DHARMESH, S. M. Pectic polysaccharide from corn (*Zea mays* L.) effectively inhibited multistep mediated cancer cell growth and metastasis. **Chemico-Biological Interactions**. v. 235, 63–75, 2015.

LITZ, F. H.; FERNANDES, E. A.; PIMENTA, C. C.; FAGUNDES, N. S.; FERREIRA, I. C.; GONÇALVES, M. F. Avaliação bromatológica e digestibilidade “in vitro” de rações para bovinos formuladas com coprodutos da indústria do milho e do ácido cítrico. **Veterinária Notícias**, v. 20, n. 2, p. 42-47, 2014.

LIU, P.; ZHAO, J.; GUO, P.; LU, W.; GENG, Z.; LEVESQUE, C. L. Dietary corn bran fermented by *Bacillus subtilis* ma139 decreased gut cellulolytic bacteria and microbiota diversity in finishing pigs. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.7, p. 256, 2017.

LIU, Z.; PAN, J. A practical method for extending the biuret assay to protein determination of corn-based products. **Food Chemistry**, v. 224, p. 289–293, 2017.

LOPEZ-MARTINEZ, L. X., OLIART-ROS, R. M., VALERIO-ALFARO, G., HSIEN, C. L., PARKIN, K. L., GARCIA, H. S. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. **LWT - Food Science and Technology**, v.42, p. 1187-1192, 2009.

MAGALHÃES, P. C.; SOUZA, T. C. Cultivo do Milho. **Sistema de Produção Embrapa** (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa.) 8ª ed., 2012.

MONEGO, D. L.; ROSA, M. B.; NASCIMENTO, P. C. Applications of computational chemistry to the study of the antiradical activity of carotenoids: A review. **Food Chemistry**, v. 217 p. 37–44, 2017.

NAVES, M. M. V.; CASTRO, M. V. L.; MENDONÇA, A. L.; SANTOS, G. G.; SILVA, M. S. Corn germ with pericarp in relation to whole corn: nutrient contents, food and protein efficiency, and protein digestibility-corrected amino acid score. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 1, p. 264-269, 2011.

NDOLO, V. U. BETA, C. Distribution of carotenoids in endosperm, germ, and aleurone fractions of cereal grain kernels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 139, p. 663-671, 2013.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v.13, p.81-84, 2003.

PRADO, E. V.; PRADO, F. M. T. Viabilidade econômica da secagem do farelo de milho degerminado usando GLP. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 21, n. 1, p. 38-45, 2012.

ROSE, D. J.; INGLETT, G. E.; LIU, S.X. Utilisation of corn (*Zea mays*) bran and corn fiber in the production of food components. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 915–924, 2010.

SHARMA, S.; GUPTA, J.; NAGI, H.P.S.; KUMAR, R. Effect of incorporation of corn by-products on quality of baked and extruded products from wheat flour and semolina. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 580-586, 2012.

SIDDIQ, M., NASIR, M., RAVI, R., BUTT, M. S., DOLAN, K. D., HARTE, J.B. Effect of defatted maize germ flour addition on the physical and sensory quality of wheat bread. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 464–470, 2009.

SINGH, M.; LIU, S. X.; VAUGHN, S. F. Effect of corn bran as dietary fiber addition on baking and sensory quality. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**; v. 1, p. 348-352, 2012.

SONNENBURG, E. D., SONNENBURG, J. L. Starving our microbial self: the deleterious consequences of a diet deficient in microbiota-accessible carbohydrates. **Cell Metabolism**, v. 20, p. 779–786, 2014.

SOUSA, M.F. **Aproveitamento de coproduto de milho (Zea mays) para produção de barra de cereal**. Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano. Rio Verde, 2017. 73f.

SOUSA, M. F.; GUIMARÃES, R. M.; ARAÚJO, M. O.; BARCELOS, K. R.; CARNEIRO, N. S.; LIMA, D. S.; SANTOS, D. C.; BATISTA, K. A.; FERNANDES, K. F.; LIMA, M. C. P. M.; EGEA, M. B.. Characterization of corn (*Zea mays* L.) bran as a new food ingredient for snack bars. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 101, p. 812-818, 2019.

USDA, 2017-a. **Oilseeds: World Marktes and Trade**. United States Department of Agriculture. <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf> (accessed 13.07.17).

VASCONCELOS, M. C. B. M.; BENNETT, R.; CASTRO, C.; CARDOSO, P.; SAAVEDRA, M. J.; ROSA, E. A. Study of composition, stabilization and processing of wheat germ and maize industrial by-products. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 292– 298, 2013.

WATERHOUSE, A.L. **Polyphenolics: Determination of total phenolics**. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*; Wrolstad R.E., Ed., John Wiley & Sons: New York, US, 2002; pp. I1.1.1–I1.1.8.

WILLIS, H.J.; ELDRIDGE, A.L.; BEISELGEL, J.; THOMAS, W.; SLAVIN, J.L. Greater satiety response with resistant starch and corn bran in human subjects. **Nutrition Research**, 29:100-105, 2009.

WÓJTOWICZ, A., KOLASA, A., MOSCICKI, L. Influence of buckwheat addition on physical properties, texture and sensory characteristics of extruded corn snacks. **Polish Journal of Food and Nutrition Science**, v. 63, p. 239-244, 2013.

YADAV, M. P.; HICKS, K. B.; JOHNSTON, D. B.; HOTCHKISS, A.; CHAU, H. K.; HANAH, K. Production of bio-based fiber gums from the waste streams resulting from the commercial processing of corn bran and oat hulls. **Food Hydrocolloids**, v. 53, p. 125-133, 2016.

ZILIC, S.; DELIC, N.; BASIC, Z.; IGNJATOVIĆ-MICIĆ, D.; JANKOVIĆ, M.; JANKOVIĆ, J. Effects of alkaline cooking and sprouting on bioactive compounds, their bioavailability and relation to antioxidant capacity of maize flour. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 54, n. 2, p. 155–164, 2015.

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FILMES BIOPOLIMÉRICOS CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE OURO

Maicon Roldão Borges

Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande, Rua Barão do Caí, 125- Campus Santo Antônio da Patrulha – CEP: 95500-000 – Santo Antônio da Patrulha – RS – Brasil

Carla Weber Scheeren

Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande, Rua Barão do Caí, 125- Campus Santo Antônio da Patrulha – CEP: 95500-000 – Santo Antônio da Patrulha – RS – Brasil e-mail: (carlascheeren@gmail.com)

RESUMO: Nanopartículas de Au foram sintetizadas pela redução do complexo *tetracloroáurico* triidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) em líquido iônico *hexafluorofosfato de 1-n-butil-3-metil-imidazólio* (BMI.PF₆) usando boroidreto de sódio como redutor em temperatura ambiente. Posteriormente as nanopartículas de Au obtidas foram suportadas em filmes biopoliméricos, utilizando-se solução de acetato de celulose dissolvido em acetona. Os filmes biopoliméricos contendo nanopartículas de Au suportadas foram aplicados na investigação da atividade antimicrobiana frente às bactérias *E.Coli* e *S. Aureus*.

PALAVRAS-CHAVE: Filmes biopoliméricos, Nanopartículas de Au, Líquido iônico, Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT: Au nanoparticles were synthesized by reduction of tetrachloroauric trihydrate complex ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) in hexafluorophosphate 1-*n*-butyl-3- methyl-imidazolium ionic liquid (BMI.PF₆) using sodium borohydride as reducing agent at room temperature. Subsequently, the Au nanoparticles obtained were supported in biopolymeric films using solution of cellulose acetate dissolved in acetone. The biopolymeric films containing Au nanoparticles supported were applied in investigation of antimicrobial activity against bacteria *E.coli* and *S. aureus*.

KEYWORDS: Biopolymeric films, Au nanoparticles, Ionic Liquid, Antimicrobial activity.

1 | INTRODUÇÃO

Multidisciplinar a nanociência tem potencial de aplicação em diferentes áreas como: alimentos, biologia, física, química e engenharia.¹ A combinação de nanopartículas (NPs) metálicas e filmes biopoliméricos com atividade antibacteriana têm sido muito estudados, os quais exibem grande atividade tóxica frente a bactérias e outros microorganismos, como fungos e também o sistema humano.²⁻⁹ NPs metálicas são capazes de incapacitar micróbios através da interação com algumas enzimas, proteínas e/ou DNA, inibindo a proliferação celular ou divisão celular.

Para estas aplicações, NPs têm sido suportadas em biopolímeros em várias formas (por ex. cateteres, material dentário, dispositivos médicos, implantes e curativos para queimaduras) com o objetivo de proteger contra a contaminação microbiana. Para aplicações médicas, o acetato de celulose (AC) é um bom candidato, porque este polímero é hidrofílico, não tóxico, biodegradável e renovável.¹⁰ Podemos citar um exemplo, onde tecido de algodão foi usado como suporte para NPs de prata (41 ± 7 nm) com efeito antimicrobiano em bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e gram-negativas (*Escherichia coli*). Filmes biopoliméricos de acetato de celulose semipermeáveis foram utilizados como suporte para NPs de Pt e Au.¹¹ Entretanto, um filme polimérico pode exibir outras vantagens adicionais como um material com maior capacidade de imobilização e seletividade, redução no tamanho de partícula, prevenção da aglomeração das NPs e estabelecimento de uma região de contato poroso entre as fases líquida e gasosa com a estrutura polimérica.¹² Neste trabalho, nós demonstramos a combinação de NPs de Au sintetizadas em líquido iônico BMI.PF₆ suportadas em filme biopolimérico de acetato de celulose com investigação em atividade antimicrobiana frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. A combinação gerou a formação de um material com estrutura porosa com fácil incorporação das NPs de Au e boa atividade antimicrobiana. Este material pode ser utilizado na fabricação de filmes antimicrobianos para embalagem de alimentos, proporcionando assim maior tempo de conservação.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Síntese de NPs de Au em líquido iônico BMI.PF₆: Foi preparada uma solução dissolvendo borohidreto de sódio (NaBH₄), (9,25 mg, 250 mmol) em 2 mL de metanol e disperso em 1 mL de líquido iônico (BMI.PF₆). Separadamente, foi preparada uma solução contendo o precursor utilizado na síntese de NPs de Au, HAuCl₄.3H₂O (10 mg, 25 mmol) dissolvido em 2 mL de metanol e disperso em 1 mL de líquido iônico (BMI.PF₆), esta solução formada foi agitada a temperatura ambiente por 15 min, formando uma solução amarela. Posteriormente a primeira solução contendo NaBH₄ foi adicionada a segunda solução contendo ouro formando uma solução vermelha (característica da formação de NPs de ouro). A solução de NPs de Au obtida foi analisada em espectrofotômetro UV-Vis e por MET.

Síntese da solução biopolimérica e dos filmes biopoliméricos contendo NPs de Au suportadas: Neste experimento, foi preparada uma solução contendo 35 mL de acetona e 2,5 g de acetato de celulose, após dissolução do acetato de celulose a mistura permaneceu em repouso por 1 h, para obter a viscosidade desejada. Após 1 h os filmes biopoliméricos foram preparados, sendo que foram preparados filmes biopoliméricos sem NPs (denominados de branco, AC) e filmes contendo 10 mg de NPs de Au (denominados AC/Au). A mistura foi imersa em equipamento ultrassom

Maxiclean 750A Unique, para dispersão das NPs de Au e depois a solução foi vertida em placa de Petri formando os filmes biopoliméricos.

Investigação da atividade antimicrobiana frente às bactérias *E. coli* e *S. aureus*: Estas experiências foram realizadas num meio de Luria-Bertani (LB) Agar sólido em uma placa de Petri. Os filmes biopoliméricos liofilizados foram cortados em forma de disco de 1,5 cm de diâmetro, esterilizados por autoclave durante 15 minutos a 120 °C, e colocados em uma placa de Agar contendo bactérias *E. coli*-cultivadas e em outra placa Agar de bactérias *S. aureus*-cultivadas. As placas de Petri foram colocadas em incubadora durante 24 h a 37 °C para formação dos halos de inibição bacteriana.

Avaliação dos resultados obtidos: Neste experimento as placas de Petri contendo as culturas de bactérias de *E. coli* e *S. aureus* incubadas na aula anterior foram analisadas para medir o halo de inibição bacteriana formado pelos filmes biopoliméricos contendo NPs de Au suportadas e os resultados obtidos foram avaliados.

3 | ANÁLISES REALIZADAS

Espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis): O espectro eletrônico da dispersão coloidal de NPs de Au foi realizado utilizando-se um Espectrofotômetro UV-visível modelo UV-2550 da Shimadzu, com leituras na região de 190 a 800 cm^{-1} , com celas de quartzo de 1 cm de caminho óptico.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV): As análises por MEV para o estudo da morfologia dos filmes biopoliméricos contendo NPs de Au suportadas foram conduzidas utilizando-se um modelo JEOL JSM 5800 com 10 a 20 kV e magnificação de 5000x.

Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET): A análise de MET das NPs de Au foi realizada utilizando-se um microscópio JEOL JEM1200EXII operando em 120 kv. Para a análise foi utilizada uma amostra das NPs de Au obtidas no experimento. A análise da solução coloidal foi realizada com auxílio de pipeta de Pasteur, sobre o grid de cobre (300 mesh) recoberto com uma fina camada de Carbono. A contagem das partículas foi feita utilizando o software *SigmaScan Pro 5*. Os histogramas da distribuição foram obtidos usando o programa Origin 8, através da medida do diâmetro de aproximadamente 300 partículas de Au.

4 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

A síntese das NPs de Au coloidal está relacionada à redução do Au^{3+} para Au^0 pela ação do boroidreto de sódio como agente redutor, resultando na formação de NPs que possuem rede cúbica de face centrada (fcc). Os íons Au^{3+} são introduzidos ao meio reacional a partir do ácido tetracloroáurico triidratado, sendo a forma ácida do

cloreto de ouro (III). No nosso experimento observou-se a mudança de coloração do meio reacional de amarelo para vermelho, que se intensificou até o final da síntese. Após aproximadamente 5 min, a solução resultante apresentou uma coloração vermelha intensa. Na Figura 1 está representado o espectro da solução de NPs de Au, obtidas no experimento, por espectroscopia de UV-visível. A banda de absorção para a amostra ocorreu em 524 nm. A interação entre as NPs metálicas e a luz está relacionada com a ressonância plasmônica. Ao contrário do ouro em forma de sal ou metálico, que apresentam cor amarelada, o ouro coloidal apresenta coloração avermelhada, as NPs de ouro absorvem na região de ~500 nm a ~560 nm.

As técnicas de caracterização utilizadas, ultravioleta-Visível (UV-Vis), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) nos fornecem informações a respeito do tamanho, forma e composição das NPs de Au e dos filmes biopoliméricos. Estas informações são de suma importância, pois estão diretamente relacionadas com os resultados obtidos na aplicação destas NPs em diversas áreas como, catálise, ótica, médica, farmacêutica, eletroquímica e atividade biológica.

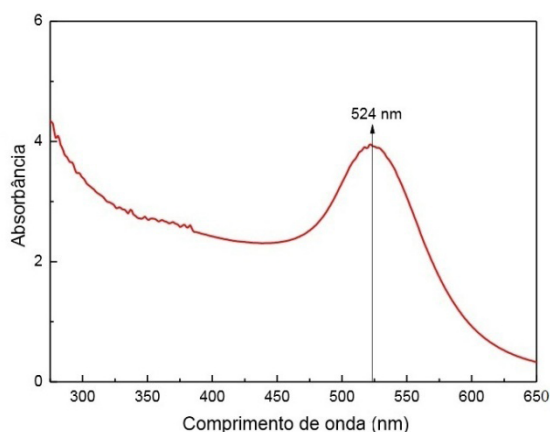


Figura 1. Espectro de Uv-vísivel da dispersão coloidal de NPs de Au

Se observarmos o espectro eletromagnético veremos que a região em que as NPs de ouro absorvem corresponde ao verde, ou seja, elas absorvem o verde e refletem o vermelho. As NPs de Au obtidas também foram analisadas por microscopia eletrônica de transmissão (MET). A micrografia e o histograma de distribuição de diâmetro médio das partículas obtidas são expostos na Figura 2. As NPs de Au (Figura 2A) exibiram diâmetro médio de 11 ± 1.5 nm. O histograma de distribuição de diâmetro (Figura 2B) foi obtido pela contagem de cerca de 300 partículas em diferentes regiões do grid analisado por MET.

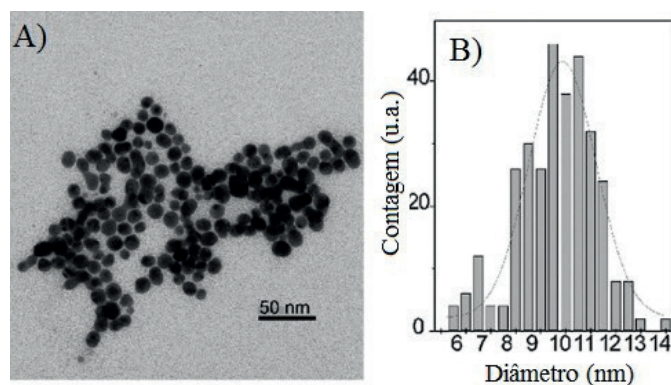


Figura 2. Micrografia obtida por MET (A) NPs de Au e (B) histograma de distribuição de diâmetro das NPs de Au.

A dispersão coloidal vermelha de ouro preparada em líquido iônico BMI.PF₆ foi misturada com uma solução de acetato de celulose (AC) dissolvida em acetona. A mistura obtida foi vertida em placa de Petri, após 5 min ocorreu à evaporação total do solvente e obtiveram-se os filmes biopoliméricos contendo NPs de Au suportadas, denominados AC/Au.

Os filmes biopoliméricos contendo NPs de Au suportadas (AC/Au) foram analisados por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A Figura 3 expõe a micrografia obtida por MEV. Podemos observar que o filme apresenta estrutura porosa e que pequenos aglomerados de NPs de Au estão distribuídos homogeneamente sobre todo filme biopolimérico.

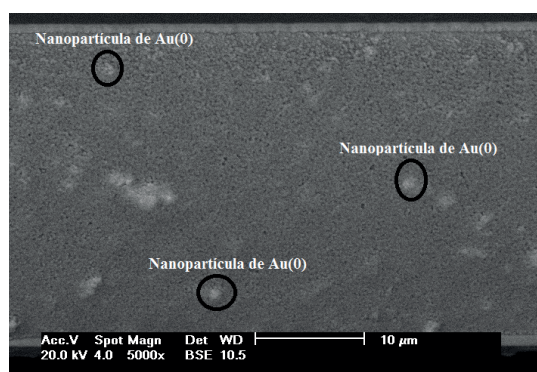


Figura 3. Micrografia obtida por MEV de pequenos aglomerados de NPs de Au distribuídos nos filmes biopoliméricos.

A atividade antimicrobiana dos filmes biopoliméricos foi investigada frente a bactérias gram-positivas (*S. aureus*) e gram-negativas (*E. coli*) através do método de disco com formação de halo de inibição. As bactérias *S. aureus*, são cocos, gram-positivos, sendo que muitos pertencem à microbiota normal do trato respiratório superior ou da pele. As bactérias *E. coli*, se referem a gêneros diversos de bactéria bacilar gram-negativa, sendo um parasita intestinal generalizado de mamíferos. A habilidade dos filmes biopoliméricos contendo NPs de Au suportadas em inibir o crescimento destas bactérias está exposto na Figura 4. Nos experimentos utilizamos

um disco de 1,5 cm de filme biopolimérico sem a presença NPs de Au (denominado de AC), localizado na esquerda da placa de Petri, e um disco de filme biopolimérico contendo NPs de Au (denominado AC/Au), localizado à direita na placa de Petri.

A ação antibacteriana das NPs metálicas ocorre através da coordenação destas a camada superficial das bactérias ocasionando o rompimento da camada de peptidoglicano e consequente inativação. A camada de peptidoglicano da bactéria gram-negativa (*E.coli*) é mais fina do que nas bactérias gram-positivas (*S.aureus*),¹³ provavelmente este fato está relacionado às NPs de Au se coordenarem mais facilmente e eficientemente causando maior inibição nas bactérias *E. coli* do que nas bactérias *S. aureus* (a formação de 5 mm de halo de inibição bacteriana foram obtidos para *E. coli* e 3 mm para *S. aureus*, Figura 4).¹³

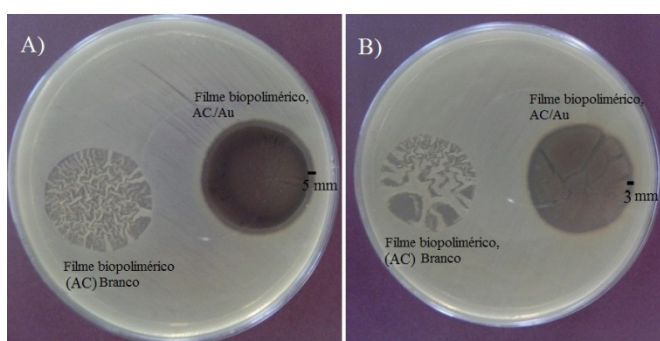


Figura 4. Atividade Antimicrobiana dos filmes biopoliméricos, AC (Branco, filme sem NPs Au) e AC/Au (filme contendo NPs de Au) frente as Bactérias: (A) *E.coli* e (B) *S. aureus*.

5 | CONCLUSÃO

Podemos concluir que a síntese de filmes biopoliméricos contendo nanopartículas de Au suportada gerou um material eficiente com grande efeito antimicrobiano. As técnicas de caracterização utilizadas contribuíram para que a prática fosse bem sucedida e agregasse conhecimento a respeito dos fenômenos relacionados a sistemas em escala nano. A aplicação dos filmes biopoliméricos contendo NPs de Au suportadas em inativação antimicrobiana também despertou grande atenção dos alunos, devido a ser um tema sempre atual e resultado de extensa aplicação, os filmes biopoliméricos antimicrobianos podem ser utilizados como embalagens para a conservação de frutas e alimentos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à CAPES, FAPERGS e CNPq pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Hochella-Júnior, M. F.; *Earth Planet Sci. Lett.* **2002**, 203, 593.
2. Stoimenov, P. K.; Klinger, R. L.; Marchin, G. L.; Klabunde, K. J.; *Langmuir* **2002**, 18, 6679.
3. Balogh, L.; Swanson, D. R.; Tomalia, D. A.; Hagnauer, G. L.; McManus, A. T.; *Nano Lett.* **2001**, 1, 18.
4. Kasuga, T.; Kume, H.; Abe, Y.; *J. Am. Ceram. Soc.* **1997**, 80, 777.
5. Kasuga, T.; Kume, H.; Abe, Y.; *J. Am. Ceram. Soc.* **1999**, 82, 65.
6. Yang, M. R.; Chem, K. S.; Rsai, J. C.; Tseng, C. C.; Lin, S. F.; *Mater. Sci. Eng., C.* **2002**, 20, 167.
7. Scheeren, C. W.; Hermes, V.; Bianchi, O.; Hertz, P.; Dias, S. L. P.; Dupont, J.; *J Nanosci. Nanotechnol.* **2011**, 11, 5114.
8. Kwak, S. Y.; Kim, S. H.; Kim, S. S.; *Environ. Sci. Technol.* **2001**, 35, 2388.
9. Kierans, M.; Staines, A. M.; Bennett, H.; Gadd, G. M.; *Biology of Metals* **1991**, 4, 100.
10. Ciriolo, M. R.; Civitareale, P.; Carri, M. T.; De Martino, A.; Galiazzo, F.; Rotilio, G.; *The Journal of Biological Chemistry* **1994**, 269, 25783.
11. Edgar, K. J.; Buchanan, C. M.; Debenham, J. S.; *Prog. Polym. Sci.* **2001**, 26, 1605.
12. Viswanathan, G.; Murugesan, S.; Pushparaj, V.; Nalamasu, O.; Ajayan, P. M.; Linhardt, R. J.; *Biomacromolecules* **2006**, 7, 415.
13. Xu, J.; Dozier, A.; Bhattacharyya, D.; *J. Nanop. Res.* **2005**, 7, 449.

MALDI-TOF MS BIOSENSOR IN MICROBIAL ASSESSMENT OF KEFIR PROBIOTIC

Karina Teixeira Magalhães-Guedes

Universidade Federal da Bahia, Departamento de Análises Bromatológicas, Faculdade de Farmácia, Salvador - Bahia, Brazil. karynamagat@gmail.com

Roberta Oliveira Viana

Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Setor de Microbiologia, Lavras - Brazil. roberta.oliveiraviana@gmail.com

Disney Ribeiro Dias

Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciência de Alimentos, Lavras - Minas Gerais, Brazil. diasdr@dca.ufla.br

Rosane Freitas Schwan

Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Setor de Microbiologia, Lavras - Brazil. rschwan@dbi.ufla.br

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the use of Maldi-Tof MS biosensor in microbial assessment of Brazilian kefir grains. Maldi-Tof MS is a new methodology for the rapid diagnosis of microorganisms. A total of 358 microorganisms were isolated, 31 were yeasts and 327 were bacteria (divided into lactic and acetic bacteria). Microbial colonies were grown in Luria-Bertani agar medium and incubated at 35 °C for 18h and used in the identification of species by Maldi-Tof MS. The microbial population identified in Brazilian kefir grains was *Lactobacillus paracasei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus*

plantarum, *Acetobacter pasteurianus*, and *Acetobacter syzygii*. This study demonstrated a rapid and accurate identification of the Brazilian kefir grains microorganisms using the Maldi-Tof MS biosensor. In conclusion, the Maldi-Tof MS technology can facilitate the microbiological control in a fermentation process using kefir grains as starter cultures.

KEYWORDS: bacteria, yeast, biological sensor, probiotic

BIOSSENSOR MALDI-TOF MS NA AVALIAÇÃO MICROBIANA DO PROBIÓTICO KEFIR

RESUMO: O objetivo deste estudo foi avaliar o uso do biossensor Maldi-Tof MS na avaliação microbiana de grãos de kefir brasileiros. Maldi-Tof MS é uma nova metodologia para o diagnóstico rápido de microrganismos. Um total de 358 microrganismos foram isolados, 31 foram leveduras e 327 foram bactérias (divididas em bactérias lácticas e acéticas). As colônias microbianas foram cultivadas em meio de ágar Luria-Bertani e incubadas a 35 °C por 18h e utilizadas na identificação de espécies por Maldi-Tof MS. A população microbiana identificada nos grãos de kefir brasileiros foi *Lactobacillus paracasei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum*, *Acetobacter*

pasteurianus e *Acetobacter syzygii*. Este estudo demonstrou uma identificação rápida e precisa dos microorganismos dos grãos de kefir brasileiros utilizando o biossensor Maldi-Tof MS. Em conclusão, a tecnologia Maldi-Tof MS pode facilitar o controle microbiológico em um processo de fermentação usando grãos de kefir como culturas iniciadoras.

PALAVRAS-CHAVE: bactérias, levedura, sensor biológico, probiótico

1 | INTRODUCTION

Kefir probiotic is a polysaccharide grain containing microorganisms that produce fermented beverages, such as the traditional Turkish beverage also named “kefir”, which is from milk, and has low alcohol content (SIMOVA et al., 2002; GUZEL-SEYDIM et al., 2005; IRIGOYEN et al., 2005; MAGALHÃES et al., 2011a, 2011b, 2011c; PUERARI et al., 2012; CHO et al., 2018). Kefir is a mixed culture of various yeasts and bacteria species combined in a matrix of proteins and polysaccharide “kefiran”, which are formed during cell growth under aerobic conditions (MAGALHÃES et al., 2010a, 2010b). The kefir probiotic grains are irregularly shaped and hard granules, with yellowish-white colour, which resemble miniature cauliflower blossoms (CORONA et al., 2016).

In Brazil, kefir grains are used in private households (MAGALHÃES et al., 2011c) and are added to different types of milk, such as cow, goat, or sheep, coconut, rice, and soy (IRIGOYEN et al., 2005; MAGALHÃES et al., 2011c). The grains are responsible for the fermentation that produce lactic acid, acetic acid, CO₂, alcohol (ethyl 2 alcohol), and aromatic compounds. These compounds provide the unique sensory characteristics of kefir: fizzy, acid taste, and tart and refreshing flavour (CORONA et al., 2016).

The kefir beverage contains vitamins, minerals, and essential amino acids that help the body with healing and maintenance functions and contains easily digestible complete proteins (ROOS et al., 2018). In accordance with MEDRANO et al. (2008), the benefits of consuming kefir in the diet are numerous, such as its antitumoral, (VINDEROLA et al., 2005), antimicrobial (RODRIGUES et al., 2005), antiinflammatory, and anti-allergical (LEE et al., 2007) activities. The composition of microbial species is an important factor to characterize the kefir therapeutic benefits (SIMOVA et al., 2002; GUZEL-SEYDIM et al., 2005; IRIGOYEN et al., 2005; MAGALHÃES et al., 2011a, 2011b, 2011c; CHO et al., 2018). A rapid identification of the microorganisms is necessary in the fermentative process of kefir grains, which facilitates the microbiological control of fermentative processes on a large scale.

An optical technique with potential use to rapidly identify the microorganisms is the Maldi-Tof MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation - Time of Flight Mass Spectrometry) (Microflex-Bruker Daltonics/BioTyper™) (CHANG et al., 2016; PASTERNAK et al., 2012; GAUDREAU et al., 2018; MAYORAL et al., 2018). In this

technique, the sample is uniformly mixed in a large quantity of matrix. The matrix absorbs the ultraviolet light (nitrogen laser light, wavelength 337 nm) and converts it to heat energy. A small part of the matrix (down to 100 nm from the top outer surface of the Analyte in the diagram) heats rapidly (in several nano seconds) and is vaporized, together with the sample. Charged ions of various sizes are generated on the sample spot (Figure 1). A potential difference V_0 between the sample slide and ground attracts the ions in the direction shown in the diagram. The velocity of the attracted ions v is determined by the law of conservation of energy. As the potential difference V_0 is constant with respect to all ions, ions with smaller m/z value (lighter ions) and more highly charged ions move faster through the drift space until they reach the detector. Consequently, the time of ion flight differs according to the mass-to-charge ratio (m/z) value of the ion. The method of mass spectrometry that exploits this phenomenon is called Time of Flight Mass Spectrometry (PASTERNAK et al., 2012; MAYORAL et al., 2018).

The aim of this study was to evaluate the use of Maldi-ToF biosensor in the microbial assessment of Brazilian kefir grains, as well as to identify the probiotic microorganisms associated with them.

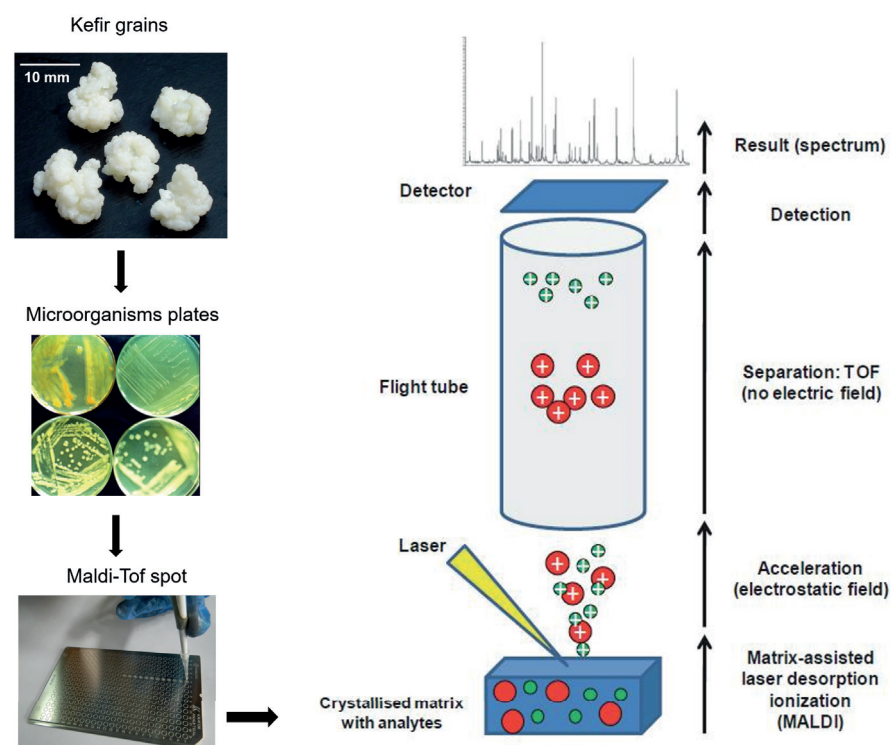


Figure 1: Brazilian kefir microorganisms analysis methodology in the Maldi-ToF MS biosensor.

2 | MATERIAL AND METHODS

Kefir grains

Brazilian kefir grains (Stock-culture of the Microbiology laboratory of the Federal University of Lavras, Brazil) were used in the experiments.

Microbiological analysis

We used Maldi-Tof MS biosensor (Microflex-Bruker Daltonics/BioTyper™) for the microbiological analysis. A total of 358 isolates were identified.

The isolation of microorganisms in kefir grains was performed according to MAGALHÃES et al. (2011c). Bacteria and yeasts were enumerated by the surface spread technique, plating 100 μL of each diluted sample in triplicate. Enumeration of microorganisms was carried out using four different culture media. Lactic acid bacteria (LAB) were enumerated on Nutrient Agar (Oxoid, S/P, Brazil), De Man, Rogosa, and Sharpe Agar (MRS) (Oxoid, S/P, Brazil) media. Acetic acid bacteria (AAB) were enumerated on 135 medium (DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Germany). All media for bacterial enumeration were supplemented with 0.4 mg mL^{-1} nystatin (Sigma, St. Louis, USA). Yeasts were enumerated on yeast extract peptone glucose (YEPG) agar containing 100 mg chloramphenicol (Sigma, St. Louis, USA) and 50 mg chlortetracycline (Sigma, St. Louis, USA) to inhibit bacterial growth. After spreading, plates were incubated at 28 °C for 48 h for bacteria and for five days for yeasts, colony forming units (\log_{10} CFU mL^{-1}) were quantified. For each type of medium containing isolated colonies, the square root of the number of colonies was taken at random for identification.

For identification of microbial species of kefir grains by Maldi-Tof MS, the *Escherichia coli* K12 strain was used as external standard for calibration biosensor following the method described by CHANG et al. (2016). Cell colonies were grown in Luria-Bertani (LB) agar medium and incubated at 35 °C for 18 h. The microbial colonies were used in the identification by Maldi-Tof MS.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

Rapid diagnosis of microorganisms is decisive to guarantee adequate identification in biological samples. Biochemical methods are precise and sensitive, but rather slow. New resources are available to enable faster diagnosis, and the most promising is Maldi-Tof MS technology, applied to microbiological diagnosis by rapid method using the microbial colonies.

The microbial population count of the kefir grains performed in this study Found:

lactic acid bacteria with a population of $8.10 \log \text{CFU mL}^{-1}$ (approximately 10^8 cells); AAB in a low population of $4.01 \log \text{CFU mL}^{-1}$ (approximately 10^4 cells); and yeasts in population of $6.01 \log \text{CFU mL}^{-1}$ (approximately 10^6 cells). This microbial population is expected in the kefir grains because they are considered probiotic (SIMOVA et al., 2002; GUZEL-SEYDIM et al., 2005; IRIGOYEN et al., 2005; MAGALHÃES et al., 2011a, 2011b, 2011c; PUERARI et al., 2012; CHO et al., 2018).

A total of 358 microorganisms were isolated, 31 yeasts and 327 bacteria (divided into lactic and acetic bacteria). The isolates were identified by Maldi-Tof MS technique (Figure 1). The results showed higher population of *Lactobacillus paracasei* (10^6CFU mL^{-1}); *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum*, *Acetobacter pasteurianus*, and *Acetobacter syzygii* were found in smaller quantities (10^4CFU mL^{-1}) (Figure 2).

QUINTILLA et al. (2018) evaluated the efficiency of Maldi-Tof MS to identify foodborne yeasts. The identified yeasts were named as *Rhodotorula babjevae*, *Meyerozyma caribbica*, *Clavispora lusitaniae*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida oleophila*, *Pichia membranifaciens*, *Kazachstania telluris*, and *Mrakia frigida*. Authors showed that Maldi-Tof MS is applicable for routine identification and validation of foodborne yeasts.

GAUDREAU et al. (2018) evaluated Maldi-Tof MS to identify bacteria from biofilms. They compared three sample preparation procedures on biofilms grown *in vitro*. The extended direct transfer method was able to identify 13 isolates out of 18 (72%) at the species level and 15 out of 18 (83%) at the genus level.

MAYORAL et al. (2018) reported two new cases involving immunocompetent girls with cervicofacial lymphadenitis due to *Mycobacterium mantenii*, and the reliability of Maldi-Tof MS for identifying *Mycobacterium mantenii* was efficient.

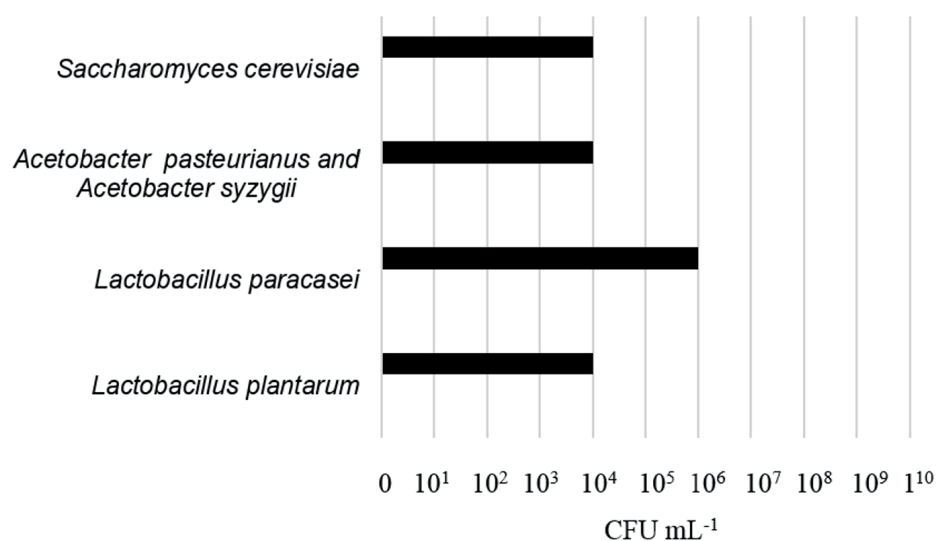


Figure 2: Microbial identification of Brazilian kefir grains by Maldi-Tof MS technique.

4 | CONCLUSION

The Maldi-Tof MS technology proved to be useful for diagnosis of kefir microorganisms, allowing a fast and safe diagnosis for the scientific environment. The technology can facilitate the microbiological control in a fermentation process using kefir grains as starter cultures. The microorganisms identified in the Brazilian kefir are the same commonly found in kefir grains, with predominance of *Lactobacillus paracasei*.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Brazilian agencies: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

REFERENCES

- CHANG, S. et al. Polyphasic approach including MALDI-TOF MS/MS analysis for identification and characterisation of *Fusarium verticillioides* in Brazilian corn kernels. **Toxins**, v. 8, n. 3, p. 54-67. 2016.
- CHO, Y-J. et al. Characterization of yeasts isolated from kefir as a probiotic and its synergic interaction with the wine byproduct grape seed flour/extract. **LWT - Food Science and Technology**, v. 90, p. 535-539. 2018.
- CORONA, O. et al. Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 572-581. 2016.
- GAUDREAU, A. M. et al. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of bacteria growing as biofilms. **Journal of Microbiological Methods**, v. 145, p. 79-81. 2018.
- GUZEL-SEYDIM, Z. et al. Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscobic observation. **International Journal of Dairy Technology**, v. 58, p. 25-29. 2005.
- IRIGOYEN, A. et al. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. **Food Chemistry**, v. 90, p. 613-620. 2005.
- LEE, M. Y. et al. Anti-inflammatory and anti-allergic effects of kefir in a mouse asthma model. **Immunobiology**, v. 212, p. 647-654. 2007.
- MAGALHÃES, K. T. et al. Chemical composition and sensory analysis of cheese whey-based beverages using kefir grains as starter culture. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 871-878. 2011a.
- MAGALHÃES, K. T. et al. Comparative study of the biochemical changes and volatile compounds during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. **Food Chemistry**, v. 126, p. 249-253. 2011b.
- MAGALHÃES, K. T. et al. Brazilian kefir: structure microbial communities and chemical composition. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 693-702. 2011c.

- MAGALHÃES, K. T. et al. Production of fermented cheese whey-based beverage using kefir grains as starter culture: Evaluation of morphological and microbial variations. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 8843-8850. 2010a.
- MAGALHÃES, K. T. et al. Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 01, p. 01-10. 2010b.
- MAYORAL, T. N. et al. Cervicofacial lymphadenitis due to *Mycobacterium mantenii*: rapid and reliable identification by MALDI-TOF MS. **New Microbes and New Infections**, v. 22, p. 01-03. 2018.
- MEDRANO, M.; PÉREZ, P. F.; ABRAHAM, A. G. Kefiran antagonizes cytopathic effects of *Bacillus cereus* extracellular factors. **International Journal of Food Microbiology**, v. 122, p. 01-07. 2008.
- PASTERNAK, J. Novas metodologias de identificação de micro-organismos: Maldi-Tof. **EINSTEIN**, v. 10, p. 118-119. 2012.
- PUERARI, C.; MAGALHÃES, K. T.; SCHWAN, R. F. New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. **Food Research International**, v. 48, p. 634-640. 2012.
- QUINTILLA, R. et al. MALDI-TOF MS as a tool to identify foodborne yeasts and yeast-like fungi. **International Journal of Food Microbiology**, v. 266, p. 109-118. 2018.
- RODRIGUES, K. L. et al. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 25, p. 404-408. 2005.
- ROOS, J.; VUYST, L. Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 49, p. 115-119. 2018.
- SIMOVA, E. et al. Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. **Journal Industrial of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p. 01-06. 2002.
- VINDEROLA, C. G. et al. Immunomodulating capacity of kefir. **Journal of Dairy Research**, v. 72, p. 195-202. 2005.

META-ANÁLISE COMO FERRAMENTA PARA AVALIAÇÃO DE DIFERENTES COPRODUTOS UTILIZADOS EM DIETAS PARA COELHOS DE CORTE

Diuly Bortoluzzi Falcone

Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS

Ana Carolina Kohlrausch Klingler

Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS

Amanda Carneiro Martini

Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS

Geni Salete Pinto de Toledo

Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS

Luciana Pötter

Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS

Leila Picolli da Silva

Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS

RESUMO: O objetivo deste capítulo é expor uma análise meta-analítica de diferentes coprodutos, sobre o desempenho de coelhos de corte. Os dados utilizados, referem-se a cinco ensaios biológicos realizados no Laboratório de Cunicultura da Universidade Federal de Santa Maria. Em cada ensaio foram testados diferentes coprodutos, com diferentes níveis de substituição, como: bagaço de uva, casca de soja, bagaço de batata-doce, resíduo de cervejaria e topos de cenoura, em substituição

a um ingrediente convencional: o feno de alfafa. A variável analisada foi a do ganho de peso dos animais. Os dados foram tabulados e analisados com a ponderação inversa da variância e o modelo aleatório para obtenção da estimativa da diferença na média entre os grupos. Os resultados obtidos demonstram que os diferentes coprodutos não apresentam diferenças quando comparados ao tratamento controle. No entanto, quando analisamos em grupos observamos que o coproduto bagaço de uva apresentou os melhores valores, seguido da casca de soja. As diferenças não são significativas na maioria dos subgrupos, ou seja, estão bem próximas a médias, mostrando que é viável o uso de coprodutos em dietas para coelhos. Conclui-se, portanto, com base no estudo meta-analítico, que a utilização de diferentes coprodutos em dietas para coelhos em substituição ao feno de alfafa é viável. Desta forma, novos coprodutos podem ser estudados para serem incorporados às dietas cunícolas, visto que, a substituição é uma estratégia promissora que pode ser utilizada obtendo-se redução de custos e minimizando impactos ambientais.

PALAVRAS-CHAVE: análise de dados, integração de resultados, tecnologia

ABSTRACT: The aim of this chapter is to expose a meta-analytical analysis of different

co-products on the performance of growing rabbits. The data used refer to five biological assays performed at the Cuniculture Laboratory of the Federal University of Santa Maria. Different co-products with different substitution levels were tested in each trial, such as: grape marc, soybean hulls, sweet potato vines, brewery residue and carrot tops, replacing a conventional ingredient: alfalfa hay. The variable analyzed was the weight gain of the animals. Data were tabulated and analyzed using the inverse weighting of variance and the random model to obtain the estimate of the difference in mean between the groups. The results showed that the different co-products do not differ when compared to the control treatment. However, when we analyzed in groups, we observed that the grape marc presented the best values, followed by soybean hull. Differences are not significant in most subgroups, showing that the use of co-products in rabbit diets is feasible. Therefore, based on the meta-analytical study, it is concluded that the use of different co-products in rabbit diets to replace alfalfa hay is feasible. Thus, new co-products can be studied to be incorporated into the diets, since substitution is a promising strategy that can be used to reduce costs and minimize environmental impacts.

KEYWORDS: data Analytics, results Integration, technology

1 | INTRODUÇÃO

No Brasil, grandes quantidades de resíduos agroindustriais são desperdiçados diariamente, possivelmente em virtude da falta de informação sobre os seus usos alternativos. Deste modo, recursos que poderiam estar sendo utilizados de diversas formas – como por exemplo, em dietas animais – são desperdiçados, gerando passivos ambientais. Neste contexto, na atualidade, diversos estudos estão sendo realizados com a finalidade de demonstrar os benefícios – tanto para o meio ambiente, quanto para as cadeias produtivas – da utilização destes resíduos.

A meta-análise, trata-se de uma ferramenta que visa extrair informações de dados preexistentes, através da união de resultados de diversos trabalhos e pela aplicação de uma ou mais técnicas estatísticas (LUIZ, 2002). É um método quantitativo que permite combinar os resultados de estudos realizados de forma independente e sintetizar as suas conclusões ou mesmo extrair uma nova conclusão.

Neste sentido, a cunicultura é uma atividade praticada no mundo inteiro, com manejo, alojamento e alimentação simples e fáceis que geram grandes rentabilidades ao produtor (ALMEIDA, 2012). O coelho, é animal herbívoro que consegue aproveitar de forma eficiente diferentes fontes de fibras. Estas fontes, presentes em resíduos de baixo valor comercial, barateiam os custos de produção. Assim, torna-se possível o fornecimento de coprodutos, diminuindo a utilização de produtos que poderiam ser utilizados na alimentação humana.

Diante do exposto, o objetivo deste capítulo é expor o efeito da utilização de diferentes coprodutos, sobre o desempenho de coelhos de corte, por meio de

uma meta-análise de trabalhos realizados em diferentes anos no Laboratório de Cunicultura da UFSM, possibilitando assim, melhorar a representatividade dos dados.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Os dados utilizados para realização deste trabalho, referem-se a cinco ensaios biológicos realizados no Laboratório de Cunicultura (LabCuni) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul. A cidade situa-se na região central do RS, localizado a 29 ° 68 'de latitude, 53 ° 80' de longitude oeste.

Os ensaios biológicos avaliaram o desempenho, na fase de crescimento, da criação de coelhos (35 a 85 dias), alojados em gaiolas em galpão próprio para cunicultura. Em cada ensaio foram testados diferentes coprodutos, com diferentes níveis de substituição, como: bagaço de uva, casca de soja, baração de batata-doce, resíduo de cervejaria e topos de cenoura, em substituição a um ingrediente convencional, o feno de alfafa.

A variável analisada foi a do ganho de peso dos animais. Para isto, todos trabalhos deveriam apresentar os valores de ganho de peso do tratamento controle: sem inclusão de coprodutos e dos demais tratamentos com os diferentes níveis de substituição por coprodutos, além do número de animais utilizados por repetição e o valor do desvio padrão.

Os dados foram tabulados através do programa Microsoft® Office Excel® 2013 e analisados pelo programa estatístico R, versão 3.5.0, pacote “meta”, função “metacont”. Foi utilizado a ponderação inversa da variância e o modelo aleatório para obtenção da estimativa da diferença na média entre os grupos. A heterogeneidade dos resultados entre os experimentos foi quantificada utilizando a estatística I^2 (HIGGINS et al., 2002), que quantifica o impacto da heterogeneidade em uma meta-análise. Após a análise estatística feita pelo software, foi gerado no próprio software R um gráfico, para apresentar de forma mais ilustrativa os resultados, denominado *forest plot*.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos dados analisados a heterogeneidade apresentada foi de 74% no ganho de peso. Na escala onde um valor próximo a 0% não indica heterogeneidade entre os estudos, próximo a 25% indica baixa heterogeneidade, próximo a 50% indica heterogeneidade moderada e próximo a 75% alta heterogeneidade entre os estudos (RODRIGUES & ZIEGELMANN, 2010).

O método gráfico mais usual para apresentar os resultados da meta-análise é através do *forest plot* (Figura 1). A linha vertical representa uma diferença de média

zero ou nenhum efeito. O lado esquerdo da linha vertical representa uma redução do efeito e o lado direito da linha vertical representa um aumento do efeito; cada quadrado em torno do ponto de efeito reflete a ponderação relativa do estudo para o tamanho total do efeito estimado. Quanto maior for a área do quadrado, maior será a contribuição do estudo em relação a estimativa global. O limite superior e inferior da linha conectada ao quadrado representa a parte superior e inferior IC (intervalo de confiança) 95% para o tamanho do efeito (BALAN et al., 2016; RODRIGUES e ZIEGELMANN, 2010.).

Nos resultados obtidos do ganho de peso, observamos que os diferentes coprodutos não apresentam diferenças quando comparados ao tratamento controle. No entanto, quando analisamos em grupos observamos que o coproduto do bagaço de uva apresentou os melhores valores, seguido da casca de soja.

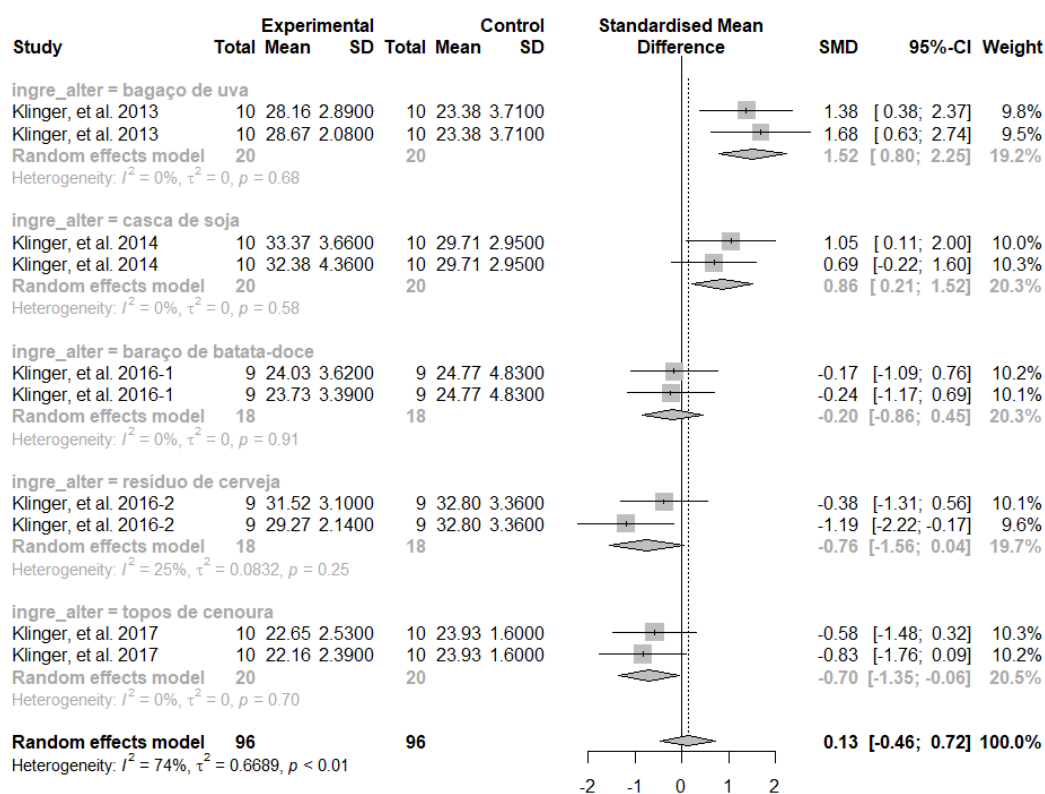


Figura 1- *Forest plot* representando o ganho de peso (g/dia) de coelhos alimentados com diferentes coprodutos em substituição ao feno de alfafa.

Dados de valores da Tabela 1, ajudam a ilustrar de forma mais clara o ganho de peso (g/dia), onde observamos a redução ou incremento em comparação ao grupo controle. Nestes resultados percebemos que as diferenças não são significativas na maioria dos subgrupos, ou seja, estão bem próximas a médias, mostrando que é viável o uso de coprodutos em dietas para coelhos.

Coproducto	Ganho (g/dia)
Bagaço de uva	3,76
Casca de soja	3,44
Baraço de batata-doce	-0,70
Resíduo de cervejaria	-1,99
Topos de cenoura	-1,72

Tabela 1- Diferença do ganho de peso dos animais alimentados com coprodutos em relação ao grupo controle, utilizando SMD (diferença de média estandardizada).

Estudos como estes vão ao encontro com projetos feitos em países da África, assolados pela fome e pobreza, onde estão investindo na produção de coelhos com dietas simples a base de coprodutos de culturas vegetais (KHALIL, 2010). Neste sentido, percebemos que a utilização de coprodutos pode ser uma estratégia podendo beneficiar diversas famílias dentro de suas propriedades rurais, contribuindo para o desenvolvimento rural e garantindo renda familiar.

4 | CONCLUSÃO

Conclui-se com base no estudo meta-analítico, que a utilização de diferentes coprodutos em dietas para coelhos em substituição ao feno de alfafa é viável. Desta forma, novos coprodutos podem ser estudados para serem incorporados às dietas cunícolas, visto que, a substituição é uma estratégia promissora que pode ser utilizada obtendo-se redução de custos e minimizando impactos ambientais.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, D. G. **Estudo da viabilidade técnica e econômica para implantação da cunicultura em pequena propriedade rural**. Revista Perspectiva em Gestão, Educação & Tecnologia, v.1, n.1, 2012.
- BALAN, J. A. O. et al. **Efeito da redução do balanço cátió-aniônico de rações pré-parto de vacas leiteiras sobre a produção de leite da lactação subsequente: metanálise**. In: 1º Encontro Internacional de Ciências Agrárias e Tecnológicas. Unesp, Dracena, 2016.
- HIGGINS J. P. et al. **Measuring inconsistency in meta-analyses**. British Medical Journal, v. 327, n.257, p. 557-560, 2002.
- KHALIL, M. H. **Sustainable rabbit breeding and genetic improvement programs achieved in developing countries**. In: 9TH WORLD CONGRESSES ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 2010, LEIPZIG, GE. Proceedings... Leipzig, GE: 2010.
- LUIZ, A. J. B. **Meta-análise: definição, aplicações e sinergia com dados espaciais**. Cadernos de Ciência & Tecnologia, Brasília, v.19, n.3, p.407-42, 2002.
- RODRIGUES, C.L. & ZIEGELMANN, P.K. **Metanálise: Um guia prático**. Revista Hospital de Clínicas de Porto Alegre, v.30, n.4, p.436-447, 2010.

MODELAGEM TERMODINÂMICA E DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DO ÓLEO DE BACABA (*Oenocarpus bacaba*) E UCUÚBA (*Virola surinamensis*) COM DIÓXIDO DE CARBONO SUPERCRÍTICO

Eduardo Gama Ortiz Menezes

Universidade Federal do Pará (UFPA). Instituto de Tecnologia (ITEC), Pós-graduação (Doutorado) em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia (PRODERNA).
Belém-PA

Jhonatas Rodrigues Barbosa

Universidade Federal do Pará (UFPA). Instituto de Tecnologia (ITEC), Pós-graduação (Mestrado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA).
Belém-PA

Leticia Maria Martins Siqueira

Universidade Federal do Pará (UFPA). Instituto de Tecnologia (ITEC), Pós-graduação (Doutorado) em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia (PRODERNA).
Belém-PA

Raul Nunes de Carvalho Junior

Universidade Federal do Pará (UFPA). Instituto de Tecnologia (ITEC), Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA). Laboratório de extração (Labex).
Belém-PA

RESUMO: A obtenção de óleos vegetais vem se tornando cada vez mais vantajosa, devido a presença dos ácidos graxos poliinsaturados na composição dos óleos e efeitos benéficos já comprovados, como os potenciais antioxidantes e antidiabéticos. Neste trabalho foi realizada a modelagem termodinâmica, determinação dos

parâmetros de interação binária e determinação da solubilidade da extração óleo de bacaba e óleo de ucuúba usando a tecnologia com dióxido de carbono supercrítico. Os resultados mostraram que as equações de Peng-Robinson (1976) e Soave-Redlich-Kwong (1972) apresentaram menores erros no cálculo da fase vapor, mostrando que as equações de estado cúbicas descrevem melhor a fase vapor do que a fase líquida. A equação de Peng-Robinson (1976) foi escolhida para a determinação da solubilidade, uma vez que apresentou menores erros quando comparados com a equação de Soave-Redlich-Kowng (1972). Para equação de Peng-Robinson (1976) quando combinada com a regra de mistura quadrática, os valores de erros absolutos para a fase líquida (Δx) variaram os valores entre 0,00019 e 0,13992, enquanto que os valores de erros absolutos para a fase vapor (Δy) variaram entre 0,00005 e 0,97234. A solubilidade para o óleo de bacaba apresentou maior valor na condição de temperatura de 333 Kelvins e pressão igual a 290bar, enquanto que para o óleo de ucuúba a condição onde houve maior valor na solubilidade foi na temperatura de 353 Kelvins e pressão igual a 350bar.

PALAVRAS-CHAVE: *Oenocarpus bacaba*; *Virola surinamensis*; Óleo vegetal; Ácidos graxos; Extração supercrítica.

ABSTRACT: Obtaining vegetable oils is

becoming increasingly advantageous due to the presence of polyunsaturated fatty acids in the composition of oils and beneficial effects already proven, such as potential antioxidants and antidiabetics. This work performed the thermodynamic modeling, determination of the binary interaction parameters and determination of the solubility of bacaba oil and ucuúba oil extraction using supercritical carbon dioxide technology. The results showed the equations of the Peng-Robinson (1976) and Soave-Redlich-Kwong (1972) with smaller errors in the vapor phase calculation, showing that the cubic state equations better describe the vapor phase than the liquid phase. The Peng-Robinson equation (1976) was chosen for the determination of solubility, since it presented smaller errors when compared to the equation of Soave-Redlich-Kowng (1972). For Peng-Robinson's equation (1976) when combined with the quadratic mixing rule, the absolute error values for the liquid phase (Δx) ranged from 0.00019 to 0.13992, while the absolute error values for the vapor phase (Δy) ranged from 0.00005 to 0.977234. The solubility for bacaba oil presented a higher value in the temperature condition of 333 Kelvins and pressure equal to 290bar, whereas for ucuúba oil the condition where there was the highest value in the solubility was in the temperature of 353 Kelvins and pressure equal to 350bar.

KEYWORDS: *Oenocarpus bacaba*; *Virola surinamensis*; Vegetable oil; Fatty Acids; Supercritical extraction.

1 | INTRODUÇÃO

O bioma amazônico brasileiro possui mais de 200 espécies frutíferas catalogadas, o que demonstra a dimensão da biodiversidade existente. Dentre a enorme quantidade de frutas oleaginosas da região Amazônica se encontram espécies que vem sendo largamente estudadas devido a sua composição em ácidos graxos poli-insaturados cujos efeitos são benéficos à saúde (Cunha et al., 2019; Costa et al., 2016).

Neste sentido, a tecnologia supercrítica usando dióxido de carbono supercrítico se destaca como processo de separação para obtenção de óleos vegetais a partir de frutas da região Amazônica (Batista et al., 2016; Cunha et al., 2019). Do ponto de vista da engenharia, as propriedades físicas e termodinâmicas do óleo vegetal são importantes parâmetros para determinação a solubilidade de óleos. A predição da solubilidade de óleos vegetais em fluidos supercríticos, na ausência de valores experimentais, é importante parâmetro para otimização do processo de simulação e determinação da melhor condição de extração com fluido supercrítico.

Tendo em vista o elevado interesse na obtenção de substâncias bioativas de alto valor agregado, por meio do processo de extração com fluido supercrítico, em particular com o dióxido de carbono, o objetivo geral deste trabalho consiste em calcular propriedades físicas dos ácidos graxos constituintes do óleo de bacaba (*Oenocarpus bacaba*) e óleo de ucuúba (*Virola surinamensis*) por metodologia de

contribuição de grupo, aplicar equações de estado cúbicas para correlacionar os dados experimentais de equilíbrio de fases de sistemas binários entre óleo e dióxido de carbono supercrítico e posterior determinação da solubilidade teórica entre o soluto e solvente.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Equação de estado cúbica e regras de mistura

O presente trabalho utilizou dados experimentais de equilíbrio de fases presentes na literatura, e empregou a equação de Peng-Robinson (1976) e Soave-Redlich-Kwong (1972) com a regra de mistura de van der Waals quadrática com dois parâmetros de interação binária. Para misturas os parâmetros a e b foram obtidos através das propriedades termofísicas dos componentes puros, da composição, e da utilização de uma regra de mistura, com as interações entre os componentes da mistura representadas pelos parâmetros de interação binária. As propriedades críticas dos ácidos graxos foram calculadas usando o método desenvolvido por Constantinou & Gani (1994), enquanto que o fator acêntrico foi calculado pelo método desenvolvido por Pitzer et al. (1955) combinado com o método proposto por Nannolal et al. (2008).

O presente trabalho utilizará a composição molar do óleo de bacaba (*Oenocarpus bacaba*), obtidas por Pinto et al. (2018), e a composição molar do óleo de Ucuúba (*Virola surinamensis*), obtida por Cordeiro et al. (2018). Os dados experimentais de equilíbrio líquido e vapor do dióxido de carbono com o ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico e ácido linoleico foram obtidos na literatura (Bharath et al., 1993; Yau, 1992; Maheshwari, 1992; Zou, 1990)

2.2 Critérios de análise para avaliação dos parâmetros de interação

Os parâmetros de interação binária foram determinados com auxílio do programa computacional EDEFLASH (Araujo et al., 2006). Os valores dos parâmetros de interação binária foram calculados para a isoterma minimizando a função objetivo de erro médio relativo entre os valores calculados e experimentais das fases líquida e vapor. A função objetivo está indicada na equação 1:

$$FO = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left(\frac{x_i^e - x_i^c}{x_i^e} \right)^2 + \left(\frac{y_i^e - y_i^c}{y_i^e} \right)^2} \quad (1)$$

2.3 Determinação da solubilidade do óleo em CO₂ supercrítico

A solubilidade dos óleos em dióxido de carbono supercrítico foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Cunha et al. (2019). Esta metodologia assume que o óleo vegetal pode ser considerado uma mistura de substâncias puras como ácidos graxos e ésteres de ácidos graxos, na qual uma equação cúbica de estado é aplicada para descrever o comportamento de equilíbrio de fase do sistema supercrítico CO₂ + óleo em determinada faixa de temperatura e pressão. Para a previsão da solubilidade da mistura multicomponente, usando uma equação cúbica de estado, foram necessárias informações de propriedades físicas dos ácidos graxos como a temperatura crítica, pressão crítica e fator acêntrico. Os valores da fração molar de cada componente da fase gasosa do equilíbrio líquido-gás foram convertidos para a solubilidade (S) de acordo com a equação abaixo. Os resultados foram expressos em g de óleo/ g de CO₂.

$$S = \frac{\sum M_i z_i}{M_{CO_2} z_{CO_2}} \quad (2)$$

Onde z_i é a fração molar do componente i na fase gás; M_i é a massa molar de cada componente.

3 | RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 Parâmetros de equilíbrio de fases para o óleo de Bacaba e óleo de Ucuúba em CO₂ supercrítico

A tabela 1 apresenta os desvios absolutos representados como a diferença entre o valor calculado e o valor experimental para a composição em fração líquida (Δx) e fração da fase vapor (Δy). Podem-se verificar menores erros no cálculo da fase vapor, evidenciando, nesta situação, que as equações de estado cúbicas descrevem melhor a fase vapor do que a fase líquida, confirmando a eficácia das equações de estado cúbicas no estudo de equilíbrio líquido-vapor.

Os resultados apresentaram menores erros absolutos para equação de Peng-Robinson (1976) quando comparada com a equação de Soave-Redlich-Kwong (1972). Para equação de Peng-Robinson quando combinada com a regra de mistura quadrática, os valores de erros absolutos para a fase líquida (Δx) variaram os valores entre 0,00019 e 0,13992, enquanto que os valores de erros absolutos para a fase vapor (Δy) variaram entre 0,00005 e 0,97234. Os parâmetros de interação determinados para as equações de estado cúbicas de Peng Robinson (1976) e Soave-Redlich-Kwong (1972) combinadas com a regra de mistura quadrática estão

indicadas na tabela 2 e tabela 3, respectivamente.

Ácido Graxo	Soave-Redlich-Kwong		Peng-Robinson	
	Δx	Δy	Δx	Δy
Ácido Láurico	0,13324	0,00893	0,13992	0,00914
Ácido Mirístico	-	0,97478	-	0,97234
Ácido Palmítico	0,00765	0,00068	0,00774	0,00046
Ácido Esteárico	0,70087	0,00032	0,00019	0,00005
Ácido Oleico	0,01735	0,00709	0,01807	0,00691
Ácido Palmítico	0,15734	0,00936	0,05667	0,00683

Tabela 1 - Desvio absoluto para o cálculo de equilíbrio a partir do programa computacional EDEFASH.

Ácidos Graxos	Peng-Robinson		Função
	k_{ij}	l_{ij}	
Ácido Láurico	0,069283	0,079382	0,942137
Ácido Mirístico	0,092193	0,045103	0,172932
Ácido Palmítico	-0,172274	-0,06194	0,00001
Ácido Esteárico	-0,001209	-0,312888	0,802893
Ácido Oleico	0,068711	-0,020736	1,034402
Ácido Palmítico	0,1	0,1	1,893253

Tabela 2 - Parâmetros de interação determinados para a equação de estado cúbica de Peng Robinson (1976) combinada com a regra de mistura quadrática.

Ácidos Graxos	Soave-Redlich-Kwong		Função
	k_{ij}	l_{ij}	
Ácido Láurico	0,018497	-0,054629	1,042115
Ácido Mirístico	0,190434	0,087295	0,369865
Ácido Palmítico	-0,169788	-0,059234	1,42E-11
Ácido Esteárico	0,179218	0,085523	0,811422
Ácido Oleico	0,072775	-0,026586	1,058823
Ácido Palmítico	0,05011	-0,002492	2,002923

Tabela 3 - Parâmetros de interação determinados para a equação de estado cúbica de Soave-Redlich-Kwong (1972) combinada com a regra de mistura quadrática.

3.2 Determinação da solubilidade do óleo de Bacaba e óleo de Ucuúba em CO₂ supercrítico

O cálculo da solubilidade do óleo de bacaba (*Oenocarpus bacaba*) em dióxido de carbono supercrítico apresentou resultados conforme o esperado, uma vez que

a solubilidade do óleo em dióxido de carbono supercrítico aumentou conforme o aumento da pressão. O aumento da pressão ocasiona o aumento da densidade do dióxido de carbono supercrítico promovendo aumento do poder de solvatação do solvente. Assim, pode-se verificar que o aumento da pressão promoverá o aumento no valor da solubilidade do dióxido de carbono supercrítico no óleo de bacaba (*Oenocarpus bacaba*). No gráfico 1 verifica-se um ponto de cruzamento entre as isotermas de 313 Kelvins e 333 Kelvins na pressão de 190bar. Este fenômeno é definido fenômeno de condensação retrógrada, na qual a pressão de vapor do soluto é o efeito dominante na solubilidade. O efeito de condensação retrógrada também foi relatado por Oliveira et al. (2016) que analisou rendimentos globais de óleo essencial de cravo obtido por CO₂ supercrítico

O cálculo da solubilidade do óleo de Ucuúba (*Virola surinamensis*) em dióxido de carbono supercrítico mostrou que o valor predito de solubilidade aumentou conforme ocorreu o aumento da temperatura. Experimentos semelhantes descritos na literatura sobre obtenção de óleos vegetais usando CO₂ supercrítico apresentaram o mesmo comportamento para o óleo de pistacho (Palazoglu & Balaban, 1998) e óleo de amendoim (Goodrum & Kilgo, 1987). O gráfico 2, mostra o comportamento da solubilidade do óleo de Ucuúba (*Virola surinamensis*) em dióxido de carbono supercrítico obtido em nas isotermas de 313, 333 e 353 Kelvins.

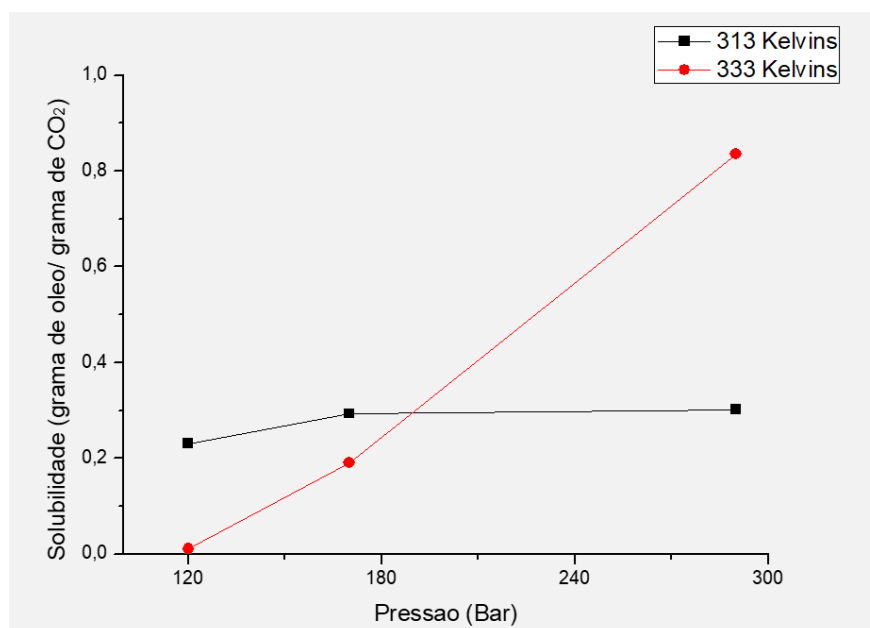


Gráfico 1 - Solubilidade calculada pela equação de Peng-Robinson (1976) com regra de mistura quadrática para o sistema óleo de bacaba (*Oenocarpus bacaba*) e CO₂ supercrítico.

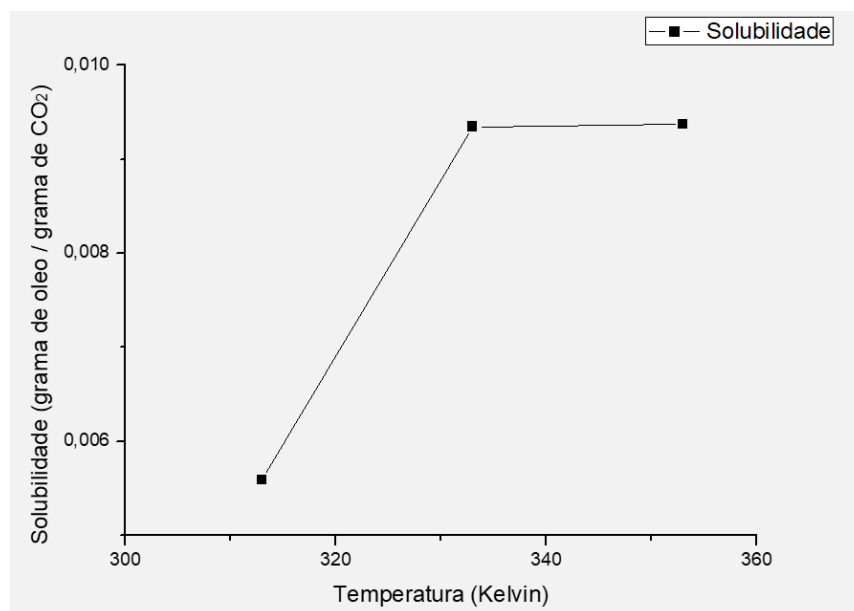


Gráfico 2 - Solubilidade calculada pela equação de Peng-Robinson (1976) com regra de mistura quadrática para o sistema óleo de Ucuúba (*Virola surinamensis*) e CO₂ supercrítico.

4 | CONCLUSÃO

O conhecimento da termodinâmica do equilíbrio de fases é importante para o projeto de processos aplicados com a tecnologia com fluidos supercríticos. No estudo da modelagem termodinâmica dos sistemas óleo de bacaba - CO₂ e óleo de ucuúba - CO₂, os resultados apresentaram baixos erros absolutos entre o valor calculado e o experimental para ambas as equações utilizadas quando combinadas com a regra de mistura quadrática.

A solubilidade do óleo de bacaba (*Oenocarpus bacaba*) aumentou conforme houve aumento da pressão, confirmando o efeito dominante da densidade do solvente no processo de solvatação. Dentre as condições de temperatura e pressão consideradas, verificou-se que a solubilidade foi máxima na temperatura de 333 Kelvins e pressão igual a 290bar.

A solubilidade do óleo de ucuúba (*Virola surinamensis*) aumentou conforme houve aumento da temperatura, confirmando o efeito dominante da pressão de vapor do soluto no processo de solvatação. Dentre as condições de temperatura e pressão consideradas, verificou-se que a solubilidade obteve valor máximo na temperatura de 353 Kelvins e pressão igual a 350bar.

REFERÊNCIAS

ARANDA, S. F.; GÓMEZ-ALONSO, R.M. RIVERA DEL ÁLAMO, M.D. SALVADOR, G. FREGAPANE. **Triglyceride, total and 2-position fatty acid composition of Cornicabra virgin olive oil: comparison with other Spanish cultivars**, Food Chem. 86, 485–492. 2004.

ARAÚJO, M. E.; AZEVEDO-JR., C. M.; SANTOS, J. L.; PENA, M. V.; MEIRELES, M. A. A. **Programa Computacional para o Cálculo do Equilíbrio de Fases de Sistemas Multicomponentes**

empregando o Algoritmo Flash. Proceedings of XXVII Iberian Latin American Congress on Computational Methods in Engineering, CD-ROM, p. 1-19, setembro, 2006.

BHARATH, R.; YAMANE, S.; INOMATA, H.; ADSCHIRI, T.; ARAI, K. **Phase Equilibria Of Supercritical CO₂ - Fatty Oil Component Binary Systems.** Fluid Phase Equilibria. v. 83, p. 183-192, 1993.

C. DE CÁSSIA RODRIGUES BATISTA, M.S. DE OLIVEIRA, M.E. ARAÚJO, A.M.C. RODRIGUES, J.R.S. BOTELHO, A.P. DA SILVA SOUZA FILHO, N.T. MACHADO, R.N. CARVALHO JR., **Supercritical CO₂ extraction of açai (Euterpe oleracea) berry oil: global yield, fatty acids, allelopathic activities, and determination of phenolic and anthocyanins total compounds in the residual pulp,** J. Supercrit. Fluids 107, 364–369. 2016.

COSTA, B.E.T.; SANTOS, O.V.; CORRÊA, N.C.F.; FRANÇA, L.F.; **Comparative study on the quality oil extracted from two tucumã varieties using supercritical carbon dioxide.** Food Science and Technology, 36(2): 322-328. 2016.

CUNHA, V.M.B.; DA SILVA, M.P.; DE SOUSA, S.H.B.; BEZERRA, P.N.; MENEZES, E.G.O.; DA SILVA, N.J.N.; BANNA, D.A.D.; ARAUJO, M.E.; CARVALHO JUNIOR, R.N.; **Bacaba-de-leque (Oenocarpus distichus Mart.) oil extraction using supercritical CO₂ and bioactive compounds determination in the residual pulp.** Journal of Supercritical Fluids, 144, 81–90. 2019.

CONSTANTINO, L.; GANI, R. **New group contribution method for estimating properties of pure compounds.** AIChE Journal, vol. 40, no 10, out, 1994.

CORDEIRO, R.M.; SILVA, A.P.S.; PINTO, R.H.H.; COSTA, W.A.; SILVA, S.H.M.; PINHEIRO, W.B.S.; ARRUDA, M.S.P.; CARVALHO JUNIOR, R.N. **Supercritical CO₂ extractions of Ucuúba (Virola surinamensis) seed oil: global yield, kinetic data, fatty acid profile, and antimicrobial activities.** Chemical Engineering Communications, 2018.

J.W. GOODRUM, M.B. KILGO. **Peanut oil extraction with SC-CO₂: Solubility and kinetic functions,** Transactions of the ASAE, American Society of Agricultural Engineers 30 (6) 1865–1868. 1987.

MAHESHWARI, P.; NIKOLOV, Z.L.; WHITE, T.M.; HARTEL, R. **Solubility of Fatty Acids in Supercritical Carbon Dioxide.** JAOCS. v. 69, n° 11, p. 1069-1076. 1992.

NANNOOLAL, Y.; RAREY, J.; RAMJUGERNATH, D. **Estimation of Pure Component Properties Part 3. Estimation of The Vapor Pressure of Non-Electrolyte Organic Compounds via Group Contributions and Group Interactions.** Fluid Phase Equilibria, 269, 117–133. 2008.

OLIVEIRA, M.S.; COSTA, W.A.; PEREIRA, D.S.; BOTELHO, J.R.S.; MENEZES, T.O.A.; ANDRADE, E.H.A.; DA SILVA, S.H.M.; FILHO, A.P.S.; CARVALHO JUNIOR, R.N.; **Chemical composition and phytotoxic activity of (Syzygium aromatic) essential obtained with supercritical CO₂.** Journal of Supercritical Fluids, Vol. 118, 185–193, 2016.

PENG, D.Y.; ROBINSON, D.B. **A New Two-Constant Equation of State.** Industrial and Engineering Chemical Fundamental. v.15, p.59-64, 1976.

PINTO, R.H.H.; SENA, C.; SANTOS, O.V.; COSTA, W.A.; RODRIGUES, A.M.C.; CARVALHO JUNIOR, R.N. **Extraction of Bacaba (Oenocarpus bacaba) oil with supercritical CO₂: Global yield isotherms, fatty acid composition, functional quality, oxidative stability, spectroscopic profile and antioxidant activity.** Grasas y Aceites, v.69, 2018.

PITZER, K.S.; LIPPMAN, D.Z.; CURL-JR., HUGGINS, C.M.; PATERSEN. **The volumetric and Thermodynamic Properties of Fluids I. Theoretical Basis and Virial Coefficients II. Compressibility Factor, Vapor Pressure and Entropy of Vaporization.** Journal of The American Chemists' Society, v.77, p.3427-3440, 1955.

SOAVE, G. **Equilibrium Constants from a Modified Redlich-Kwong Equation of State**. Chemical Engineering Science.v.27, p. 1192-1203, 1972.

T.K. PALAZOGLU, M.O. BALABAN. **Supercritical CO₂ extractions of lipids from roasted pistachio nuts**, Transactions of the ASAE, American Society of Agricultural Engineers. 41 (3), 679–684. 1988.

YAU J-S.; CHIANG, Y-Y.; SHY, D-S.; TSAI, F-N. **Solubilities of Carbon Dioxide in Carboxylic Acids under High Pressures**. Journal of Chemical Engineering of Japan v.25(5), p. 544-548. 1992.

ZOU, M.; YU, Z-R.; KASHULINES, P.; RIZVI, S.S.H.; ZOLLWEG. **Phase Equilibria of Fatty Acids and Fatty Acid Methyl Esters in Supercritical Carbon Dioxide**. Journal of Supercritical Fluids. v. 3, n. 1, p. 23-28. 1990.

PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DAS SEMENTES DE CAFÉ (*Coffea arabica*, L.) EM FUNÇÃO DE DA ADUBAÇÃO NITROGENADA

Danilo Marcelo Aires dos Santos

Universidade Estadual do Tocantins (Unitins),
Engenharia Agrônômica, Palmas - TO

Enes Furlani Júnior

Universidade estadual Paulista (FE-Unesp),
Fitotecnia, Ilha Solteira - SP

Michele Ribeiro Ramos

Universidade Luterana do Brasil – CEULP;
Universidade Estadual do Tocantins (Unitins),
Engenharia Agrônômica (Agronomia), Palmas –
TO

Eliana Duarte Cardoso

Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul
(UEMS), Agronomia, Cassilândia – MS

André Rodrigues Reis

Universidade estadual Paulista (FCE-Unesp),
Tupã - SP

Pesquisa da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira UNESP/FE, localizada no município de Selvíria-MS. O delineamento experimental empregado foi o de blocos ao acaso no esquema fatorial 5x3 com: a- doses crescentes de N (0, 50, 150, 250 e 350 kg ha⁻¹ de N); b- sistemas de parcelamento da adubação nitrogenada (aplicação única em dezembro; parcelado em duas vezes – novembro e dezembro e parcelado em três vezes – novembro, dezembro e janeiro). As doses e modo de aplicação do Nitrogênio influenciam nos componentes bioquímicos da semente do café, o que pode afetar diretamente a qualidade da bebida.

PALAVRAS-CHAVE: Manejo da adubação, qualidade de grãos, teor de proteína, teor de açúcares.

RESUMO: O nitrogênio é um dos nutrientes mais exigidos pelas culturas, tendo inúmeras funções. Os nutrientes são fundamentais na formação das sementes, principalmente no que diz respeito à constituição das membranas e acúmulo de carboidratos, lipídios e proteínas. Assim, o estudo realizado objetivou os efeitos de doses e épocas de aplicação de nitrogênio nas características bioquímicas das sementes de cafeeiro em formação cv. Catuaí Vermelho, linhagem IAC 144 O experimento foi instalado em uma área experimental na Fazenda de Ensino e

BIOCHEMICAL PARAMETERS OF COFFEE SEEDS (*Coffea arabica*, L.) AS RESULT OF NITRIGEN FERTILIZATION

ABSTRACT: Nitrogen is one of the nutrients most required by crops and has many functions. Nutrients are fundamental in seed formation, especially with regard to membrane constitution and accumulation of carbohydrates, lipids and proteins. Thus, this study aimed to study the effects of nitrogen application rates and times on the biochemical characteristics of coffee seeds

in cv. Catuaí Vermelho, IAC 144 strain The experiment was installed in an experimental area at the Teaching and Research Farm of the Ilha Solteira UNESP / FE School of Engineering, located in Selvíria-MS. The experimental design was a randomized block design in a 5x3 factorial scheme with: increasing doses of N (0, 50, 150, 250 and 350 kg ha⁻¹ of N); b- Nitrogen fertilizer installment systems (single application in December; split in two - November and December and split in three - November, December and January). Nitrogen doses and methods of application influence the biochemical components of coffee seed, which may directly affect the quality of the beverage.

KEYWORDS: Fertilization management, grain quality, protein content, sugar content.

1 | INTRODUÇÃO

A adubação é um dos vários fatores que influenciam na produção das culturas, sendo que dentre os adubos utilizados o nitrogênio é um dos mais complicado de ser manejado devido a sua alta exigência em estádios definidos do desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das culturas e também a perda por lixiviação. Existem várias recomendações para se fazer a adubação nitrogenada, que se mal manejada traz vários problemas para a cultura e para o ambiente.

O nitrogênio é um dos nutrientes mais exigidos pelas culturas, tendo inúmeras funções, como estimular a formação e o desenvolvimento de gemas floríferas e frutíferas, aumentar a vegetação, o perfilhamento e os teores de proteínas. Além disso, é componente estrutural de aminoácidos e proteínas, bases nitrogenadas e ácidos nucleicos, enzimas, coenzimas e vitaminas, pigmentos e outros produtos secundários (MALAVOLTA et al. 1997).

É relevante ressaltar que o papel dos nutrientes é fundamental na formação das sementes, principalmente no que diz respeito à constituição das membranas e acúmulo de carboidratos, lipídios e proteínas. As funções de ativação enzimática, síntese, transferência de energia e regulação hormonal são características fundamentais do aspecto de formação, desenvolvimento e maturação das sementes e assim, tanto micro como macronutrientes apresentam importância similar nesses eventos. Se os efeitos dos nutrientes na qualidade fisiológica das sementes em muitos trabalhos não são tão pronunciados, as deficiências geralmente se mostram marcantes, de forma que, se nutrições adequadas aumentam significativamente a produção e qualidade das sementes em níveis superiores, estas devem ser recomendadas (SÁ, 1994).

A composição química dos grãos de café depende de fatores genéticos, ambientais e de condições de manejo e pós-colheita, e tem despertado interesse de inúmeros pesquisadores. Há mais de cem anos o café vem sendo analisado para definir a sua composição, mas somente recentemente conseguiu-se um avanço com o desenvolvimento de novas técnicas e equipamentos de análise (CLIFFORD, 1985).

Rinantonio (1987) estudou a composição química dos grão de café e verificou para café arábica uma faixa de teores de 55 a 65,5% de carboidratos, em que 6 a

12,5 % correspondiam a carboidratos solúveis e 34 a 53% constituem estruturas insolúveis. Os lipídeos respondem por 15 a 18%, com 0,2 a 0,3% de gordura e 7,7 a 17,8% a óleos, compostos nitrogenados de 11 a 15%, sendo 0,2 a 0,8 % de aminoácidos; 8,5 a 12% de proteína.

O amadurecimento dos frutos é caracterizado por vários fatores, destacando-se entre eles o aumento no teor de açúcares solúveis em decorrência da degradação do amido (PIMENTA, 1995), e o açúcar que predomina no café é a sacarose, que é um tipo de açúcar não redutor (MAZZAFERA, 1999).

Do exposto, o presente trabalho objetivou avaliar os efeitos de doses e épocas de aplicação de nitrogênio nas características bioquímicas das sementes de cafeeiro em formação cv. Catuaí Vermelho, linhagem IAC 144.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização Do Experimento

O presente trabalho foi instalado em uma área experimental na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão – Setor de Produção Vegetal, da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FE/UNESP), localizada no município de Selvíria-MS, com coordenadas geográficas 20°20' de Latitude Sul e 51°24' de Longitude Oeste e com altitude média de 344m. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Aw, definido como tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno.

2.2 Características Do Solo

O solo cultivado é do tipo LATOSSOLO VERMELHO Distrófico típico, textura argilosa, segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos, (EMBRAPA, 2006). Com a devida antecedência foi realizada amostragem de solo para caracterização das propriedades químicas, seguindo a metodologia de análise descrita por Raij e Quaggio (1983, 1987), Raij et al. (2001) e Embrapa (1999). De acordo com as análises obtidas da amostra de solo (Tabela 1), foram aplicados 50 kg ha⁻¹ de P₂O₅, 160 kg ha⁻¹ K₂O e 160 kg ha⁻¹ de N, essas adubações foram realizadas no início do período chuvoso (mês de setembro).

Identificação	P	MO	pH	K	Ca	Mg	H+Al	Al	SB	T	V	m
Café	mg.dm ⁻³	g.dm ⁻³	CaCl ₂		-----mmolc dm ⁻³ -----						%	%
0-10 cm	5	18	4,8	0,90	31	15	55	2	47	102	46	5
10-20 cm	7	14	4,8	0,90	32	15	34	4	49	82	49	7
20-30 cm	4	14	4,7	0,90	25	13	46	3	39	85	46	7

Tabela 1 - Resultado da análise química do solo no município de Selvíria - MS.

2.3 Delineamento Experimental

O delineamento foi o de blocos ao acaso, no esquema fatorial 5x3, com quatro repetições. Como tratamento avaliou-se doses crescentes (0, 50, 150, 250 e 350 kg/ha) de nitrogênio e sistemas de parcelamento (aplicação única em dezembro, parcelado em duas vezes – novembro e dezembro, parcelado em três vezes – novembro, dezembro e janeiro). As doses de N foram aplicadas na projeção da coroa entre na primeira quinzena dos respectivos meses, e a fonte de N utilizada foi a uréia.

Cada parcela experimental foi composta por 11 plantas onde colheu – se frutos das 5 plantas centrais.

2.4 Avaliações realizadas

2.4.1 Extração Proteína solúvel total

Para a extração da proteína solúvel total foi utilizado o método descrito por Bielski e Turner (1966). 1 g da farinha (grãos de café moídos) foi utilizada para a extração da proteína; acrescentou-se à mesma 4 mL de NaOH a 0,1 N e homogeneizou-se em seguida. Esta mistura ficou por 24 horas a 10°C e, posteriormente, foi centrifugada a 1500 g por 10 minutos. A extração foi repetida por mais duas vezes, até volume total de 10 mL. O resíduo foi descartado.

Para a quantificação da proteína solúvel total, utilizou-se o método descrito por Bradford (1976). À alíquota de 0,1 mL do extrato obtido foram acrescentados 5 mL do reagente de Bradford e mantido em repouso, por 2 minutos, tempo necessário para se completar a reação. Depois de completada a reação e antes de 1 hora, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 595 nm. O reagente foi preparado a partir de 50 mg de Comassie Blue Brilliant G 250 que foram dissolvidos em 50 mL de Etanol a 95% (P:V), acrescentados 100 mL de Ácido Ortofosfórico a 85% (P:V) e o volume completado até 1000 mL com água destilada. O reagente foi mantido em frasco escuro à temperatura ambiente. O padrão utilizado foi Albumina Soro Bovino na faixa de 0 à 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de proteína.

2.4.2 Extração de aminoácidos e carboidratos

A extração de aminoácidos e carboidratos foram realizadas segundo o método descrito por Bielski e Turner (1966), para a qual tomou-se 1 g de farinha de grãos de café e 10 mL de MCW (metanol, clorofórmio e água, na proporção 12:5:3), que foi homogeneizado imediatamente, deixando em repouso por 24h a 10°C e centrifugando

a 1500 g por 10 minutos. O sobrenadante (S1) e o resíduo (R1) foram reservados separadamente. Prosseguindo a extração, para cada 4 volumes do sobrenadante S1 foram adicionados um volume de clorofórmio e 1,5 volume de água destilada. A mistura foi centrifugada e a fase orgânica descartada. A fase aquosa (FA) obtida foi usada para a determinação do teor de aminoácidos e açúcares livres.

Para a extração de polissacarídeo solúvel em água (WSP) foram acrescentados 4 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 10 % (w:v) ao resíduo R1 em um tubo de centrifugação, misturado e centrifugado a 1500 g por 10 minutos, obtendo o sobrenadante (S2). A extração foi repetida por mais duas vezes, até completar o volume de 10 mL de S2. O sobrenadante S2 obtido foi utilizado para dosagem de WSP e o resíduo (R2) reservado para a extração de amido.

Ao resíduo R2 foram adicionados 4 mL de ácido perclórico (PCA) a 30% (w:v) que foi homogeneizado e centrifugado a 1500 g por 10 minutos. O processo de extração foi repetido por três vezes, obtendo-se volume final de sobrenadante (S3) de 10 mL de extrato. O sobrenadante S3 foi utilizado para a determinação de amido e o resíduo foi descartado.

Análise quantitativa de aminoácido - O método de Yemn & Cocking (1955) foi utilizado para a determinação de aminoácidos. A 1 mL da FA obtida acrescentou-se 500 µL de tampão citrato + 200 µL de solução de ninhidrina 5% em Metilglicol + 1 mL de solução de KCN (2×10^{-4} M). A mistura foi aquecida em banho maria a 100°C por 10 minutos, resfriada por 10 minutos em água corrente e, em seguida, completou-se o volume total para 4 mL utilizando-se álcool etílico à 60%. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 570 nm. O padrão utilizado foi Leucina na faixa de 0 à 100 µg mL⁻¹.

Análise quantitativa de carboidratos - Os açúcares livres, o WSP e o amido foram quantificados pelo método Fenolsulfúrico, descrito por Dubois et al. (1956). A 1 mL dos extratos obtidos adicionaram-se 1 mL de solução aquosa de fenol a 5% (w:v) e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi agitada e mantida por 15 minutos para completar a reação e esfriar. Após o resfriamento dos tubos, foi feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 490 nm. A curva padrão utilizada foi determinada com dextrose na faixa de concentração de 0 a 100 µg mL⁻¹.

2.4.3 Extração de Lipídeos

Lipídeos foram determinados através da metodologia de Bligthe e Dyer (1959), onde consisti em pesar de 3 a 5 g de amostra bem triturada e transferiu para um erlenmeyer, adicionar 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de águas destilada, agitar essa solução por 30 minutos, após esse tempo foi adicionado mais 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução aquosa de sulfato de Na a 1,5 %, agitar essa mistura por 2 minutos. A solução agitada foi centrifugada a 3300 rpm a 25°C durante 2 minutos, esse processo necessário para separar as fases, assim, descarta –se o

sobrenadante e filtra a solução em um Becker com peso conhecido, foi realizado duas filtrações da solução, o filtrado foi colocado na estufa a 110° por 20 minutos, após o resfriamento do recipiente pesou –se o Becker e por diferença determinou a quantidade de lipídeos.

2.5 Análise Estatística

Os dados obtidos no presente trabalho foram submetidos à análise de variância através do teste F e teste de comparação de médias (Tukey) ao nível de significância de 5%, utilizando a metodologia descrita por Pimentel Gomes (2000).

3 | RESULTADO E DISCUSSÃO

Analisando os valores de WSP, açúcar livre, Amido, aminoácido, proteína e lipídeos, verifica-se na Tabela 2, que não houve efeito significativo para doses de N e nem para modos de aplicação, porém mostra-se interação entre os fatores estudados para aminoácido, proteína e lipídeos. Gomes Junior et al. (2005) afirmam que o nitrogênio absorvido pelas plantas pode combinar-se com esqueletos carbônicos para a produção de aminoácidos, os quais resultarão em proteínas que ficarão armazenadas nos tecidos vegetais, e no processo de formação dos grãos essas reservas são quebradas, transcoladas e armazenadas nesses órgãos na forma de proteínas e aminoácidos.

Tratamentos	wsp	al	am	aa	prot	lipídeos
Dose(D)	0,76	0,45	0,66	0,94	0,05	0,90
Modos(M)	0,62	0,42	0,67	0,07	0,45	0,31
p>F D*M	0,19	0,052	0,055	0,0001**	0,015*	0,005**
Reg. Linear	0,60	0,38	0,63	0,63ns	0,07	0,71
Reg. Quad.	0,79	1,00	0,39ns	0,95ns	0,28	0,41
CV(%)	14,43	31,54	17,61	11,24	13,66	52,57
Modos de aplicação						
Dezembro	88,72	45,45	110,70	13,48	148,42	1,38
Nov/Dez	86,88	50,80	106,12	12,61	150,67	1,07
Nov/Dez/Jan	90,80	51,30	111,00	13,65	156,47	1,31
Doses de N						
0	86,60	47,52	106,99	12,97	155,75	1,40
50	88,17	56,67	112,32	13,40	137,58	1,21
150	92,05	48,41	107,21	13,22	146,30	1,22
250	86,44	45,46	104,70	13,22	160,28	1,15
350	90,76	47,87	115,15	13,42	159,35	1,29

TABELA 2 -Valores de médios de polissacarídeos solúveis em água (WSP), açúcar livre (al), Amido (am), aminoácidos (aa), proteína (prot) em mg e lipídeos (g. mg⁻¹) em função das doses e modos de aplicação de N. (Primeiro ano de avaliação).

**, * - significativo a 1% e 5% respectivamente pelo Teste F da análise de variância. Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Analisando os dados do desdobramento da interação entre doses de N e modos de aplicação para a variável aminoácido tem - se a Tabela 3, onde pode – se observar que o as doses influenciaram no modos de aplicação, sendo a aplicação única e parcelada em três momentos tiveram ajuste quadrático de acordo com a análise de regressão polinomial, com o incremento até a dose de 350 kg de N ha⁻¹ para ambas, e para o modos de aplicação parcelado em duas vezes, o ajuste foi linear, tendo incremento do valor do aminoácido, de acordo que as doses de N aplicados foram acrescidas. Para a doses dentro de modos, apenas duas doses de N interferiram no modos de aplicação, a dose de 50 Kg de N ha⁻¹, onde verifica- seque o modos parcelado em três momentos, teve os maiores valores do aminoácido. Os autores Morot- Gaudry, Job e Lea (2001) relatam que as folhas velhas hidrolisam grande parte de suas proteínas e degradam outros compostos nitrogenados para o desenvolvimento de frutos e sementes, os quais recebem a maior parte do N na forma de aminoácidos.

Fatores	aminoácido				
Doses x Modos					
Modos dentro de doses	0	50	150	250	350
Dezembro	14,35a	11,71b	12,16	14,46	14,96
Nov/Dez	10,33b	13,67ab	14,47	14,26	10,32
Nov/Dez/Jan	14,46a	14,81a	13,05	10,94	14,99
Doses dentro de modos					
	Dezembro	Nov/Dez	Dez/Nov/Dez		
P>F(linear)	0,032*	0,79	0,26		
P>F(quadrática)	0,040*	0,0001**	0,002**		
r ²	32,00				
R ²	61,00		94,00		57,00
Dez	Y= 0,00005X ² + 0,01X + 13,32				
Nov/Dez	Y= -0,0006X + 12,72				
Nov/Dez/Jan	Y= 0,00008X ² – 0,03X + 15,29				

TABELA 3 - Valores de médios de aa em função da interação entre os fatores doses e modos de aplicação de N. (Primeiro ano de avaliação)

*** - significativo a 1% e 5% respectivamente pelo Teste F da análise de variância. Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O desdobramento dos fatores doses de N e modos de aplicação para a variável proteína, observa-se que a interação ocorreu no modos parcelado em dois momentos, tendo ajuste linear com relação a doses aplicadas. O N está relacionado diretamente com síntese de proteínas estruturais e enzimáticas, as quais são responsáveis pela síntese de outras proteínas e dos intermediários metabólicos a planta pode armazenar a proteína para utilizar de acordo com as necessidades suas necessidades metabólicas (Tabela 4).

Fatores	proteína				
Doses x Modos					
Modos dentro de doses	0	50	150	250	350
Dezembro	142,03	130,00	160,31	152,66	157,11
Nov/Dez	152,66	124,38	152,11	177,58	172,27
Nov/Dez/Jan	172,58	158,36	126,48	150,62	148,67
Doses dentro de modos	Dezembro		Nov/Dez		Dez/Nov/Dez
P>F(linear)	0,10		0,003**		0,11
P>F(quadrática)	0,56		0,10		0,42
r ²	48,00		43,00		72,00
R ²	54,00		55,00		91,00
Nov/Dez	Y = 0,11X + 132,44				

TABELA 4 - Valores de médios de proteína em função da interação entre os fatores doses e modos de aplicação de N. (Primeiro ano de avaliação)

***, * - significativo a 1% e 5% respectivamente pelo Teste F da análise de variância. Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O N participa componentes da estrutura celular, como carboidratos, lipídios e pigmentos, assim pode - se verificar que os valores de lipídeos com relação ao desdobramento da interação dos fatores doses de N e modos de aplicação (Tabela 5), tem - se aplicação única ajuste linear e as parceladas ajuste quadrático de acordo com a análise de regressão polinomial, com o incremento até a dose de 50 kg de N ha⁻¹, e a dose de N influenciou o modos de aplicação sendo que o maior valor foi obtido com o modos único e parcelado em duas aplicações.

Fatores	Lipídeos				
Doses x Modos					
Modos dentro de doses	0	50	150	250	350
Dezembro	0,96	0,84	1,42	1,92a	1,77a
Nov/Dez	1,56	0,88	0,78	0,60b	1,54ab
Nov/Dez/Jan	1,68	1,92	1,45	0,91ab	0,57b
Doses dentro de modos	Dezembro		Nov/Dez		Nov/Dez/Jan
P>F(linear)	0,011*		00,93		0,001**
P>F(quadrática)	0,54		0,014*		0,60
r ²	82,00				92,00
R ²			89,00		
Dezembro	Y = 0,03X + 0,89				
Nov/Dez	Y = 0,00003X ² - 0,01X + 1,49				
Nov/Dez/Jan	Y = -0,00006 X ² - 0,001X + 1,82				

TABELA 5 - Valores de médios de lipídeos em função da interação entre os fatores doses e modos de aplicação de N. (Primeiro ano de avaliação)

***, * - significativo a 1% e 5% respectivamente pelo Teste F da análise de variância. Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

Os valores de WSP, açúcar livre, Amido, aminoácido, proteína e lipídeos, estão na Tabela 6, verifica-se, que não houve efeito significativo para doses de N, para nenhuma variável estudada, mas para o fator modos de aplicação, houve efeito significativo para proteína, e quando aplicado o N em dois momentos obteve o menor valor desta variável, como o nutriente aplicado formam compostos que constituem a estrutura da planta e são requeridos para o crescimento celular e dos órgãos, como os frutos (LEMAIRE et al., 1992), de acordo com as necessidades de desenvolvimento da planta.

Tratamentos	wsp	al	am	aa	prot	lipídeos
Dose(D)	0,89	0,39	0,70	0,95	0,28	0,74
Modos(M)	0,06	0,21	0,61	0,49	0,012*	0,59
p>F D*M	0,17	0,20	0,11	0,07	0,052	0,06
Reg. Linear	0,82	0,59	0,25	0,61	0,80	0,41
Reg. Quad.	0,48	0,25	0,91	0,98	0,51	0,82
CV(%)	26,79	40,91	20,04	26,72	14,82	53,25
Modos de aplicação						
Dezembro	124,53	103,61	122,74	12,69	144,36 a	1,33
Nov/Dez	102,11	130,80	116,28	13,52	98,83 b	1,10
Nov/Dez/Jan	105,83	119,98	114,98	14,04	108,42 ab	1,19
Doses de N						
0	118,01	131,86	121,99	13,40	112,89	1,36
50	106,56	96,71	120,88	14,14	98,57	1,11
150	107,52	117,33	121,68	13,28	108,20	1,33
250	110,63	114,26	110,69	13,11	107,98	1,16
350	111,39	130,48	114,75	13,16	108,44	1,08

TABELA 6 - Valores de médios de WSP, açúcar livre (al), Amido (am), aminoácidos (aa), proteína (prot) em mg e lipídeos (g. mg⁻¹) em função das doses e modos de aplicação de N. (Segundo ano de avaliação).

**, * - significativo a 1% e 5% respectivamente pelo Teste F da análise de variância. Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

A determinação dos teores WSP, açúcar livre, Amido, aminoácido, proteína e lipídeos nos grãos de café obtidos no ano terceiro ano de avaliação, verificou-se que não houve efeito significativo para doses de N e nem para modos de aplicação, porém houve efeito significativo para a interação entre os fatores para a WSP e aminoácido. (Tabela 7)

Tratamentos	wsp	al	am	aa	prot	lipídeos
Dose(D)	0,61	0,39	0,41	0,12	0,42	0,75
Modos(M)	0,63	0,56	0,23	0,31	0,66	0,37
p>F D*M	0,04*	0,31	0,38	0,05*	0,67	0,08
Reg. Linear	0,42	0,28	0,63	0,04	0,73	0,71
Reg. Quad.	0,91	0,76	0,23	0,09	0,17	0,66

CV(%)	40,38	38,53	23,32	24,20	18,58	27,18
Modos de aplicação						
Dezembro	111,20	73,20	118,43	13,88	124,44	1,31
Nov/Dez	109,09	81,00	109,69	12,37	123,08	1,07
Nov/Dez/Jan	99,10	71,80	104,51	12,86	118,27	1,34
Doses de N						
0	98,44	74,62	123,36	13,56	119,48	1,22
50	102,01	74,95	119,06	13,68	124,84	1,35
150	118,23	74,76	113,40	13,77	121,67	1,13
250	96,93	74,12	118,28	13,66	130,60	1,39
350	116,70	67,56	118,03	10,80	113,05	1,10

TABELA 7 - Valores de médios de WSP, açúcar livre (al), Amido (am), aminoácidos (aa), proteína (prot) em mg e lipídeos (g. mg⁻¹) em função das doses e modos de aplicação de N. (terceiro ano de avaliação).

***, * - significativo a 1% e 5% respectivamente pelo Teste F da análise de variância. Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

O desdobramento da interação de doses de N com modos de aplicação para a variável WSP tem - se que a aplicação única teve ajuste linear, ou seja, o teor de WSP, cresceu de acordo que as doses de N aplicados foram incrementadas, Cardoso (2006), estudou adubação nitrogenada em ervilha e constatou que o N influência na quantidade de polissacarídeos dos grãos. (TABELA 8)

Fatores	WSP				
Doses x Modos					
Modos dentro de doses	0	50	150	250	350
Dezembro	62,88b	113,08	115,00	104,74	116,96
Nov/Dez	89,74ab	111,70	132,24	90,79	100,32
Nov/Dez/Jan	142,70a	81,25	107,46	95,27	104,99
Doses dentro de modos	Dezembro	Nov/Dez	Dez/Nov/Dez		
P>F(linear)	0,009**	0,54	0,052		
P>F(quadrática)	0,98	0,57	0,69		
r ²	72,38				
R ²					
Dez	Y = 18,24 X +55,25				

TABELA 8 - Valores de médios de WSP em função da interação entre os fatores doses e modos de aplicação de N. (terceiro ano de avaliação).

***, * - significativo a 1% e 5% respectivamente pelo Teste F da análise de variância. Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

Na Tabela 9, pode - se observar que o as doses influenciaram o modos de aplicação, sendo a aplicação parcelada em três momentos tiveram ajuste linear de acordo com a análise de regressão polinomial, tendo incremento do valor do aminoácido, de acordo que as doses de N aplicados foram acrescidas. Para as doses dentro de modos, o teste de Tukey não apresentou diferenças significativas.

Fatores	aminoácidos				
Doses x Modos					
Modos dentro de doses	0	50	150	250	350
Dezembro	11,54	13,29	14,90	16,17	13,49
Nov/Dez	11,78	13,75	14,05	12,24	10,05
Nov/Dez/Jan	17,37	14,00	12,38	11,68	13,49
Doses dentro de modos	Dezembro	Nov/Dez	Dez/Nov/Dez		
P>F(linear)	0,18	0,32	0,0001**		
P>F(quadrática)	0,12	0,08	0,73		
r ²				95,00	
R ²					
Nov/Dez/Jan	Y= - 1,93X + 18,66				

TABELA 9 - Valores de médios de aa em função da interação entre os fatores doses e modos de aplicação de N. (terceiro ano de avaliação).

***, * - significativo a 1% e 5% respectivamente pelo Teste F da análise de variância. Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

4 | CONCLUSÕES

Através da análise e interpretação dos dados obtidos pode-se concluir que:

Que as doses e modo de aplicação do Nitrogênio influenciam nos componentes bioquímicos da semente do café, o que pode alterar a qualidade da bebida.

REFERÊNCIAS

ANDRADE NETO, J. F. **Atividade das enzimas redutase do nitrato e glutamina sintetase em cafeeiro arábica**. 2005. 60 f. Dissertação (Mestrado em agronomia: Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

BECKER, W. M. et al. Regulation of glyoxysomal enzymes during germination of cucumber. Developmental changes in cotyledonary protein, RNA and enzyme activities during germination. **Plant Physiology**, Washington, v. 62, p. 542-549, 1978.

BEEVERS, L.; HAGEMAN, R. H. Nitrate reduction in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, n. 20, p. 495-522, 1969.

BIELISKI, R. L.; TURNER, N. A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, New York, n.17, p. 278-293, 1966.

BLACKMER, T. M.; SCHEPERS, J. S. Techniques for monitoring crop nitrogen status in corn. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 25, n. 9/10, p. 1791-1800, 1995.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.

CARDOSO, E. D. **Efeito do Zn e N no conteúdo de aminoácidos, proteína e carboidratos dos grãos de ervilha (*Pisum sativum* L.), cultivar Utrillo**. 2006. 42 f. Dissertação (Mestrado em

Sistemas de Produção) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Ilha Solteira, 2006.

CLIFFORD, M. N. Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products. In: CLIFFORD, M. N.; WILSON, K. C. (Eds.). **Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage**. Westport: AVI Publishing, 1985. p. 305-374.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPq, 1994. 412 p.

GOMES JUNIOR, F. G. et al. Teor de proteína em grãos de feijão em diferentes épocas e doses de cobertura nitrogenada. **Acta Scientiarum – Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 3, p. 455- 459, 2005.

GUYOT, B. et al. Influence de l'altitude et de l'ombrage des cafés Arabica. **Plantations, Recherche, Développement**, Paris, v. 3, p. 272-280, 1996.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v.1, p. 190-192.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: POTAFÓS, 1997. 319 p.

LEMAIRE, G. et al. Dynamics of accumulation and partitioning of N in leaves, stems and roots of Lucerne (*Medicago sativa*) in a dense canopy. **Annals of Botany**, Oxford, v. 70, p. 429-435, 1992.

MAZZAFERA, P. Chemical composition of defective coffee beans. **Food Chemistry**, Barking, v. 64, p. 547-554, 1999.

MOROT-GAUDRY, J. F.; JOB, D.; LEA, P. J. Amino acid metabolism. In: LEA, P. J.;

MOROT-GAUDRY, J. F. (Eds.). **Plant nitrogen**. Berlin: Springer-Verlag, 2001. p. 275–293.

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

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 14. ed., rev. e ampl. Piracicaba: Nobel, 2000. 460 p.

RAIJ, B. van et al. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: IAC, 1996. 285 p.

RAIJ, B. V.; QUAGGIO, J. A. **Análise química de solos para fins de fertilidade**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 107 p.

RINANTONIO, V. Coffee. In: GERHARTZ, W. et al. **Ullman's encyclopedia of industrial chemistry**. New York: VCH, 1987. v. A7, p. 315-338.

SÁ, M. E. Importância da adubação na qualidade de sementes. In: SÁ, M. E.; BUZETTI, S. (Coords.). **Importância da adubação na qualidade dos produtos agrícolas**. São Paulo: Ícone, 1994. p. 65.

PRÉ-TRATAMENTO DE CASCAS DE AMENDOIM COM ULTRASSOM DE ALTA INTENSIDADE: EFEITO ESTRUTURAL E LIBERAÇÃO DE AÇÚCARES

Tiago Carregari Polachini

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos
São José do Rio Preto – São Paulo – Brasil
Grupo de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios (ASPA), Universitat Politècnica de València, Departamento de Tecnología de Alimentos
Valência – Espanha

Antonio Mulet

Grupo de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios (ASPA), Universitat Politècnica de València, Departamento de Tecnología de Alimentos
Valência – Espanha

Juan Andrés Cárcel

Grupo de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios (ASPA), Universitat Politècnica de València, Departamento de Tecnología de Alimentos
Valência – Espanha

Javier Telis-Romero

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos
São José do Rio Preto – São Paulo – Brasil

é altamente interessante para tornar os biocombustíveis competitivos. O pré-tratamento com ultrassom de alta intensidade foi investigado para permitir a hidrólise parcial e maior acessibilidade dos carboidratos presentes em cascas de amendoim. Suspensões aquosas de cascas de amendoim em pó foram pré-tratadas com ultrassom de alta intensidade a temperatura baixa fixa. Experimentos de um planejamento fatorial variaram em relação à concentração de biomassa (4-12%); tempo de aplicação (30–90 min) e potência nominal aplicada (500–1500 W). A liberação de açúcares (totais e redutores) aumentou significativamente com o aumento da potência nominal aplicada, com o tempo de exposição e com a diminuição da concentração de suspensões. O índice de cristalinidade também mostrou um ligeiro aumento durante a sonicação, provavelmente devido à maior digestão da celulose amorfa, principalmente em condições de cavitação mais brandas. Nas condições em que a cristalinidade relativa das cascas de amendoim diminuiu, o rendimento da liberação de açúcar aumentou. As imagens de microscopia eletrônica de varredura ilustraram a maior ruptura da estrutura à medida que o tempo de aplicação, a potência aplicada aumentou e a concentração de sólidos diminuiu, estando de acordo com análises anteriores. Assim, o pré-tratamento das cascas de amendoim após o uso de ultrassom de alta intensidade mostrou

RESUMO: Melhorar a conversão da biomassa

efeitos interessantes para intensificar processos subsequentes de hidrólise e/ou fermentação.

PALAVRAS-CHAVE: resíduo agroindustrial, bioetanol, cavitação, tecnologias emergentes.

PRETREATMENT OF PEANUT SHELLS BY HIGH-INTENSITY ULTRASOUND: STRUCTURAL EFFECTS AND SUGAR RELEASE

ABSTRACT: The improvement of biomass conversion is highly interesting to make biofuels competitive. The pretreatment with high-intensity ultrasound was investigated to perform partial hydrolysis and to improve the accessibility of the carbohydrates existing in peanut shells. For this, aqueous suspensions of powdered peanut hulls were pretreated with high-intensity ultrasound at low temperature. The factorial experimental design varied in relation to the biomass concentration (4-12%); exposure time (30-90 min) and nominal power applied (500-1500 W). The sugar (total and reducing) release increased significantly with the increase of the nominal power applied, the time of exposure and the decrease of the concentration of suspensions. The crystallinity index also showed a slight increase during sonication, probably due to the greater digestion of amorphous cellulose, especially under milder cavitation conditions. The conditions in which the relative crystallinity of the peanut hulls decreased, the yield of the sugar release increased. Scanning electron microscopy images showed the greater rupture of the structure as the time of application and the applied power increased and the solids concentration decreased, being in accordance to previous analyzes. The pretreatment of peanut hulls with high-intensity ultrasound showed interesting effects to enhance further hydrolysis and/or fermentation processes.

KEYWORDS: agroindustrial residue, bioethanol, cavitation, emerging technologies.

1 | INTRODUÇÃO

Os resíduos lignocelulósicos provenientes da agroindústria têm-se apresentado como fonte renovável para produção de biocombustíveis em substituição aos combustíveis fósseis. Dentre estes resíduos, encontram-se aqueles gerados pelas indústrias de beneficiamento de amendoim que, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), gera aproximadamente 350 mil toneladas de amendoim em casca ao ano (IBGE, 2016). Estima-se que 90 milhões de toneladas de casca sejam produzidas decorrentes do processamento do amendoim, uma vez que uma porcentagem de 25 a 30% do grão inteiro corresponde à casca (GODOY et al., 1982).

Sua composição rica em carboidratos, aliada a grande disponibilidade a baixo custo, favorece sua utilização como matéria-prima na indústria de bioetanol, também chamado de etanol de segunda geração. O processamento todo contempla

quatro principais etapas: um pré-tratamento do material para facilitar o acesso aos carboidratos, hidrólise/sacarificação da hemicelulose e celulose, fermentação dos açúcares produzidos e destilação do etanol resultante. Porém, o processamento de cada resíduo depende do processo, biodegradabilidade, desempenho frente à tecnologia aplicada em cada etapa (NARAYAN, 1994).

Para obter um material lignocelulósico com uma estrutura que permita a ação dos agentes químicos, físicos ou biológicos, são necessários pré-tratamentos para alterar a estrutura cristalina da celulose e aumento da porosidade do material (McMILLAN, 1994). A proposta do pré-tratamento é aumentar a superfície de atuação das enzimas e microrganismos com eventual produção de açúcares. Esta etapa reduz os custos do processamento global e melhora sua eficiência (LEE et al., 1999).

Existem várias formas de se oxidar este composto, porém alguns métodos são mais adequados e seletivos para que as cadeias de carbono sejam quebradas em um ponto específico, mantendo as ligações glicosídicas intactas para posterior fermentação (AIMIN et al., 2005). Um principal destaque são os estudos sobre a influência do ultrassom de potência, ou de alta intensidade para aumentar a acessibilidade à celulose (SASMAL et al., 2012). Os efeitos causados no material sólido durante a propagação das ondas ultrassônicas estão relacionados aos fenômenos de cavitação no meio líquido com geração de microcorrentes na interface sólido-líquido de forma suficientemente intensa para causar erosão em materiais poliméricos (MASON; LORIMER, 2002).

Visto que a contribuição do uso de ultrassom de alta intensidade para intensificar processos e reações vem sendo amplamente estudada, buscou-se por esse trabalho avaliar diferentes condições de pré-tratamentos de cascas de amendoim assistidos por ultrassom de alta intensidade. Como respostas aos experimentos analisados, foram avaliadas a produção de açúcares totais e redutores, variações no índice de cristalinidade e morfologia das partículas de biomassa.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material

Cascas de amendoim limpas e secas foram fornecidas pela Cooperativa Agroindustrial (COPLANA, Jaboticabal) e trituradas em um moinho de facas MA380 (Marconi, Piracicaba, Brasil) para obter um pó de tamanho médio de partícula em torno de 900 μm , determinado pelo ajuste do modelo teórico de Rosin-Rammler-Bennet (ALLEN, 1981) aos dados de retenção em peneiras da série Tyler. As cascas de amendoim em pó foram dispersas em água destilada de forma a obter suspensões aquosas de concentrações de 4, 8 e 10% (m/m). Estas suspensões foram preparadas previamente a cada pré-tratamento.

2.2 Pré-tratamento assistido por ultrassom

Em uma câmara encamisada de capacidade de 400 mL, aproximadamente 360 g das suspensões aquosas contendo pó de casca de amendoim foram inseridas previamente a cada ensaio. Um processador ultrassônico Vibra-Cell VCX 1500HV (Sonics and Materials, Connecticut, EUA), com uma sonda acoplada de titânio de diâmetro de 25 mm e comprimento de 254 mm, foi posicionado de forma que a sonda atinja toda a amostra. A aplicação do ultrassom foi realizado mantendo a temperatura da câmara a 10 °C com auxílio de um banho termostático.

Os ensaios foram realizados utilizando um planejamento experimental fatorial 3^3 , onde variou-se em três níveis os seguintes fatores: tempo de aplicação de ultrassom t (30; 60 e 90 min), potência aplicada U (500, 1000 e 1500W) e concentração de biomassa na suspensão X (4, 8 e 12%). Em todos os ensaios, o equipamento operou a uma frequência fixa de 20 kHz em sistema de pulsos contínuos. O delineamento experimental contou com 27 experimentos com 3 repetições no ponto central, totalizando 30 ensaios.

Decorrido o tempo de aplicação estabelecido, o hidrolisado foi centrifugado a 18500 rcf por 15 minutos. Com o auxílio de uma pipeta, o sobrenadante foi retirado para ser submetido às análises de açúcares totais e açúcares redutores. O sedimentado foi congelado e liofilizado em um liofilizador Liotop 101 (Liobrás, São Carlos, Brasil) a -52 °C e pressão de ~50 μ mHg por 72 horas para proceder às análises estruturais e morfológicas.

2.3 Determinação dos açúcares produzidos

Para avaliar a quantidade de açúcares totais (S_T) produzido durante o processo de pré-tratamento com ultrassom de alta intensidade, foi utilizado o método fenol-sulfúrico proposto por DuBois et al. (1956), adaptado por Masuko et al. (2005) para realização em microplaca. Uma curva padrão de glicose anidra foi usada para quantificação dos açúcares totais.

Os açúcares redutores totais (S_R) foram quantificados pelo método DNS proposto por Miller (1959). O método baseia-se na redução, em meio alcalino, do 3,5-dinitrosalicilato (coloração amarela). O produto formado é estável, com coloração laranja-avermelhado (3-amino 5-nitro salicilato) na proporção estequiométrica e máxima absorção da luz visível no comprimento de onda de aproximadamente 540 nm. Assim como feito para os açúcares totais, uma curva padrão com glicose anidra foi usada na quantificação dos açúcares redutores totais. Ambas as análises foram realizadas em triplicata.

2.4 Determinação do índice de cristalinidade (Crl)

As amostras liofilizadas tratadas e a amostra não-tratada foram peneiradas em uma peneira da série Tyler mesh 35, a fim de garantir a homogeneidade das

partículas. Posteriormente, estas amostras foram submetidas à análise de difração de Raio-X usando uma unidade Miniflex 3000 (Rigaku, Tóquio, Japão) com radiação de Cu, linha K,L = 1,542 Å e escaneamento em 2θ na faixa de 5 a 45°. A velocidade de escaneamento foi de 1 °/min nas condições de 30 kV e 10 mA. O índice de cristalinidade (*CrI*) pôde ser calculado pelo método proposto por Segal et al. (1959), através da equação (1):

$$CrI(\%) = \frac{I_{cristalino} - I_{amorfo}}{I_{cristalino}} \times 100 \quad (1)$$

Onde $I_{cristalino}$ é a intensidade do pico cristalino em 22,7° e I_{amorfo} é a intensidade do pico amorfo em 18°, dado em cps (contagem de picos por segundo).

2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As microscopias eletrônicas foram feitas usando uma unidade FEI Magellan 400 L (FEI, Oregon, EUA) operando a 5 kV, de acordo com Villa-Vélez et al. (2015). As amostras liofilizadas e a amostra não-tratada seguiram para as análises usando uma fita de carbono e cobertura de ouro.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Produção de açúcares

As análises de açúcares resultaram maiores valores para os açúcares totais (de 14,6 a 29,0 mg de açúcares totais/g de sólidos) do que para açúcares redutores (de 6,9 a 23,6 mg de açúcar redutor/g de sólidos) (Tabela 1). Tal diferença é esperada, já que os açúcares redutores representam a maioria de carboidratos totais que foram liberados após pré-tratamento com ultrassom. Valores similares foram observados por Werle et al. (2013) e Villa-Vélez et al. (2015). A presença de pectina na constituição de outros resíduos como cascas de banana pelos últimos autores pode ocasionar liberação/hidrólise de carboidratos de menor peso molecular, contribuindo para valores maiores de açúcares totais (EMAGA et al., 2008). Por outro lado, rendimentos semelhantes de hidrólise foram obtidos para o bagaço de cana de açúcar tratados com potências muito menores por longos períodos (LI et al., 2012). Quando as ondas de ultrassom se propagam no meio, séries de compressões e descompressões são induzidas por meio de deslocamento molecular. Esse deslocamento gera bolhas de cavitação que, ao entrarem em colapso, pode acarretar na erosão de materiais sólidos e na quebra de ligações em materiais poliméricos como a hemicelulose e celulose (MASON; CORDEMANS, 1996). Sendo assim, os dados de liberação de açúcar a partir de cascas de amendoim após aplicação de ultrassom mostram a

eficiência da tecnologia em hidrolisar parcialmente a biomassa tratada.

Ensaio	X (% m/m)	t (min)	U (W)	S_T (mg·g ⁻¹)	S_R (mg·g ⁻¹)	Crl (%)
1	4	30	500	16,9 ± 0,3	6,9 ± 0,1	37,6 ± 1,2
2	4	30	1000	26,2 ± 4,9	15,7 ± 1,4	35,7 ± 1,0
3	4	30	1500	21,2 ± 4,4	11,4 ± 0,4	37,9 ± 0,6
4	4	60	500	22,2 ± 0,1	13,9 ± 0,7	37,4 ± 1,2
5	4	60	1000	26,1 ± 2,6	16,2 ± 3,7	40,5 ± 0,7
6	4	60	1500	28,7 ± 2,0	23,6 ± 2,6	36,5 ± 1,8
7	4	90	500	27,7 ± 1,9	15,7 ± 2,4	37,4 ± 0,6
8	4	90	1000	24,5 ± 0,5	18,1 ± 0,6	37,2 ± 0,2
9	4	90	1500	25,0 ± 1,0	18,5 ± 0,4	36,0 ± 1,3
10	8	30	500	21,8 ± 1,8	19,7 ± 0,3	35,9 ± 1,4
11	8	30	1000	21,7 ± 0,0	20,0 ± 1,3	36,2 ± 0,8
12	8	30	1500	22,3 ± 0,7	20,7 ± 0,2	36,0 ± 0,4
13	8	60	500	15,6 ± 0,7	13,1 ± 0,2	40,3 ± 1,7
14	8	60	1000	23,0 ± 0,7	20,0 ± 1,9	42,9 ± 1,4
15	8	60	1500	28,1 ± 2,3	19,6 ± 0,5	40,3 ± 1,5
16	8	90	500	22,9 ± 0,8	19,6 ± 0,4	43,6 ± 0,4
17	8	90	1000	25,3 ± 0,1	20,2 ± 1,4	38,6 ± 0,6
18	8	90	1500	29,0 ± 0,4	21,3 ± 0,0	41,7 ± 0,4
19	12	30	500	15,2 ± 0,9	13,4 ± 1,6	40,9 ± 0,6
20	12	30	1000	14,8 ± 0,6	12,9 ± 0,5	39,0 ± 0,5
21	12	30	1500	18,1 ± 0,2	14,1 ± 1,1	38,4 ± 1,1
22	12	60	500	22,2 ± 0,5	13,9 ± 0,0	42,3 ± 0,3
23	12	60	1000	23,6 ± 1,1	14,0 ± 0,4	44,8 ± 0,6
24	12	60	1500	16,9 ± 1,2	13,9 ± 0,1	43,0 ± 0,1
25	12	90	500	15,9 ± 0,6	14,0 ± 0,8	38,1 ± 2,0
26	12	90	1000	14,6 ± 0,7	12,8 ± 0,3	43,9 ± 1,5
27	12	90	1500	25,6 ± 1,2	13,0 ± 0,4	47,2 ± 1,2
28 (C)	8	60	1000	23,0 ± 0,6	19,6 ± 1,8	44,0 ± 0,8
29 (C)	8	60	1000	22,7 ± 2,0	19,8 ± 0,5	36,1 ± 1,0
30 (C)	8	60	1000	25,1 ± 2,1	20,7 ± 1,8	40,7 ± 2,1

Tabela 1 – Açúcares totais (S_T), açúcares redutores (S_R) e índice de cristalinidade obtidos após os ensaios estabelecidos no planejamento experimental.

Os efeitos estimados de cada variável sobre a produção de açúcares foram avaliados (Tabela 2), obtendo influencia significativa de todas variáveis ($p < 0,05$). As Figuras 1 e 2 representam a produção de açúcares totais e redutores, respectivamente, em função das variáveis significativas.

	Efeitos estimados			Erro padrão			valor t (3)			valor p		
	S_T	S_R	Crl	S_T	S_R	Crl	S_T	S_R	Crl	S_T	S_R	Crl
Média	22,00	16,16	39,55	106,27	0,09	0,27	106,27	178,18	1,34	<0,001	<0,001	0,201
X	-5,74	-1,98	4,56	-10,96	0,23	1,66	-10,96	-8,65	2,75	<0,001	0,032	0,071
X^2	1,75	4,78	-0,31	4,13	0,18	1,34	4,13	25,74	-0,23	0,026	<0,001	0,834

t	3,60	2,06	2,91	6,88	0,23	1,66	6,88	8,99	1,75	0,006	0,003	0,178
t^2	1,19	0,43	1,78	2,82	0,18	1,34	2,82	2,34	1,32	0,067	0,101	0,277
U	3,83	2,88	0,38	7,30	0,23	1,66	7,30	12,59	0,23	0,005	0,001	0,832
U^2	0,09	0,72	39,55	0,21	0,18	0,27	0,21	3,88	1,35	0,847	0,030	0,201

Tabela 2 – Tabela de efeitos estimados para açúcar total (S_T), açúcar redutor (S_R) e índice de cristalinidade (Cr).

Na medida em que se aumentou a concentração de biomassa em suspensão, a produção de açúcares totais e redutores reduziu de forma não-linear caracterizado pelos parâmetros lineares e quadráticos. O aumento da carga de sólidos em suspensão provoca o aumento na viscosidade aparente da suspensão (POLACHINI et al., 2016). Este aumento está relacionado à maior interação molecular, levando a maior dificuldade em romper as forças coesivas para provocar a cavitação (MASON; LORIMER, 2002). Para açúcares redutores, maior hidrólise ocorreu em concentrações intermediárias em torno de 8%. Este fato pode ter ocorrido pois na maior concentração, a cavitação é reduzida pelo aumento de viscosidade (POLACHINI et al., 2016) e na menor concentração o número de grupos redutores terminais dos polímero está em menor quantidade (HON; SHIRAISHI, 2002).

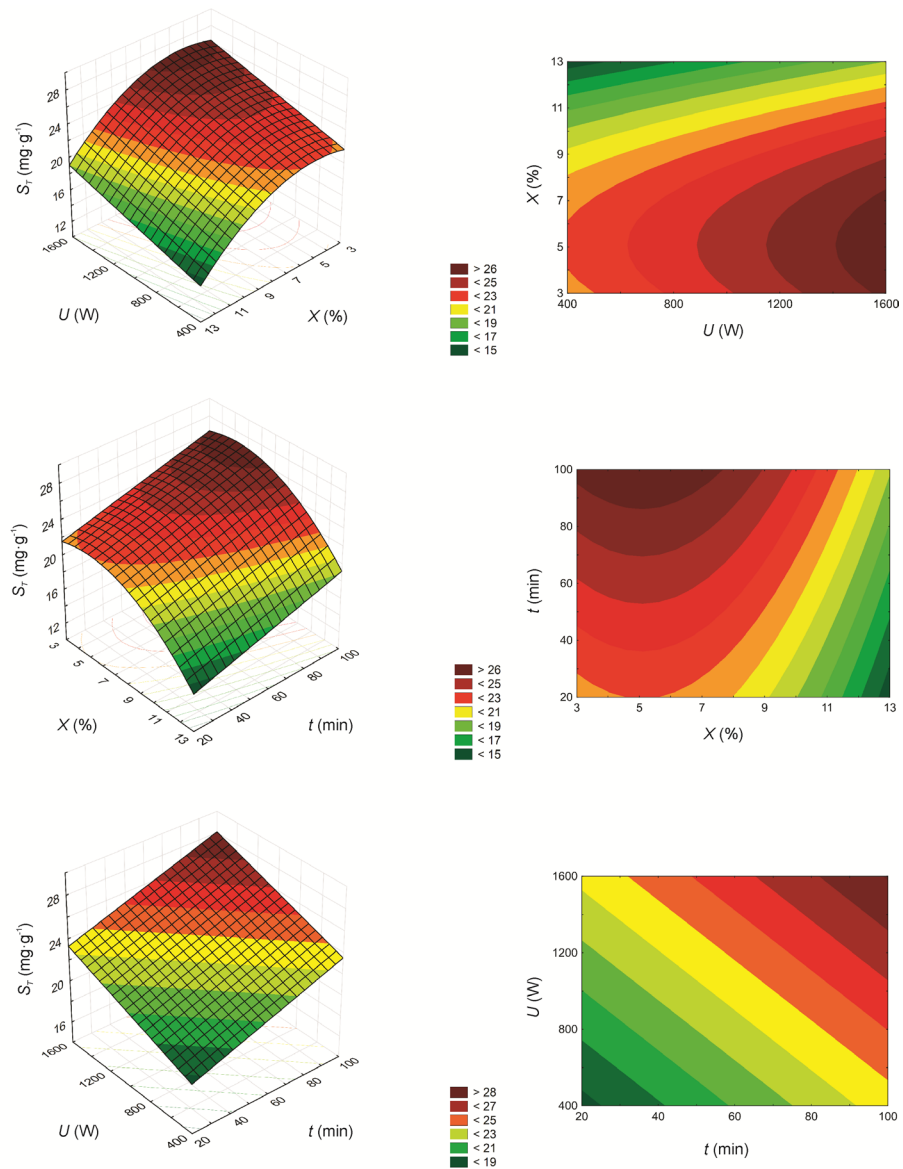


Figura 1 – Superfícies de resposta (esquerda) e gráficos de contorno (direita) para a produção de açúcares totais em função das variáveis significativas.

Embora alguns autores reportem que prolongar o processo de sonicação pode não intensificar os efeitos sonoquímicos (HUANG et al., 2011; SUN et al., 2002; NIKOLIĆ et al., 2010), o aumento do tempo de aplicação estudado neste trabalho provocou uma liberação linear de açúcares totais e redutores. Acima de 30 min de aplicação de ultrassom, é possível que os carboidratos liberados estejam relacionados às xilanas recuperadas a partir da biomassa (YUNUS et al., 2010).

O aumento na potência nominal aplicada intensificou a produção de açúcares redutores linearmente e quadraticamente, embora tenha efeito apenas linear para a produção de açúcares totais. According to Polachini et al. (2017), o aumento na potencia nominal em suspensões de cascas de amendoim provocou aumento na intensidade da cavitação.

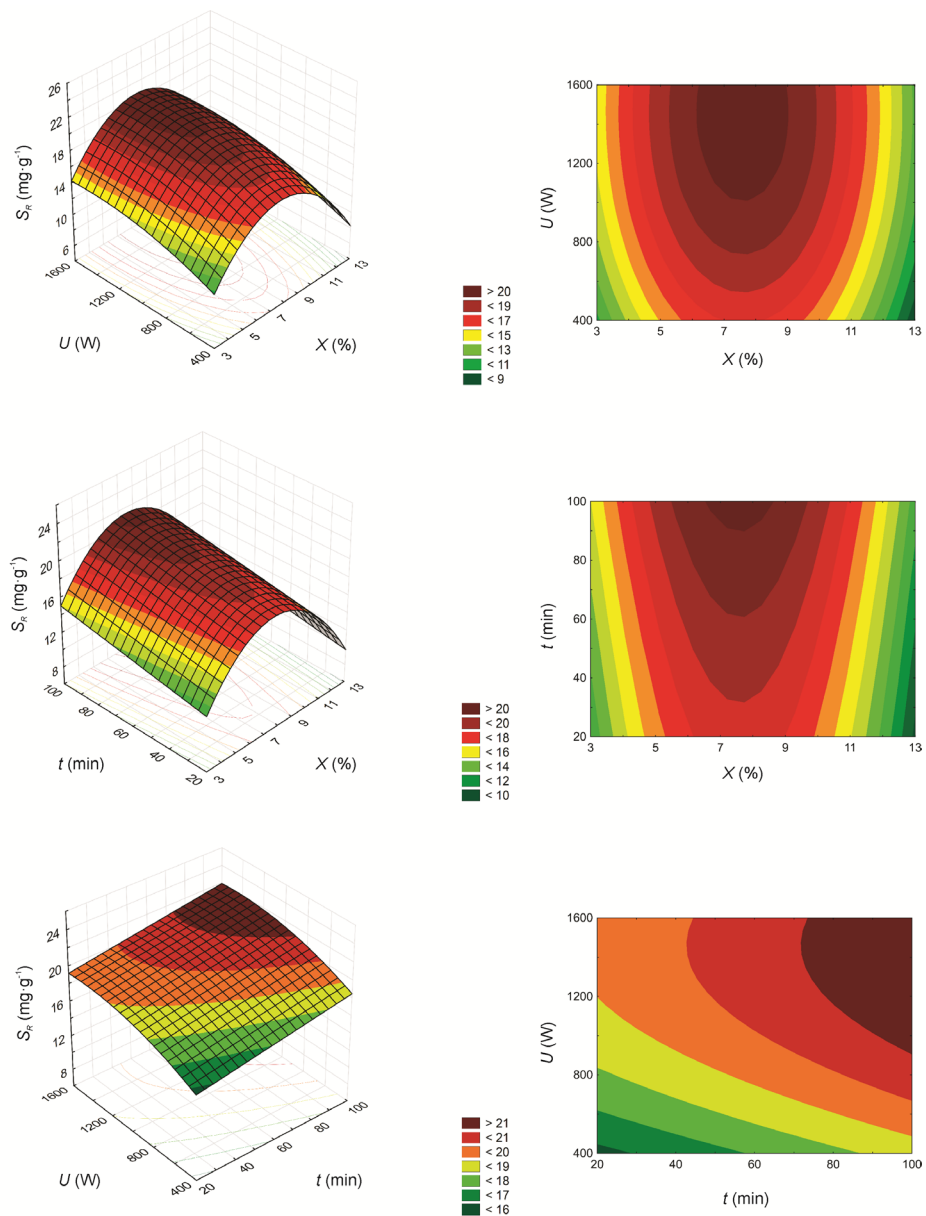


Figura 2 – Superfícies de resposta (esquerda) e gráficos de contorno (direita) para a produção de açúcares redutores em função das variáveis significativas.

3.2 Índice de cristalinidade (Crl)

Após os tratamentos realizados, as cascas de amendoim foram analisadas quanto ao índice de cristalinidade já que a celulose é um polímero composto de zonas amorfas e cristalinas que podem variar em sua proporção de acordo com o material ou tratamento aplicado. Sendo assim, diferentes índices de cristalinidade foram observados entre 35,7% e 47,2% (Tabela 1) para as amostras tratadas e 37,4% para a amostra não-tratada, calculado a partir do padrão de difração de raio-X da Figura 3.

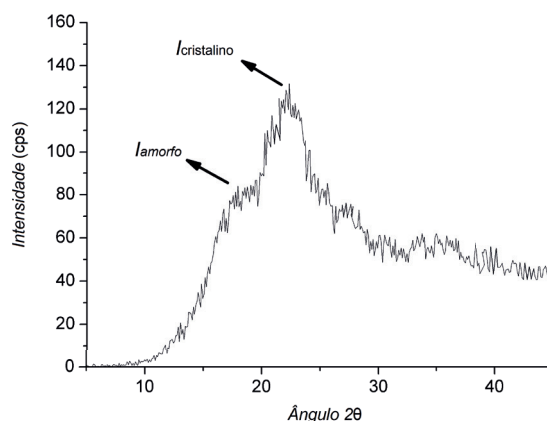


Figura 3 – Padrão de difração de raio-X para a amostra não-tratada.

Ao avaliar o efeito das variáveis do pré-tratamento com ultrassom, a análise dos efeitos estimados demonstrou que os parâmetros mais significativos foram o tempo de aplicação ($p=0,18$) e a concentração de biomassa na suspensão ($p=0,07$) como mostrado na Tabela 2. A Figura 4 mostra a superfície de resposta e gráfico de contorno para as duas variáveis mais significativas. Variações na potencia nominal não apresentaram efeito significativo sobre o índice de cristalinidade. O aumento na potencia nominal pode causar o acúmulo de bolhas de cavitação próximas à ponta da sonda, dificultando o processo de transferência de massa e energia (GOGATE et al., 2011).

Ao aumentar a concentração de sólidos na suspensão, a cavitação produzida nestas condições é suficiente apenas para romper as regiões amorfas da celulose, as quais são mais susceptíveis que as zonas cristalinas (ARANTES; SADDLER, 2011). Este fato aumenta percentual de área cristalina baseado na área total das fibras, assim como observado por Binod et al. (2012) após tratar bagaço de cana-de-açúcar com micro-ondas. Outra possível explicação para o aumento na cristalinidade da celulose é a clivagem das ligações C–C e C–H da lignina e hemicelulose pelos radicais OH^- e H^+ formados durante a cavitação em meio aquoso, estimulando assim o fracionamento da lignocelulose (MASON; LORIMER, 2002; CSOKA et al., 2007). Por outro lado, a aplicação de ultrassom em suspensões concentradas a 4% de sólidos sugere um efeito suficientemente forte para romper tanto as regiões amorfas quanto as cristalinas, estando de acordo com os resultados de liberação de açúcares.

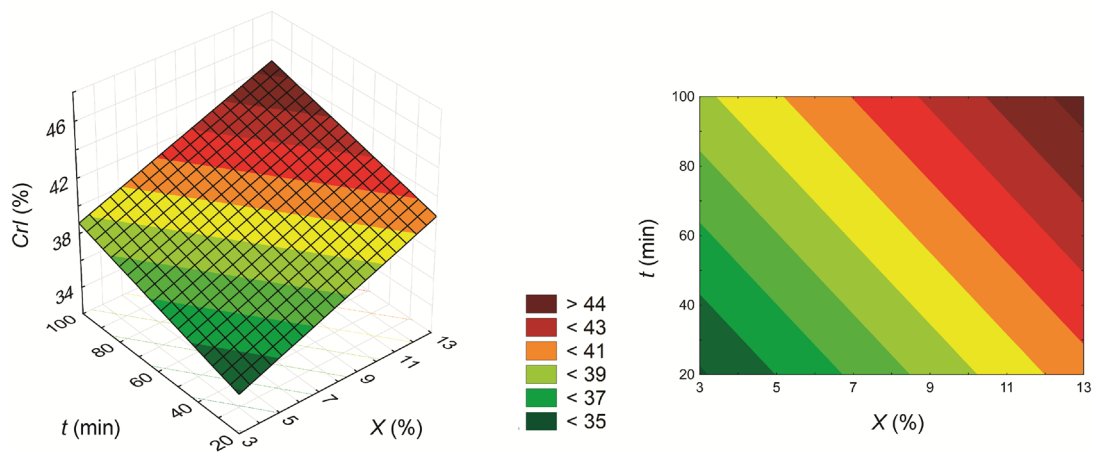


Figura 4 – Superfície de resposta (esquerda) e gráfico de contorno (direita) para índice de cristalinidade em função da concentração de sólidos na suspensão e tempo de aplicação do ultrassom.

3.3 Microscopia eletrônica de varredura

A fim de avaliar o efeito do ultrassom na microestrutura das cascas de amendoim, foram realizadas microscopias eletrônicas de varredura (MEV) das amostras tratadas e não-tratadas. As amostras não-tratadas mostraram superfície lisa com poucas imperfeições. Na Figura 5, notou-se que na medida em que o tempo de aplicação do ultrassom aumentou, maior degradação ocorreu na estrutura da casca do amendoim.

Por outro lado, quando a concentração da suspensão diminuiu, também evidenciou-se maior quebra da estrutura das cascas. Comportamento similar foi reportado por Villa-Vélez et al. (2015), ao tratar amostras de pedúnculo de banana com ultrassom de potência em diferentes condições. O colapso das bolhas de cavitação na interface sólido-líquido é capaz de romper as ligações poliméricas e alterar a superfície das cascas mais intensamente em suspensões diluídas, tornando a celulose mais acessível para futura hidrólise.

Embora a potência não tenha demonstrado efeito significativo para o índice de cristalinidade, este fator influenciou positivamente a liberação de açúcares. Assim, a Figura 6 foi construída para apresentar as variações na estrutura em diferentes potências aplicadas. As imagens mostram maiores rupturas mecânica quando as cascas de amendoim foram submetidas a maiores potências, indicando área superficial visualmente maior com estruturas mais facilmente acessível.

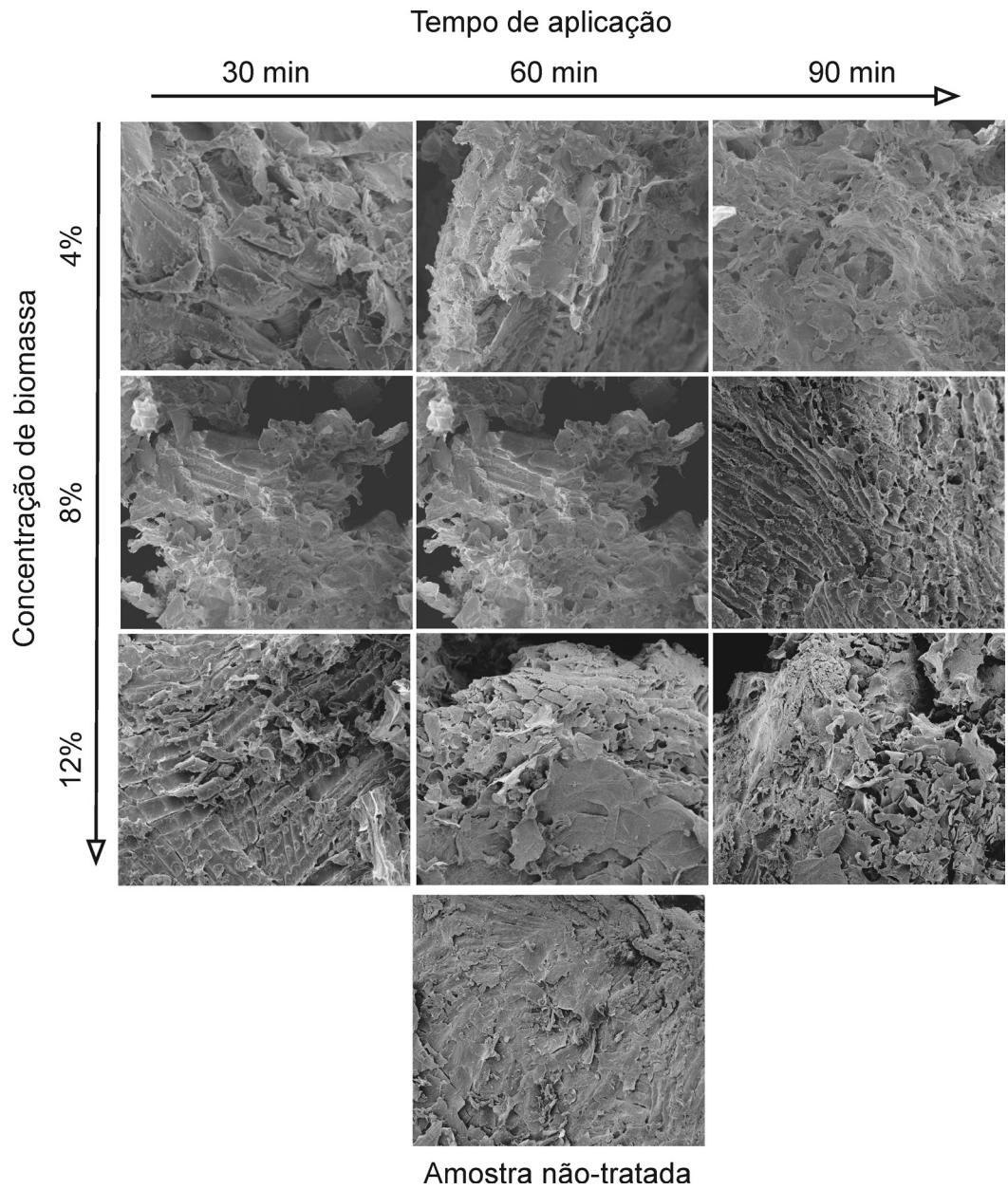


Figura 5 – Microscopia eletrônica de varredura (1000x) para amostras de casca de amendoim tratadas com ultrassom de potência a 1000 W em diferentes concentrações de biomassa e tempo de aplicação.

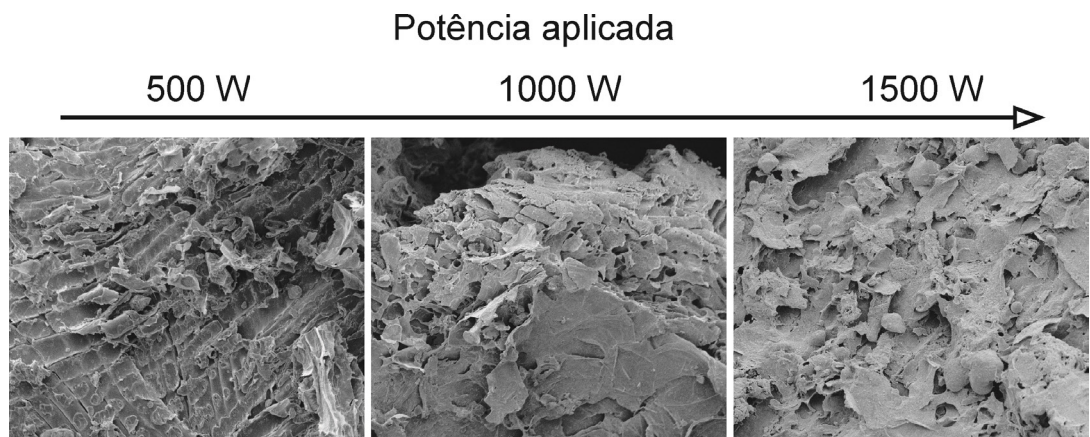


Figura 6 – Microscopia eletrônica de varredura (1000x) para amostras de casca de amendoim tratadas com ultrassom de potência por 60 min em suspensões concentradas em 12% (m/m).

4 | CONCLUSÃO

Em geral, os resultados indicaram que o ultrassom de alta intensidade é uma ferramenta útil para melhorar os processos de hidrólise e viabilizar a produção de bioetanol a partir de cascas de amendoim. A liberação de açúcar das cascas de amendoim foi favorecida por um aumento na potência aplicada e tempo de aplicação, bem como uma diminuição na concentração de suspensões. Grande parte dos carboidratos em solução foi contabilizada como açúcares redutores, provavelmente obtidos a partir das cadeias terminais dos compostos da lignocelulose. O ultrassom de potência também influenciou no índice de cristalinidade das fibras de celulose, causando um ligeiro aumento no teor de celulose cristalina à medida que a concentração de suspensões e o tempo de exposição aumentaram e leve decréscimo nas suspensões diluídas. Por outro lado, as microscopias de varredura mostraram uma estrutura mais aberta, estando de acordo com os análises anteriores.

Os resultados relatados são específicos para cascas de amendoim em uma determinada geometria e sistema operacional do reator, conferindo uma melhor compreensão sobre os efeitos do ultrassom de alta intensidade como técnica emergente. Além disso, o uso do ultrassom com agentes catalisadores como um método combinado para pré-tratamentos convencionais é incentivado com o objetivo de otimizar o consumo de energia e as etapas subsequentes de sacarificação e/ou fermentação das cascas de amendoim.

REFERÊNCIAS

AIMIN, T.; HONGWEI, Z.; CHANG, C.; GUOHUI, X. e WENZHI, L. Influence of ultrasound treatment on accessibility and regioselective oxidation reactivity of cellulose. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 12, n. 6, p. 467-472, 2005.

ALLEN, T. (1981). **Particle size measurement**. Chapman and Hall: Londres.

ARANTES, V.; SADDLER, J. Cellulose accessibility limits the effectiveness of minimum cellulase loading on the efficient hydrolysis of pretreated lignocellulosic substrates. **Biotechnology and Biofuels**, v. 4, n. 1, p. 1-17, 2011.

BINOD, P., SATYANAGALAKSHMI, K., SINDHU, R., JANU, K.U., SUKUMARAN, R.K., PANDEY, A. Short duration microwave assisted pretreatment enhances the enzymatic saccharification and fermentable sugar yield from sugarcane bagasse, **Renewable Energy**, v. 37, p. 109-116, 2012.

CKOSA, L., LORINCZ, A., WINKLER, A. Sonochemically modified wheat straw for pulp and papermaking in order to increase its economical rates and reduce the environmental issues, **BioResources**, v. 3, p. 91-97, 2007.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A. e SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

EMAGA, T.H., ROBERT, C., RONKART, S.N., WATHELET, B. e PAQUOT, M. Dietary fibre components and pectin chemical features of peels during ripening in banana and plantain varieties. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4346-4354. 2008.

GODOY, O. P.; MARCOS-FILHO, J.; CÂMARA, G. D. S. E FONSECA, H. **Tecnologia da produção. Amendoim: produção, pré-processamento e transformação agroindustrial**. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia 1982.

GOGATE, P.R., SUTKAR, V.S., PANDIT, A. B. Sonochemical reactors: Important design and scale up considerations with a special emphasis on heterogeneous systems, **Chemical Engineering Journal**, v. 166, p. 1066-1082, 2011.

HON, D.N.S., SHIRAISHI, N. **Wood and cellulosic chemistry**, Marcel Dekker, Basel, 2001.

HUANG, R., SU, R., QI, W., HE, Z. Bioconversion of Lignocellulose into Bioethanol: Process Intensification and Mechanism Research, **BioEnergy Research**, v. 4, p. 225-245, 2011.

IBGE. "Produção agrícola. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão: Brasília". Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>> Acesso em: 01/02/2016.

LEE, Y. Y.; IYER, P.; TORGET, R. W. **Dilute-Acid Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass**. Springer Berlin Heidelberg, 1999.

LI, Q., JI, G.S., TANG, Y.B., GU, X.D., FEI, J.J. e JIANG, H.Q. Ultrasound-assisted compatible in situ hydrolysis of sugarcane bagasse in cellulase-aqueous-N-methylmorpholine-N-oxide system for improved saccharification. **Bioresource Technology**, v.107, p.251-257. 2012.

MASON, T. J.; CORDEMANS, E. D. Ultrasonic intensification of chemical processing and related operations: A review. **Chemical Engineering Research & Design**, v. 74, n. A5, p.511-516, 1996.

MASON, T. J.; LORIMER, J. P. **Applied sonochemistry**. Weinheim: Wiley-vch, 2002.

MASUKO, T.; MINAMI, A.; IWASAKI, N.; MAJIMA, T.; NISHIMURA, S. I. e LEE, Y. C. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. **Analytical Biochemistry**, v. 339, n. 1, p. 69-72, 2005.

MCMILLAN, J. D. **Pretreatment of lignocellulosic biomass**. Washington, D. C.: American Chemical Society, 1994.

MILLER, G. L. Use of DNS reagent for the measurement of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 1, p. 426-428, 1959.

NARAYAN, R. **Polymers from agricultural coproducts**. Washington, DC: American Chemical Society, 1994.

NIKOLIĆ, S., MOJOVIĆ, L., RAKIN, M., PEJIN, D., PEJIN, J. Ultrasound-assisted production of bioethanol by simultaneous saccharification and fermentation of corn meal, **Food Chemistry**, v. 122, p. 216-222, 2010.

POLACHINI, T. C., SATO, A. C. K., CUNHA, R. L. Telis-Romero, J. Density and rheology of acid suspensions of peanut waste in different conditions: An engineering basis for bioethanol production, **Powder Technology**, 294, 168-176, 2016.

POLACHINI, T. C., CARVALHO, G. R., TELIS-ROMERO, J. Determination of acoustic fields in acidic suspensions of peanut shell during pretreatment with high-intensity ultrasound. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 34, n. 2, p. 385-394, 2017.

SASMAL, S.; GOUD, V. V.; MOHANTY, K. Ultrasound Assisted Lime Pretreatment of Lignocellulosic

Biomass toward Bioethanol Production. **Energy & Fuel**, v. 26, n. 6, p. 3777-3784, 2012.

SEGAL, L.; CREELY, J. J.; MARTIN JR, A. E. e CONRAD, C. M. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, n. 10, p. 786-794, 1959.

VILLA-VÉLEZ, H. A.; VÁQUIRO, H. A.; TELIS-ROMERO, J. The effect of power ultrasound on the pretreatment of acidified aqueous solutions of banana flower-stalk: Structural, chemical and statistical analysis. **Industrial Crops and Products**, v. 66, p. 52-61, 2015.

WERLE, L. B.; GARCIA, J. B.; KUHN, R. C.; SCHWAAB, M.; FOLETTTO, E. L.; CANCELIER, S. L.; JAHN, S. L. e MAZUTTI, M. A.. Ultrasound-assisted acid hydrolysis of palm leaves (*Roystonea oleracea*) for production of fermentable sugars. **Industrial Crops and Products**, v. 45, p. 128- 132, 2013.

YUNUS, R., SALLEH, S. F., ABDULLAH, N., BIAK, D. R. A. Effect of ultrasonic pre-treatment on low temperature acid hydrolysis of oil palm empty fruit bunch, **Bioresource Technology**, v. 101, p. 9792-9796, 2010.

QUALIDADE DA FIBRA DO ALGODOEIRO (*Gossypium hirsutum* L.) EM FUNÇÃO DA ADUBAÇÃO FOLIAR

Danilo Marcelo Aires dos Santos

Universidade Estadual do Tocantins (Unitins),
Engenharia Agrônoma, Palmas - TO

Michele Ribeiro Ramos

Universidade Luterana do Brasil – CEULP;
Universidade Estadual do Tocantins (Unitins),
Engenharia Agrônoma (Agronomia), Palmas –
TO

Bruna Gonçalves Monteiro

Engenheira Agrônoma, Palmas - TO

Enes Furlani Júnior

Universidade estadual Paulista (FE-Unesp),
Fitotecnia, Ilha Solteira – SP

Anderson Barbosa Evaristo

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha
e Mucuri (UFVJM), Agronomia, Unaí – MG

Marisa Campos Lima

Universidade Estadual do Tocantins (Unitins),
Graduando em Engenharia Agrônoma, Palmas -
TO

Gustavo Marquardt

Engenheiro Agrônomo, Palmas - TO

Geovana Alves Santos

Engenheira Agrônoma, Palmas - TO

Leticia Marquardt

Universidade Estadual do Tocantins (Unitins),
Graduando em Engenharia Agrônoma, Palmas -
TO

são recentes, assim necessitando de novas pesquisas para determinar o efeito e as vantagens desse sistema. Assim o objetivo desse trabalho foi estudar a influência dos diferentes programas nutricionais, de adubação foliar na qualidade de fibra do algodoeiro. A cultivar utilizada foi FM 975 WS, semeada em 23/02/2017, utilizando 400 kg ha⁻¹ da formulação 5-25-15 na adubação de semeadura, aplicado no sulco e para a adubação de cobertura foi utilizado 80 kg ha⁻¹ de N divididas em duas aplicações aos 30 e 45 d.a.e. (dias após emergência) aplicado a lanço. O delineamento experimental utilizado em blocos ao acaso, com quatro repetições, onde o experimento consistiu em 5 tratamentos mais a testemunha, distribuídos em 4 linhas de 5 metros cada parcela, com espaçamento de 0,90. Os tratamentos consistiram em programas nutricionais, contendo macro e micronutrientes em sua composição, aplicados aos 30, 45, 60 e 75 dias após a emergência. Em relação à qualidade de fibra, dentre os parâmetros avaliados o comprimento médio da metade superior (UHML) foi a única característica que apresentou efeito significativo.

PALAVRAS – CHAVE: Nutrição foliar, Macronutrientes, Micronutrientes, Algodão.

RESUMO: O uso da aplicação da adubação foliar na cultura do algodoeiro, pelos produtores,

ABSTRACT: The use of foliar fertilizer application in the cotton crop, by the producers, is recent, thus requiring further research to determine the effect and benefits of this system. Thus the objective of this work was to study the influence of the different nutritional programs, of leaf fertilization on the cotton fiber quality. The cultivar used was FM 975 WS, sown on 2/23/2017, using 400 kg ha⁻¹ of the formulation 5-25-15 in sowing fertilization, applied to the groove and for the cover fertilization was used 80 kg ha⁻¹ of N divided into two applications at 30 and 45 da (days after emergence) applied to the haul. The experimental design was used in randomized blocks with four replications, where the experiment consisted of 5 treatments plus the control, distributed in 4 rows of 5 meters each plot, spacing 0.90. The treatments consisted of nutritional programs, containing macro and micronutrients in their composition, applied at 30, 45, 60 and 75 days after emergence. Regarding fiber quality, among the evaluated parameters, the mean upper half length (UHML) was the only characteristic that presented significant effect.

KEYWORDS: Leaf nutrition, Macronutrients, Micronutrients, Cotton.

1 | INTRODUÇÃO

A cultura do algodoeiro destaca-se no cenário agrícola mundial pela utilização dos seus produtos e subprodutos. (Silva, 2015). No Brasil a cultura do algodoeiro tem destaque por ser a sétima cultura mais cultivada ocupando 955.000 ha. (CONAB, 2017). O capulho, parte comercial colhida do algodão, é composto por 65% de sementes e 35% de plumas. A produtividade média do algodão em caroço no Brasil é de 265@ (CONAB, 2017). Das plumas extrai as fibras na qual há uma grande aplicação usos principalmente nas indústrias de fiação e tecelagem.

O comprimento da fibra é considerado genótipo-depedente, mas as diferenças ambientais, como as mudanças climáticas e manejo cultural interferem na média do comprimento das fibras. (Bradow e Davidonis, 2000). Esse parâmetro também influencia o valor econômico da fibra por determinar a resistência do fio (Barbosa e Nogueira Júnior, 2001).

As características tecnológicas da fibra do algodão estão intrinsecamente ligadas a fatores hereditários mas sofrem influência de fatores ambientais como condições climáticas, fertilidade do solo. (Santana et al., 1998, citado por Azevedo, 2005)

Aprática da adubação foliar vem se desenvolvendo em várias culturas de interesse econômico. O uso de micronutrientes via foliar, tem aumentando continuamente em função do maior conhecimento dos macronutrientes e micronutrientes presentes no solo e se disponíveis para a planta ou não, assim como, do aumento nos procedimentos de diagnósticos das culturas e seus cultivares (Mocellin, 2004).

Dentre os fatores que afetam a qualidade da fibra os aspectos nutricionais

tem grande destaque. Segundo Cassman et al. (1990), Pettigrew e Meredith (1997), Silva (1999) relatam que a aplicação da adubação foliar potássica pode influenciar características da fibra como uniformidade de comprimento, comprimento e micronaire. O nitrogênio além de estimular o crescimento e o florescimento, regularizam o ciclo da planta, aumentam a produtividade e melhoram o comprimento e resistência da fibra (Staut e Kurihara, 2001). O Boro favorece o florescimento e a frutificação, com reflexos positivos no aumento da produtividade e da qualidade das fibras. (CARVALHO, 2007). Carvalho (2007) destaca que a obtenção de altas produtividades depende, dentre outros fatores, de uma adequada nutrição mineral e a importância dos micronutrientes tanto na produtividade quanto na obtenção de excelente qualidade de fibra.

O objetivo desse trabalho foi estudar a influência dos diferentes programas nutricionais, de adubação foliar na qualidade de fibra do algodoeiro.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Complexo de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Estadual do Tocantins – UNITINS, localizado , no município de Palmas – TO.

Na Figura 1, encontra – se os dados de temperatura e precipitação registrado durante o cultivo

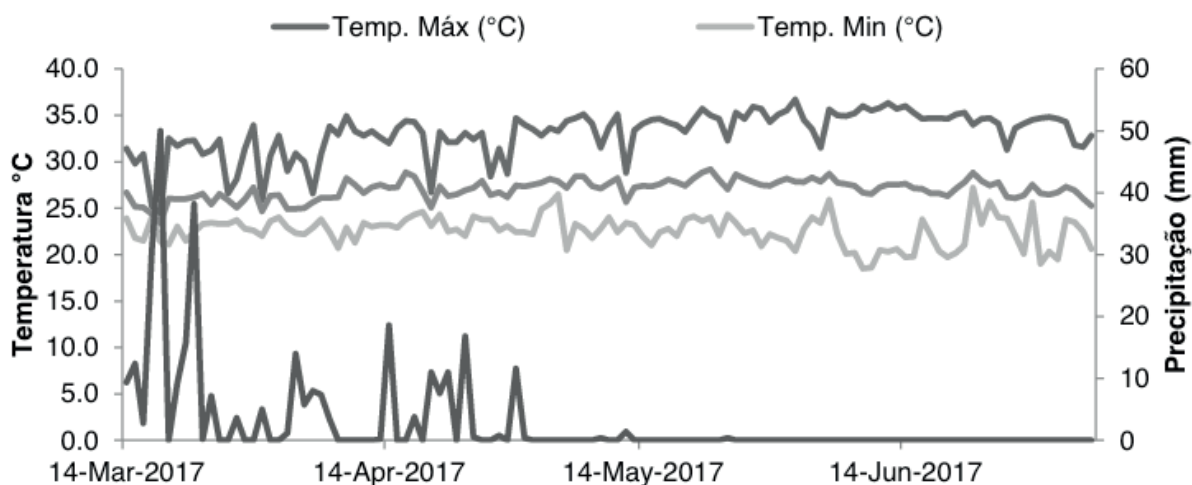


Figura 1. Dados climatológicos diários no período de fevereiro de 2017 a julho de 2017 no município de Palmas – TO.

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia – INMET

O solo da área de estudo foi classificado de acordo com sistema brasileiro de classificação de solos (EMBRAPA 2013). Uma trincheira foi aberta, horizontes caracterizados quanto morfologia, análise química e física conforme foi apresentado na tabela 1. E o mesmo foi classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico

típico. O preparo do solo foi feito com uma aração, gradagem e sulcamento das linhas de plantio.

Ident.	P Mehlich	K	Ca ²⁺ + Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	C.T.C a pH 7,0	V	M	pH
	(mg/dm ³)	(cmolc.dm ³)						%		H ₂ O
Horiz. A	3,22	30,00	2,2	0,09	5,03	2,28	7,31	31,15	3,80	5,14
Horiz. B	0,57	10,00	0,22	0,37	4,08	0,25	4,32	5,68	60,10	4,14

Tabela 1. Resultados da análise química do solo na profundidade de 0 a 20 (cm)

A semeadura foi realizada na segunda quinzena de fevereiro de 2017 e obteve uma população de média de 8 plantas m⁻¹. As parcelas foram compostas por 4 fileiras espaçadas de 0,9 m com comprimento 5 m e avaliou as duas fileiras centrais. Utilizou-se a cultivar FM 975 WS de ciclo longo e porte médio/alto e população. Na semeadura foi aplicado 400 kg ha⁻¹ da formulação 5:25:15 de N, P₂O₅ e K₂O, respectivamente e para a adubação de cobertura foi utilizado 80 kg ha⁻¹ de N divididas em duas aplicações aos 30 e 45 dias após a emergência (DAE). aplicado a lanço.

O experimento foi instalado delineamento experimental o de blocos ao acaso, com quatro repetições.. Utilizou seis tratamentos conforme apresentado na Tabela 2.

TRATAMENTOS	Idade do Algodoeiro em dias após a emergência			
	30 d.a.e	45 d.a.e	60 d.a.e	75 d.a.e
TESTEMUNHA	-	-	-	-
T1	P ₁ P ₂	P ₃ P ₄	-	-
T2	P ₁ P ₂	P ₃ P ₄	P ₃	
T3	P ₁ P ₂	P ₃ P ₄	P ₃	P ₇
T4	P ₁ P ₂	P ₃ P ₄	P ₃	P ₁
T5	P ₁ P ₂	P ₃ P ₄	P ₃ P ₅ P ₆	P ₇

Tabela 2. Época de aplicação dos produtos no algodoeiro em d.a.e. (dias após emergência)

P, produto comercial

Nos tratamentos foram utilizados produtos comerciais com as seguintes composição química nutricional e dosagem recomendada e aplicada por hectare (Tabela 3).

COMPONENTES	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Nitrogênio %	6,5	9	30	10	-	30	40
Fósforo %	-	2	20	52	-	20	20
Potássio %	-	1	-	8	-	-	-

Enxofre %	-	-	-	2,4	13,3	-	-
Magnésio %	-	-	-	-	2,5	-	-
Zinco %	8,5	-	-	-	10	1	-
Boro %	-	-	-	0,02	3	-	-
Cobre %	-	-	-	0,05	-	-	-
Ferro %	-	-	-	0,1	1	-	-
Manganês %	-	-	-	-	7	-	-
Molibdênio %	-	-	-	-	0,2	-	-
Dose (Kg ou l ha ⁻¹)	0,200 (l)	1 (l)	1(l)	0,200 (Kg)	2 (Kg)	1(l)	1 (l)

Tabela 3. Concentração nutricional de cada produto e dose aplicada nos tratamentos

No momento da colheita, foram coletados 20 capulhos aleatoriamente no terço médio das plantas nas duas linhas centrais de cada parcela e levadas ao laboratório para determinar a qualidade de fibra. A qualidade da fibra foi avaliada pela pelos seguintes parâmetros de: qualidade de fibra: Índice micronaire (Mic), Resistência expressa em tenacidade (Str), Índice da uniformidade do comprimento (Unf), Alongamento à rotura da fibra (Elg), Grau de reflectância (Rd), Índice de amarelamento (+b), Grau de cor (CG), Grau de folha (Leaf), Percentual da área ocupada pelo somatório das partículas de impurezas em função da área total analisada (Area), Número de partículas maiores que 0,006m² presentes na superfície da amostra (Count), Índice de fibras curtas (SFI), Maturidade da fibra de algodão (Mat), Índice de consistência da fiação (SCI), Índice de fiabilidade (CSP), De todos os parâmetros de qualidade de fibra, apenas o comprimento médio da metade superior (UHML), As análise foram realizadas no analisador instrumental da fibra de algodão HVI (High Volume Instrument).

Os dados foram submetidos à análise de variância empregando o software Sisvar (Ferreira, 2008) e se encontrada significância pelo teste de F foi realizado a comparação das médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas 4 e 5 apresentam o resumo da análise de variâncias dos seguintes parâmetros de qualidade de fibra: Índice micronaire (Mic), Resistência expressa em tenacidade (Str), Índice da uniformidade do comprimento (Unf), Alongamento à rotura da fibra (Elg), Grau de reflectância (Rd), Índice de amarelamento (+b), Grau de cor (CG), Grau de folha (Leaf), Percentual da área ocupada pelo somatório das partículas de impurezas em função da área total analisada (Area), Número de partículas maiores que 0,006m² presentes na superfície da amostra (Count), Índice de fibras curtas (SFI), Maturidade da fibra de algodão (Mat), Índice de consistência da fiação (SCI), Índice de fiabilidade (CSP), De todos os parâmetros de qualidade de fibra, apenas o comprimento médio da metade superior (UHML) apresentou diferenças significativa entre os tratamentos (diferentes formulação de adubação

foliar) o (Tabela 4).

F.V.	Quadrado Médio							
	G.L.	UHML	Mic	Str	Unf	Elg	RD	+b
TRAT	5	0.0015*	0.028	1.591	0.426	0.022	0.385	0.040
Blocos	3	0.0026	0.035	0.974	2.094	0.178	0.851	0.055
Resíduo	15	0.00034	0.059	2.139	0.714	0.094	0.743	0.230
CV (%)		1.71	5.06	4.54	1.03	5.11	1.03	6.00
Média		1.08	4.84	32.19	82.11	6.03	83.67	8.00

Tabela 4. Resumo das análises de variância para o comprimento médio da metade superior (UHML), Índice micronaire (Mic), Resistência expressa em tenacidade (Str), Índice da uniformidade do comprimento (Unf), Alongamento à rotura da fibra (Elg), Grau de reflectância (Rd), Índice de amarelamento (+b), coeficiente de variação (CV %) e a média geral para cada variável da cultura do algodoeiro em função da adubação foliar. Palmas – TO, 2018.

*= significativo a ($p>0,05$) pelo teste f.

F.V.	Quadrado Médio								
	G.L.	CG	Leaf	Area	Count	SFI	Mat	SCI	CSP
TRAT	5	16.634	1.000	0.032	5.166	1.239	0.000014	57.541	2909.941
Blocos	3	33.003	1.500	0.035	9.611	4.402	0.000026	122.597	4900.375
Resíduo	15	23.434	1.000	0.038	10.611	0.992	0.000056	52.097	1604.941
CV (%)		37.86	80.00	156.72	83.17	11.99	0.86	5.40	1.79
Média		12.78	1.25	0.12	3.91	8.30	0.87	133.70	2236.95

Tabela 5. Resumo das análises de variância para Grau de cor (CG), Grau de folha (Leaf), Percentual da área ocupada pelo somatório das partículas de impurezas em função da área total analisada (Area), Número de partículas maiores que 0,006m² presentes na superfície da amostra (Count), Índice de fibras curtas (SFI), Maturidade da fibra de algodão (Mat), Índice de consistência da fiação (SCI), Índice de fiabilidade (CSP), coeficiente de variação (CV %) e a média geral para cada variável da cultura do algodoeiro em função da adubação foliar

*= significativo a ($p>0,05$) pelo teste f.

Na Tabela 6 são apresentados os valores dos parâmetros de qualidade de fibra, observa-se que comprimento médio da metade superior (UHML). Nota-se que para variável UHML, o tratamento 4 obteve média superior as demais, com 1,12" = 28/25" de comprimento, inclusive da testemunha. Ao analisando o programa nutricional adotado no tratamento 4 pode-se atribuir esse maior valor de UHML, pelo fato da aplicação de zinco aos 75 da.e., elemento ativador de várias enzimas e essencial para a síntese de aminoácidos, podendo promover melhor qualidade de fibra. Rosolem, et al. (2001), relatam que há poucas referências sobre adubação de zinco no algodoeiro, cenário que persiste nos dias de hoje, o que dificulta a análise mais detalhada da influência desse nutriente na qualidade de fibra.

Segundo IMA (2015), para um algodão padrão 41-4, o comprimento de referência seria de $35/32'' = 1'3/32''$ (27,8 mm). Em função da classificação oficial, um algodão de comprimento $1'3/32''$ seria um algodão com comprimento UHML entre 27,3 e 27,9 mm. Abaixo de 27,3mm de comprimento, o algodão poderá sofrer deságio. Assim, considera-se satisfatório o resultado encontrado para o tratamento 4, onde o comprimento convertido em milímetro mostrou – se superior aos padrões mínimos (28,45 mm).

Neto e Lanza (2005), dentre os resultados de análises tecnológicas de fibras encontrados em seu experimento, somente o comprimento respondeu aos tratamentos, sendo que a aplicação de boro, zinco e manganês, independentemente do modo de aplicação, foi superior aos demais tratamentos. Os parâmetros finura, uniformidade, resistência, alongamento e índice de fiabilidade não foram afetados pelos tratamentos.

A adubação adequada regulariza o ciclo e o tamanho das plantas, aumenta o peso médio dos capulhos e das sementes e melhora até certas qualidades da fibra, como comprimento e maturidade (Silva et al., 1982).

Tratamentos - Adubação Foliar	UHML	Mic	Str	Unf	Elg	RD	+b
T1	1.09 ab	4.79 a	32.85 a	81.82 a	6.07 a	84.05 a	8.07 a
T2	1.08 ab	4.93 a	31.97 a	82.57 a	5.97 a	83.60 a	7.92 a
T3	1.08 ab	4.73 a	32.22 a	82.05 a	6.10 a	83.77 a	8.17 a
T4	1.12 a	4.78 a	32.80 a	82.12 a	5.97 a	83.57 a	7.95 a
T5	1.06 b	4.93 a	31.12 a	81.72 a	6.12 a	83.87 a	7.92 a
Testemunha	1.08 b	4.86 a	32.20 a	82.40 a	5.95 a	83.15 a	7.97 a
Média	1.08	4.04	32.19	82.11	6.03	83.66	8.00

Tabela 6. Médias das características tecnológicas de fibra do algodão, o comprimento médio da metade superior (UHML), Índice micronaire (Mic), Resistência expressa em tenacidade (Str), Índice da uniformidade do comprimento (Unf), Alongamento à rotura da fibra (Elg), Grau de reflectância (Rd), Índice de amarelamento (+b), coeficiente de variação (CV %) e a média geral para cada variável da cultura do algodoeiro em função da adubação foliar. Palmas – TO, 2018.

Médias seguidas por uma mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si, a ($p < 0,05$), pelo teste Tukey.

Na Tabela 7 os parâmetros Grau de cor (CG), Grau de folha (Leaf), Percentual da área ocupada pelo somatório das partículas de impurezas em função da área total analisada (Area), Número de partículas maiores que $0,006\text{m}^2$ presentes na superfície da amostra (Count), Índice de fibras curtas (SFI), Maturidade da fibra de algodão (Mat), Índice de consistência da fiação (SCI), Índice de fiabilidade (CSP), coeficiente de variação (CV %), não houve efeito significativo com relação aos tratamentos. Estudo realizados por Zancaro, et al. (2005) com micronutrientes

não encontrou efeito no rendimento de fibra e características da fibra produzida. Souza et al. (2010) em seu trabalho, estudando doses de N e B via foliar, apresenta significância para todas as variáveis estudadas, exceto para o índice de micronaire e o grau de amarelo, onde houve efeito dos tratamentos aplicados na qualidade de fibra do algodão. As informações de pesquisas com relação à nutrição foliar na cultura do algodoeiro são escassas e adversas necessitando de maiores pesquisas com tema, principalmente com relação ao momento ideal de aplicação dos fertilizantes.

Tratamentos - Adubação Foliar	CG	Leaf	Area	Count	SFI	Mat	SCI	CSP
T1	11.12 a	1.00 a	0.07 a	4.25 a	8.37 a	0.87 a	135.25 a	2251.75 a
T2	16.10 a	2.25 a	0.30 a	5.75 a	7.70 a	0.88 a	134.00 a	2225.50 a
T3	13.62 a	1.00 a	0.09 a	3.00 a	8.82 a	0.87 a	134.75 a	2242.50 a
T4	11.12 a	1.25 a	0.12 a	4.50 a	7.72 a	0.87 a	137.75 a	2277.50 a
T5	11.10 a	1.00 a	0.07 a	2.75 a	9.05 a	0.87 a	126.50 a	2198.25 a
Testemunha	13.65 a	1.00 a	0.08 a	3.25 a	8.17 a	0.88 a	134.00 a	2226.25 a
Média	12.78	1.25	0.12	3.91	8.36	0.87	133.70	2236.95

Tabela 7. Médias das características tecnológicas de fibra do algodão, Grau de cor (CG), Grau de folha (Leaf), Percentual da área ocupada pelo somatório das partículas de impurezas em função da área total analisada (Area), Número de partículas maiores que 0,006m² presentes na superfície da amostra (Count), Índice de fibras curtas (SFI), Maturidade da fibra de algodão (Mat), Índice de consistência da fição (SCI), Índice de fiabilidade (CSP), coeficiente de variação (CV %) e a média geral para cada variável da cultura do algodoeiro em função da adubação foliar. Palmas – TO, 2018.

Médias seguidas por uma mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si, a ($p < 0,05$), pelo teste Tukey.

As tabelas 6 e 7 apresentam os valores médios das demais características da qualidade de fibra do algodão analisada em campo, mas sem influência significativa dos tratamentos foliares. Contrastante a tal resultado, Souza et al. (2010) em seu trabalho, apresenta significância para todas as variáveis estudadas, exceto para o índice de micronaire e o grau de amarelo, onde houve efeito dos tratamentos aplicados na qualidade de fibra do algodão

4 | CONCLUSÕES

Adubação foliar proporcionou maior comprimento médio da metade superior - UHML, onde a combinação dos produtos utilizados, frequência e períodos de aplicação resultou em uma resposta positiva para este parâmetro.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, M. R. Q. A.; KÔNIG, A.; BELTRÃO, N. E. M.; CEBALLOS, B. S. O.; AZEVEDO, C. A. V.;

TAVARES, T. L. Características tecnológicas da fibra do algodão herbáceo sob efeito de adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 9, Suplemento, p. 202-206, 2005

BARBOSA, M. Z.; NOGUEIRA JÚNIOR, S. Aspectos quali-quantitativos do consumo recente de algodão no Brasil. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 37-39, abr. 2001.

BRADOW, J. M.; DAVIDONIS, G. H. Quantitation of fiber quality and the cotton production -processing interface: a physiologist's perspective. **Journal of Cotton Science**, Memphis, v. 4, p. 34-64, 2000. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/c60d/b9f341ab841fced345616d0c3918e23de69.pdf>. Acesso em: 24 mar. 2018.

CARVALHO, M. C. S. **Nutrição e Adubação do Algodoeiro com Micronutrientes. Circular técnica Embrapa Algodão**. Campina Grande, PB. 17p. 2007. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPA/20843/1/CIRTEC110.pdf>. Acesso em: 28 de abril de 2018.

CASSMAN, K. G.; KERBY, T.A.; ROBERTS, B.A.; BRYANT, D.C.; HIGASHI, S.L. Potassium nutrition effects on lint yield and fiber quality of Acala cotton. **Crop Science**, Madison, v. 30, p. 672-677, 1990.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Indicadores da Agropecuária**. 2017. Disponível em: https://www.conab.gov.br/index...da.../1708_4a94ec4f846c01c9b0f3869a0e319108. Acesso em: 29 de Abril de 2018.

EMBRAPA - **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Solos tropicais: Latossolos vermelho-amarelos**. 2013. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/solos_tropicais/arvore/CONT000g05ip3qr02w5ok0q43a0r3t5vjo4.html. Acesso: 10 de Novembro 2017.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium (Lavras)**, v. 6, p. 36-41, 2008.

MOCELLIN, R. S. P. **Princípio da adubação foliar**: Coletânea de dados e revisão bibliográfica. Canoas, 2004. 83 p.

NETO, J. C. P.; LANZA, M de A. Efeitos de micronutrientes, aplicados via sulco e foliar, na cultura do algodoeiro herbáceo (*Gossypium hirsutum* L.). In Congresso Brasileiro de Algodão, 5. Embrapa Algodão, Campina Grande, PB. **Anais...** 1. CD-Rom, 2005.

PETTIGREW, W.T.; MEREDITH JR.; W.R. Dry matter production, nutrient uptake, and growth of cotton as affected by potassium fertilization. **Journal of Plant Nutrition**, Athens, v. 20, n. 4/5, p. 531-548, 1997.

ROSOLEM, C. A.; GUAGGIO, J. A. & SILVA, N. M. **Algodão, Amendoim e Soja**. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P.; RAIJ, B. V. & ABREU, C. A., eds. Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura. Jaboticabal, CNPq/FAPESP/POTAFOS. 2001. p. 319-354.

SILVA, N. M.; CARVALHO, L. H. **Micronutrientes na cultura algodoeira**. In: FUNDAÇÃO CARGILL. Micronutrientes. Campinas, 1982. 124 p.

SILVA, N.M. **Nutrição mineral e adubação do algodoeiro no Brasil**. p. 57-92. In: CIA, E; FREIRE, E.C.; SANTOS W. J. (Ed.). Cultura do algodoeiro. Potafós, Piracicaba. 386 p. 1999

SILVA, G. G. da. **Desenvolvimento do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) colorido BRS Rubi sob estresse salino em função da adubação orgânica**. 2015. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual da Paraíba, Catolé do Rocha, 2015.

STAUT, L.A.; KURIHARA, C.H. Calagem e adubação. In: Embrapa Agropecuária Oeste. Algodão:

tecnologia de produção. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste/Embrapa Algodão, 2001. cap.5, p.103-123.

SOUZA, T. A. F. de.; RAPOSO, R. W. C.; DANTAS, A. J. de A.; SILVA, C. V. e.; GOMES NETO, A. D.; SANTOS, L. C. N. dos.; ARAÚJO, R. C. de A.; RODRIGUES, H. R. N.; ANDRADE, D. A. de.; MEDEIROS, D. A.; DIAS, J. A.; SILVA, E. S. da.; LIMA, G. K.; LUCENA, E. H. L. de.; PRATES, C. da S. F.. Qualidade da fibra do algodão colorido em função da aplicação foliar de N e B. In: congresso brasileiro de mamona e 1 simpósio internacional de oleaginosas energéticas, 2010, João Pessoa. **Anais...**Campina Grande: Embrapa, 2010. p. 788 - 793.

ZANCARO, L.; HILLSHEIM, J.; TESSARO, L. C.; VILELA, L. C. S. **Resposta da Cultura do Algodão a Adubação com Zinco, Cobre, Manganês e Boro em Solos com Textura Média e Solos com Textura Arenosa.** Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária de Mato Grosso - FUNDAÇÃO MT. 32 p. 2005.

RESULTADOS A PARTIR DE EQUIPAMENTO PORTÁTIL E DE BAIXO CUSTO DESENVOLVIDO PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÕES EM LEITE

Wesley William Gonçalves Nascimento

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares, Departamento de Farmácia.

Governador Valadares – Minas Gerais

Mariane Parma Ferreira de Souza

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares, Departamento de Farmácia

Governador Valadares – Minas Gerais

Ana Carolina Menezes Mendonça Valente

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares, Departamento de Farmácia

Governador Valadares – Minas Gerais

Virgílio de Carvalho dos Anjos

Universidade Federal de Juiz de Fora - Campus Juiz de Fora, Departamento de Física
Juiz de Fora, Minas Gerais

Marco Antônio Moreira Furtado

Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Juiz de Fora, Departamento de Farmácia
Juiz de Fora – Minas Gerais

Maria José Valenzuela Bell

Universidade Federal de Juiz de Fora - Campus Juiz de Fora, Departamento de Física
Juiz de Fora, Minas Gerais

RESUMO: Em trabalhos anteriores, foi desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa,

um equipamento inovador para detecção de fraudes no leite, baseado em medidas elétricas. O equipamento indica possíveis fraudes por água, cloreto de sódio, soda cáustica, álcool etílico e bicarbonato de sódio. As vantagens em relação aos métodos oficiais de análise são portabilidade, baixo custo e detecção de fraudes mistas. Este trabalho apresenta resultados obtidos a partir deste equipamento em comparações com métodos de referência. Foram realizados experimentos em laboratório e em laticínios das regiões de Juiz de Fora e de Governador Valadares em Minas Gerais. Os resultados foram comparados aos métodos de crioscopia, acidez dornic e teste de cloretos. Os resultados apresentaram alta correlação indicando a possibilidade de uso da técnica. O limite de detecção do equipamento para adições de água no conjunto de dados analisados em laboratório foi de 0,78% com precisão de 1,1%. **PALAVRAS-CHAVE:** leite; adulteração, controle de qualidade.

1 | INTRODUÇÃO

O leite é um importante alimento, tanto do ponto de vista nutricional, quanto por sua relevância econômica e social. O leite tem em sua composição mais de cem mil constituintes, possui muitas vitaminas e sais minerais

(Walstra e Jenness, 1987), tendo aspectos físico-químicos característicos, e limites máximos e mínimos estabelecidos pela legislação que controla sua qualidade (Brasil, 2002) (Brasil, 2011).

O Brasil aparece como um dos maiores produtores e consumidores do mundo e sua produção obteve crescimento nos últimos anos como mostram dados do IBGE (2010), entretanto, o leite é a muito tempo alvo de adulterações que visam ampliar o lucro por adição de substâncias que aumentam o volume, mascaram ou preservam a acidez do leite, como mostram Furtado e Vilela (1996). Os órgãos de defesa do consumidor, a indústria de laticínios, e os consumidores têm grande preocupação quanto à qualidade do leite e de seus derivados. Toda a cadeia de produção necessita de processos eficientes para garantir a qualidade e segurança do produto (Das et al., 2011).

A metodologia oficial para detecção de fraude por aguagem é a crioscopia, que mede o ponto de congelamento do leite, porém, este método apresenta falhas, não sendo a prova de fraudes e limitando-se apenas a detecção confiável de adições simples de água (Nascimento et al., 2013). O nosso grupo desenvolveu uma metodologia baseada em medidas elétricas para detectar adulterações por adição de água. Este método deu origem a uma patente (depósito de patente número PI0805121-6) e ao desenvolvimento de um equipamento automatizado intitulado MILKTECH (marca registrada: RPI nº 2138) mostrado na figura 1. Trata-se de um equipamento portátil e de baixo custo destinado a testes de qualidade e detecção de fraudes de leite, especialmente por aguagem, porém, sensível à identificação de alterações devido à presença de outros adulterantes. O MilkTech também informa a crioscopia de maneira indireta, a partir da correlação que existe entre as grandezas elétricas medidas por ele e a crioscopia tradicional, através da medida do ponto de congelamento da amostra. Este equipamento está licenciado pela empresa B&A Inovação e Tecnologia e está atualmente sendo comercializado. Pequenos laticínios poderão se beneficiar do equipamento, já que poderão usá-lo durante a coleta de leite e garantir a qualidade de maneira muito rápida. Além disso, o mesmo pode ser usado no caminhão de coleta de leite podendo vir a descartar um leite que esteja fora dos padrões antes que o mesmo contamine o leite já armazenado no caminhão.

Neste trabalho iremos apresentar resultados obtidos a partir deste equipamento em comparações com a metodologia de referência em experimentos realizados em laboratório e em laticínios das regiões de Juiz de Fora e Governador Valadares em Minas Gerais.



Figura 1: Equipamento desenvolvido MilkTech

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos em laboratório foram realizados com leite cru coletados da Embrapa Gado de Leite (Campo Experimental José Henrique Bruschi, localizado na cidade de Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil) que estavam de acordo com a legislação brasileira com os seguintes índices: acidez 14-18° Dornic, densidade entre 1,028g.mL⁻¹ e 1,032g.mL⁻¹ e índice crioscópico máximo de - 0,530° H. O leite genuíno foi adulterado em concentrações pré-definidas com água da torneira, cloreto de sódio e bicarbonato de sódio, hidróxido de sódio e álcool adquiridos do comércio. Testes estatísticos paramétricos (após a verificação dos pressupostos) foram aplicados a partir dos resultados gerados.

As análises em campo utilizando o equipamento foram realizadas em laticínios de Juiz de Fora e de Governador Valadares, Minas Gerais, para avaliar o comportamento do MilkTech e da metodologia baseada em medidas elétricas em um ambiente real, externo a um laboratório. Foram realizadas análises periódicas nos laticínios em amostras identificadas de cada produtor. As análises eram realizadas simultaneamente ao método de crioscopia. Em amostras que apresentaram suspeita de adição de reconstituente ou acidez elevada pelo MilkTech eram realizados testes de acidez dornic e teste de cloreto.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em trabalhos anteriores foi realizado um tratamento estatístico para avaliação e validação do modelo descritivo/preditivo utilizado pelo MilkTech. Os resultados indicaram que o modelo não apresentou falta de ajuste com 95% de confiança e a avaliação dos pressupostos dos resíduos, ou seja, a normalidade (KolmogorovSmirnov), homocedasticidade (Levene), autocorrelação (Durbin-Watson), com 95% de confiança, corroboraram que o modelo é apropriado. Além disso, o valor máximo proporcional da variância explicada e a significância da regressão

foram, respectivamente, 0,988 e 5754,2, o que também reforça a adequação do modelo.

Neste trabalho para verificar a eficiência e robustez do modelo utilizado pelo MilkTech, um estudo comparativo foi realizado. Sete amostras foram distribuídas em sete níveis de diluição. Os resultados obtidos com o modelo foram comparados com os valores verdadeiros, tal como apresentado na tabela 1.

Amostra	Adulteração real de água (%)	Adulteração de água detectada pelo MilkTech (%)	Desvio do resultado detectado pelo MilkTech em relação a real diluição (%)
1	0	0.1	0
2	14	13.3	0.098
3	3	2.5	0,015
4	7	6.2	0,056
5	11	10.9	0,011
6	20	19.6	0,08
7	26	26.0	0

Tabela 1. Testes de Milktech em 7 amostras adulteradas com água (em%). A segunda coluna mostra a% real da água adicionada, a terceira exibe o resultado obtido com a Milktech e a quarta o desvio dos resultados detectados pelo MilkTech em relação as diluições realizadas.

Os resultados de água adicionada detectados pelo MilkTech ficaram coerentes com os reais níveis de diluição preparados nos experimentos. O pressuposto de normalidade foi testado de maneira que não foi observado nenhum desvio da normalidade, com 95% de confiança. Na sequência, o teste-T foi realizado, para avaliar possíveis diferenças estatísticas entre os resultados medidos e não houve diferença significativa para o conjunto total de amostras com 96% sendo que o valor-p foi igual a 0,041. O limite de detecção do equipamento medido para o conjunto de dados analisados foi de 0,78% de água com precisão de 1,1%.

Outro experimento, foi avaliar o comportamento das medidas realizadas pelo MilkTech, para adições propositais de cloreto de sódio e bicarbonato de sódio em leite original. Os resultados mostraram que o equipamento é capaz de detectar a presença destes adulterantes em um leite original nestes níveis de concentração com limite de detecção de 0,09g/L para o cloreto de sódio e 0,27 g/L para o bicarbonato de sódio para esse conjunto de dados analisados. A tabela 2 a seguir mostra resultados apresentados pelo MilkTech em amostras de leite propositadamente adicionadas com substâncias como água, cloreto de sódio, hidróxido de sódio e álcool.

Amostra	1	2	3	4	5	6
Adulteração	Água	Água	NaCl-	NaOH (P.A.) (P.M.:40,00)	Álcool etíico (98.5 GL)	Álcool etíico (98.5 GL)

Quantidade	3 mL/L	10 mL/L	0.1 g/L	0.1 g/L	0.8 mL/L	4 mL/L
Índice Crioscópico (MilkTech) (°H)	- 0.539	-0.536	-0.575	-0.574	-0.539	-0.534
Resultado MILKTECH	0.2%	0.8%	Reconstituição de adição ou alta acidez	Reconstituição de adição ou alta acidez	Suspeito 0.2%	Suspeito 1.3%

Tabela 2. Desempenho do MilkTech comparado com o crioscópico em amostras de leite cru adulteradas com água, cloreto de sódio, hidróxido de sódio (soda cáustica) e álcool etílico.

Os resultados demonstraram que o equipamento é sensível a pequenas adições, além de conseguir quantificar adulterações com água.

Em ambientes externos a laboratórios o MilkTech também mostrou comportamento eficaz. Alguns resultados das análises realizadas em uma cooperativa e em um laticínio da região de Governador Valadares são apresentados nas tabelas 3 e 4 a seguir, e demonstraram boa correlação do equipamento em relação aos métodos de referência, mesmo atuando em ambientes reais inserido nas rotinas das cooperativas e laticínios. Houve boa correlação dos resultados de crioscopia, indicando que o método é capaz de oferecer resultados de índice crioscópico de maneira indireta com boa precisão. Destacam-se os resultados em que o equipamento indicou suspeita de reconstituente. Nestes casos existiu a suspeita das amostras estarem com anormalidades, apesar de não terem sido detectadas pelo crioscópio. Nas amostras 10 e 12 analisadas na cooperativa citada foi realizado o teste de cloretos e os resultados atestaram a presença de cloreto de sódio o que confirma a suspeita de uma fraude mista envolvendo água e sal.

Amostra	CRIOSCOPIA (°H) (CRIOSCÓPICO)	CRIOSCOPIA (°H) (MilkTech)	CONCLUSÃO (MilkTech)	TESTE DE CLORETO
1	-0.539	-0.546	REGULAR	
2	-0.537	-0.542	REGULAR	
3	-0.537	-0.542	REGULAR	
4	-0.535	-0.542	REGULAR	
5	-0.538	-0.545	REGULAR	
6	-0.535	-0.540	OK	
7	-0.538	-0.540	OK	
8	-0.546	-0.540	OK	
9	-0.538	-0.542	REGULAR	
10	-0.526	-	SUSPEITO	POSITIVO
11	-0.538	-0.548	REGULAR	
12	-0.541	-	SUSPEITA	POSITIVO

Tabela 3. Comparação dos valores de crioscopia pelo método oficial e MilkTech em uma cooperativa de Governador Valadares MG, de maneira que a coloração verde ambos dos equipamentos utilizados se enquadram no mesmo parâmetro; coloração vermelha indica que há diferença dos resultados entre os equipamentos utilizados.

AMOSTRA	CRIOSCOPIA (°H) (Crioscópico)	CRIOSCOPIA (°H) (MilkTech)	SITUAÇÃO
1	-0.542	-0.540	OK
2	-0.540	-0.540	OK
3	-0.523	-0.540	OK
4	-0.538	-0.539	REGULAR
5	-0.458	-	16,4%
6	-0.523	-	3,4%
7	-0.540	-0.540	OK
8	-0.542	-0.540	OK
9	-0.540	-0.540	OK
10	-0.544	-0.540	OK
11	-0.548	-0.543	REGULAR
12	-0.542	-0.540	OK
13	-0.542	-0.540	OK
14	-0.542	-0.542	REGULAR
15	-0.542	-0.540	REGULAR
16	0.542	-0.544	REGULAR
17	-0.542	-0.542	REGULAR
18	-0.542	-0.540	OK
19	-0.542	-0.540	OK
20	-0.542	-0.540	OK
21	-0.542	-0.479	SUSPEITO
22	-0.542	-0.540	OK
23	-0.540	-0.540	OK
24	-0.362	-0.386	40.44%
25	-0.537	-0.540	OK
26	-0.537	-0.540	OK
27	-0.537	-0.540	OK

Tabela 4. Comparação dos valores de crioscopia pelo método oficial e MilkTech em uma indústria de laticínios de Governador Valadares MG, de maneira que a coloração verde ambos dos equipamentos utilizados se enquadram no mesmo parâmetro; coloração vermelha indica que há diferença dos resultados entre os equipamentos utilizados; amarela a porcentagem de água detectada pelo MilkTech.

Todos os resultados de crioscopia obtidos na cooperativa e no laticínio, medidos pelo Crioscópio e pelo MilkTech são apresentados na figura 2, onde a linha em azul delimita a crioscopia mínima permitida pela legislação. As primeiras 12 amostras foram as medidas na cooperativa e as demais no laticínio. Pode-se observar que as amostras destacadas nas tabelas 3 e 4 apresentaram resultados graficamente fora dos padrões esperados para um leite genuíno.

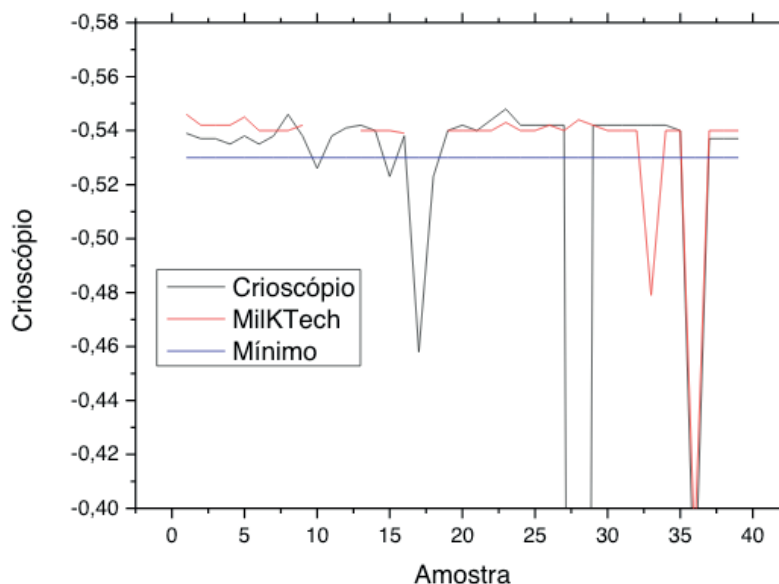


Figura 2: Crioscopia medida pelo crioscópio e pelo MilkTech. A linha em azul delimita o índice crioscópico mínimo aceito pela legislação.

4 | CONCLUSÃO

Os resultados a partir do equipamento apresentaram resultados satisfatórios para detecção dos adulterantes testados. O modelo utilizado não apresentou falta de ajuste para o intervalo de confiança testado. Os limites de detecção do MilkTech para água, cloreto de sódio e bicarbonato de sódio foram de 0,78%, 0,09 g/L e 0,27 g/L respectivamente. Em comparações com os valores reais de diluições não foram observadas diferenças estatísticas significativas dos resultados para o intervalo de confiança testado. Portanto, as vantagens da técnica baseada em medidas elétricas são inúmeras, a citar o baixo custo, portabilidade e rapidez na análise. Além disso, a metodologia e equipamentos propostos auxiliam na eficiência de controle de qualidade e detecção de fraudes, uma vez que podem operar de forma concomitante aos métodos de referência. A portabilidade do equipamento desenvolvido faz com que este seja importante para ser usado em testes de rotina pelas indústrias, uma vez que permite que as análises sejam feitas durante a coleta do leite em campo.

REFERÊNCIAS

Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. (2002, September 20). Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel, em conformidade com os anexos a esta Instrução Normativa (**Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002**). *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, seção 1, p. 13.

Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2011, December 29). Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos (**Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011**). *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*.

Das, S., Sivaramakrishna, M., Biswas, K., & Goswami, I. (2011). **Performance study of a constant phase angle based impedance sensor to detect milk adulteration**. *Sensors and Actuators A, Physical*, 167(2), 273-278. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sna.2011.02.041>.

Furtado, M. A. M., & Vilela, M. A. P. (1996). **Fraudes em leite de consumo: limites de detecção**. *Revista Leite e Derivados*, 29, 14-18.

Handford, C. E., Campbell, K., & Elliott, C. T. (2016). **Impacts of milk fraud on food safety and nutrition with special emphasis on developing countries**. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 130-142. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12181>..

Hrbek, V., Vaclavik, L., Elich, O., & Hajslova, J. (2014). **Authentication of milk and milk-based foods by direct analysis in real time ionization– high resolution mass spectrometry (DART–HRMS) technique: a critical assessment**. *Food Control*, 36(1), 138-145. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.08.003>.

Mabrook, M. F., & Petty, M. C. (2002). **Application of electrical admittance measurements to the quality control of milk**. *Sensors and Actuators. B, Chemical*, 84(2-3), 136-141. [http://dx.doi.org/10.1016/S0925-4005\(02\)00014-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0925-4005(02)00014-X).

Milktech. (2011). Trade mark: RPI nº 2138, 27/12/2011. Patent PI0805121-6 A2. Brasília: INPI.

Nascimento, W. W. G., Oliveira, M. A. L., Furtado, M. A. M., Anjos, V. C., & Bell, M. J. V. (2013). **Development and optimization of an alternative methodology for detection of milk adulteration by water**. *Journal of Food Science and Engineering*, 3, 363-370.

TEOR DE CAFEÍNA E RENDIMENTO DE SEMENTES DE CINCO CULTIVARES DE GUARANAZEIRO COLHIDAS EM TRÊS ESTÁGIOS DE MATURAÇÃO E SUBMETIDAS A SEIS PERÍODOS DE FERMENTAÇÃO

Lucio Pereira Santos

Pesquisador; Embrapa Amazônia Ocidental;
Manaus, Amazonas.

Lucio Resende

Engenheiro Agrônomo; Agropecuária Jayoro Ltda;
Presidente Figueiredo, Amazonas.

Enilson de Barros Silva

Professor; Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e do Mucurí; Diamantina, Minas
Gerais.

RESUMO: Com os objetivos de avaliar as influências de cultivares de guaranazeiro, estágios de maturação e períodos de fermentação sobre o teor de cafeína e o rendimento de sementes, foi conduzido um experimento em delineamento DIC, 90 tratamentos e quatro repetições, em esquema fatorial (5 x 3 x 6), respectivamente, cinco cultivares (BRS CG Maués, BRS CG Cereçaporanga, BRS CG Luzeia, BRS CG Mundurucânia e, BRS CG Andirá) x três estágios de maturação (E1 - frutos começando a pintar da cor característica da cultivar; E2 - frutos com aparência de maduros, porém, ainda não abertos; e, E3 - frutos maduros abertos, em ponto de colheita) x seis períodos de fermentação (Zero; 24; 48; 72; 96; 120 horas). Os tratamentos dispostos em caixas de PVC (150 L), com tampas herméticas, um suspiro na parte superior. Após colheita, foram

retiradas amostras do período Zero e, após cada período de fermentação, amostras de 1,0 kg foram retiradas, suas sementes despulpadas, lavadas, secadas à sombra e conduzidas ao Laboratório Industrial da Jayoro, onde foram secadas à estufa até umidade entre 8 e 9%, preparadas e realizadas análises de cafeína. Os dados médios foram submetidos à análise de variância usando-se o software PROG GLM e, com as médias das características estudadas, foram realizadas as análises de regressão. As influências de Cultivar e Estágio de Maturação foram analisadas por meio do Teste de Tukey a 5%. O teor de cafeína não variou entre as cultivares. É mais viável processar o guaraná sem a prática da fermentação.

PALAVRAS-CHAVE: *Paullinia cupana*; pós-colheita; variabilidade genética.

CAFFEINE CONTENT AND SEED YIELD OF FIVE GUARANAZEIRO CULTIVARS HARVESTED IN THREE MATURATION STAGES AND SUBJECTED TO SIX FERMENTATION PERIODS

ABSTRACT: With the objectives of evaluating the influences of guaranazeiro cultivars, maturation stages and fermentation periods on the caffeine content and seed yield, an

experiment was conducted in a DIC design, 90 treatments and four repetitions, in factorial scheme (5 x 3 x 6), respectively, five cultivars (BRS CG Maués, BRS CG Cereçaporanga, BRS CG Luzeia, BRS CG Mundurucânia e, BRS CG Andirá) x three stages of maturation (E1-fruits beginning to paint the characteristic color of the cultivar; E2-fruits with mature appearance, but not yet open; And, E3-open ripe fruits, at Harvest point) x six fermentation periods (Zero; 24; 48; 72; 96; 120 hours). The treatments arranged in PVC boxes (150 L), with airtight lids, a sigh in the upper part. After harvesting, samples were taken from the zero period and, after each fermentation period, samples of 1.0 kg were removed, their seeds were pulped, washed, dried in the shade and led to the industrial laboratory of Jayoro, where they were dried to the greenhouse until moisture between 8 and 9%, prepared and performed caffeine analyses. The mean data were subjected to analysis of variance using the software PROG GLM and, with the averages of the studied characteristics, the regression analyses were performed. The influences of cultivar and maturation stage were analyzed using the Tukey test at 5%. The caffeine content did not vary among cultivars. It is more feasible to process guarana without the practice of fermentation.

KEYWORDS: *Paullinia cupana*; postharvest; genetic variability.

1 | INTRODUÇÃO

O guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *Sorbilis* (Mart. Ducke) pertence ao elenco das principais espécies amazônicas com potencial econômico. A maior parte da produção é destinada ao mercado interno, com 90% comercializado na forma de rama, sendo cerca de 71,4% destinados à indústria de refrigerantes. O restante, comercializado na forma de pó, bastão e xaropes, dentre outros.

No Amazonas, a atividade se enquadra basicamente em guaranaicultura de base familiar e guaranaicultura empresarial. O Polo Industrial de Manaus (PIM) é o grande demandador de sementes de guaraná, para o fabrico de refrigerantes, sendo os principais o guaraná Kwat e a Fanta Guaraná, ambos da Coca-Cola, e o guaraná Antarctica, da Ambeve.

Dado o grande volume de sementes necessário para suprir esse mercado, as metodologias tradicionais não atendiam mais às necessidades de seu preparo e beneficiamento, o que ensejou iniciativas de pesquisa que pudessem viabilizar novas tecnologias e novos processos em seu processamento pós-colheita.

À partir do ano de 2010, a Embrapa Amazônia Ocidental liderou um projeto, em parceria com a Pinhalense S. A. Máquinas Agrícolas e com a Agropecuária Jayoro Ltda, por meio do qual foi desenvolvida uma usina completa de processamento pós-colheita de guaraná. Com essa usina, foi possível quebrar um paradigma secular, segundo o qual o guaraná somente devia ser despolpado após a fermentação dos frutos por período de cerca de 72 horas. E os argumentos que sustentavam essa tese eram, basicamente, dois, quais sejam: a) a fermentação promove os

desdobramentos, pelos microrganismos, dos compostos orgânicos existentes entre a casca e a semente, sendo condição indispensável para o desprendimento destas duas frações; e, b) a fermentação eleva o teor de cafeína das sementes.

Contrariando a primeira assertiva, durante o desenvolvimento da usina, na fase de testes das suas eficácia e eficiência, foi observado pela equipe que os frutos recém-colhidos, *in natura*, fluíam perfeitamente pelo sistema, com desempenho superior à fluência dos frutos fermentados, pois, por não possuírem os produtos da fermentação, que são pegajosos, não aderiam com facilidade aos crivos das peneiras do despoldador, demandando, desta forma, menos tempo de manutenção dos despoldadores, evitando que o sistema precisasse ser desligado com frequência para desobstrução das peneiras. Entretanto, como na maioria dos casos as mudanças trazem consequências desejáveis e também indesejáveis, inicialmente, houve uma maior dificuldade para a retirada do arilo e para a separação das frações cascas/ sementes pela diferença de densidade, justamente pelo fato de, sem a fermentação, não haver os desdobramentos e o consumo do arilo pelos microrganismos, bem como as cascas se manterem mais pesadas, por encerrarem maior teor de água. Contudo, essas limitações foram resolvidas, inclusive com as ofertas de alternativas para serem escolhidas, como foram os casos, desenvolvimento do desarilador e, repasse das sementes no lavador. No primeiro caso, um equipamento que foi originalmente desenvolvido para a remoção da mucilagem do café, denominado desmucilador, foi adaptado com sucesso para realizar a remoção do arilo das sementes de guaraná, tendo recebido a denominação de desarilador. No segundo caso, com os anos de experiência, constataram-se que uma dupla passada das sementes despoldadas pelo lavador apresentava eficiência na remoção do arilo, com rendimento da operação superior ao obtido com o desarilador, fato este que, somado a outra grande vantagem observada, a sensível melhoria na separação das frações sementes/cascas, determinaram a opção pela Jayoro em instalar dois lavadores, em série. Com esse procedimento, além de a empresa ter obtido maior eficiência das operações de beneficiamento, a qualidade final das sementes também obtiveram ganho expressivo. Uma descrição mais completa e detalhada do novo processo desenvolvido e implantado com a nova usina pode ser visto em Santos (2014) e Santos (2018).

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo geral de avaliar a viabilidade técnica do emprego do processo de fermentação na fase pós-colheita do guaraná, e com objetivos específicos de aferirem as possíveis existências de respostas diferenciais de cultivares e de estágio de maturação sobre as características “teor de cafeína” e “rendimento” de sementes secas, visando obter eficiência no processamento, rendimentos das operações e da matéria prima, além da qualidade final das sementes para a indústria de refrigerante.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização, características edafoclimáticas e condução das plantas no campo

O trabalho foi conduzido na fazenda da Agropecuária Jayoro Ltda, no Município de Presidente Figueiredo/AM. As amostras de frutos/sementes foram coletadas de plantas cultivadas em Latossolo Amarelo Distrófico. A altitude da área experimental é de 122 m; latitude de 1°56'30" S; longitude de 60°02'15" W; precipitação pluviométrica média anual de 2.500 mm, conforme Jayoro (1998), citado por Lopes et al. (Online). A temperatura média anual é de 26,5 °C. O clima é do tipo "Afi", descrito por Köppen (Antonio, 2005).

O plantio (03/06/2011), estabelecimento da lavoura e os tratos culturais, anualmente, foram realizados de acordo com o Sistema de Produção recomendado pela Embrapa, Pereira (2005), com algumas modificações nas adubações, conforme descrito por Santos et al. (2018).

2.2 Delineamento experimental, fatores em estudo e composição dos tratamentos

Utilizaram-se 90 tratamentos e quatro repetições, em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial (5 x 3 x 6), respectivamente, cinco cultivares (BRS CG Maués; BRS CG Cereçaporanga; BRS CG Luzeia; BRS CG Mundurucânia; e, BRS CG Andirá) x três estágios de maturação (E1 - frutos começando a pintar da cor característica da cultivar; E2 - frutos com aparência de maduros, porém, ainda não abertos; e, E3 - frutos maduros abertos, em ponto de colheita) x seis períodos de fermentação (Zero; 24; 48; 72; 96; e, 120 horas). Os frutos foram colhidos no campo (28/11/2018), levados imediatamente para o galpão de apoio, onde sofreram as separações de seus racemos, que não entraram na composição dos tratamentos. Em seguida, as caixas de PVC, com capacidade para 150 Litros, foram cheias com os frutos, das respectivas cultivares e estágios de maturação, com quatro repetições para cada uma das combinações destes fatores em estudo (90 tratamentos). As caixas foram numeradas e suas posições no galpão foram sorteadas, distribuídas de maneira aleatória, local onde permaneceram, ao abrigo do sol e das chuvas, até o final do experimento. As caixas, após terem sido cheias com os frutos, receberam tampas herméticas, possuindo apenas um suspiro em sua parte superior para eliminação dos gases resultantes da fermentação, tendo sido abertas somente por ocasião das coletas das subamostras e, logo em seguida, novamente tampadas.

2.3 Coletas das subamostras e avaliações físicas

No mesmo dia da coleta dos frutos no campo (28/11/2018), imediatamente após as caixas terem sido cheias, compondo os tratamentos, foram realizadas as coletas/separações das subamostras destinadas às avaliações do tratamento “período Zero de fermentação”, com suas respectivas repetições, para cada cultivar e para cada um dos estágios de maturação, ao passo que, no dia 03/12/2018, foram realizadas as últimas coletas, nas caixas, do tratamento referente ao último período de fermentação (120 horas), com suas respectivas repetições, também para cada cultivar e para cada estágio de maturação.

Após cada período de fermentação, subamostras de frutos (cerca de 1,0 kg), de cada tratamento/repetição, foram coletadas, pesadas, despulpadas em despulpador manual, lavadas, secadas à sombra em peneiras e novamente pesadas, ensacadas, identificadas e conduzidas ao Laboratório Industrial da Agropecuária Jayoro Ltda. No laboratório, foram secadas em estufa elétrica, equipada com termorregulador, durante 16 horas, a uma temperatura de 110 °C, até atingirem umidade entre 8 e 9%. Em seguida, foram novamente pesadas. Os dados até aqui obtidos permitiram avaliar as características: Rendimento Sementes Secas em Relação aos Frutos – SS/F% e, Rendimento Relativo = Sementes Secas em Relação às Sementes Despulpadas e Lavadas – SS/SDL%. Durante cada amostragem efetuada na caixa, após cada período de fermentação, foi medida a temperatura da cavidade onde foi retirada a amostra. Desta forma, foi possível também avaliar a Temperatura °C da massa fermentativa, em cada período de fermentação estudado.

2.4 Extração e quantificação de cafeína nas sementes secas

No laboratório, as sementes, com cerca de 8 a 9% de umidade, foram trituradas em moinhos e preparadas para serem submetidas às análises dos seus teores de cafeína. Para a extração e a quantificação por Espectrofotometria Ultra Visível, seguiu-se metodologia recomendada por INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008).

2.5 Análises estatísticas

Os dados médios foram submetidos à análise de variância usando-se o software PROG GLM e, com as médias das características estudadas (Cafeína%; Temperatura °C; Rendimento Sementes Secas em Relação aos Frutos – SS/F%; Rendimento Relativo = Sementes Secas em Relação às Sementes Despulpadas e Lavadas – SS/SDL%), obtidas em função do tempo de fermentação, para a média de cultivar e média de estágio de maturação, foram realizadas as análises de regressão. As influências dos fatores qualitativos (Cultivar e Estágio de Maturação) sobre as características estudadas foram analisadas por meio do Teste de Tukey a 5%.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para Teor de Cafeína, houve efeitos significativos de Estágio de Maturação (EM) e Tempo de Fermentação (TF) ($p < 0,05$). Para Temperatura, houve efeitos de Cultivar (C), Estágio de Maturação (EM) e Tempo de Fermentação (TF) ($p < 0,05$). Para Rendimento (SS/F%), houve efeitos de Cultivar (C), Estágio de Maturação (EM) e Tempo de Fermentação (TF) ($p < 0,05$). Para Rendimento Relativo (SS/SDL%), houve efeitos de Estágio de Maturação (EM) e Tempo de Fermentação (TF) ($p < 0,05$). Houve efeitos significativos também das correlações paramétricas “Temperatura x Rendimento” e “Rendimento x Rendimento Relativo” ($p < 0,01$).

3.1 Efeito de cultivar sobre as características Avaliadas

Na Figura 1, abaixo, são apresentadas as médias estimadas (Teste de Tukey a 5%) das características teor de cafeína nas sementes secas (%), Temperatura da massa fermentativa ($^{\circ}\text{C}$), Rendimento de sementes secas em relação aos frutos – SS/F (%) e, Rendimento das sementes secas em relação às sementes despulpadas e lavadas – SS/SDL (%), todas em função da Cultivar.

Nota-se que não houve diferenças entre as cultivares testadas para as características Teor de Cafeína e SS/SDL%.

Por sua vez, de maneira surpreendente, o Rendimento (SS/F%) foi inferior para a cultivar BRS CG Maués, que é a mais cultivada no Amazonas entre todas, ao passo que as demais cultivares não diferiram entre si. ($p < 0,05$).

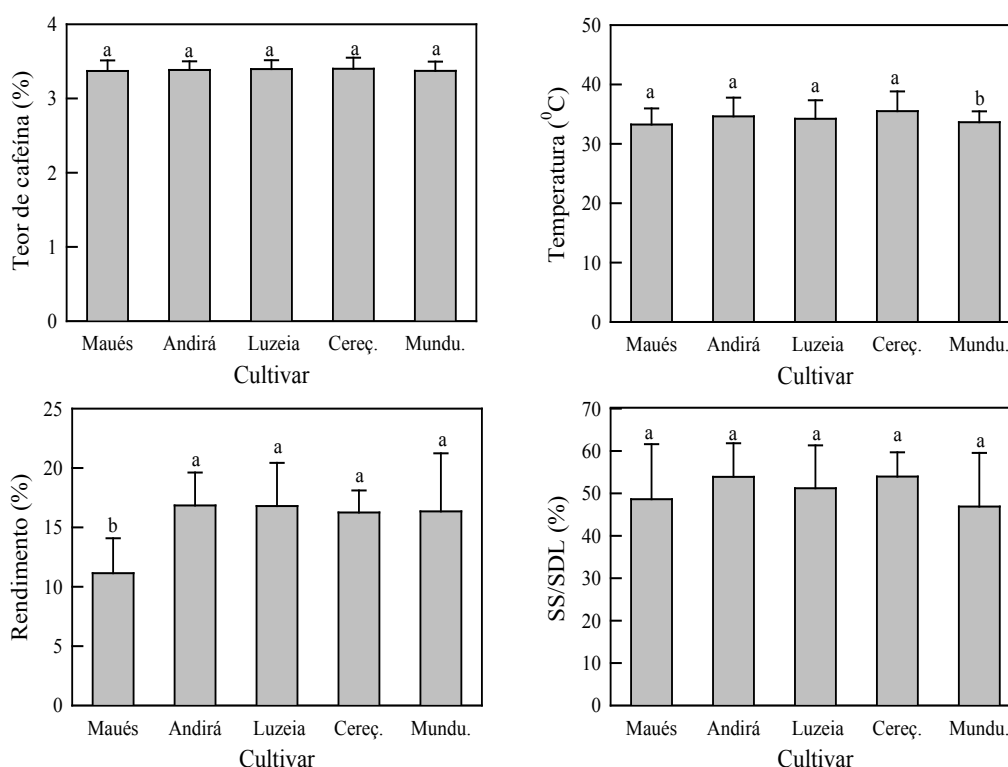


Figura 1. Teor de cafeína (%), temperatura ($^{\circ}\text{C}$), rendimento SS/F (%) e relação SS/SDL (%) para cultivares de guaraná.

Como o Rendimento (SS/SDL%) não revelou diferenças significativas entre as cinco cultivares testadas, depreende-se que as estruturas responsáveis pelo menor Rendimento (SS/F%) da cultivar BRS CG Maués foram aquelas eliminadas pelo processo de despulpamento e lavação, ou seja, as cascas e o arilo, considerando que na SS/SDL% esses componentes foram removidos antes de se estabelecer a comparação com as sementes secas, ao passo que na SS/F%, estas estruturas do fruto participaram da relação estabelecida com as sementes secas.

Outra importante consideração é o fato de que os tamanhos das amostras utilizadas para as avaliações dos rendimentos (SS/SDL% e, SS/F%) foram muito pequenos, sendo que essas aferições foram realizadas para aproveitar-se a oportunidade da disponibilidade destas amostras, que estavam sendo preparadas para a avaliação prioritária da variável teor de cafeína. Entretanto, essas informações nos trazem indícios importantes que poderão ser melhor estudados em outros experimentos, com amostras acima de 100 kg/Tratamento/Repetição, exclusivamente para as aferições destas duas modalidades de “rendimento de sementes secas”.

Com relação à temperatura da massa fermentativa (frutos sem os racemos), a única cultivar que diferiu das demais, apresentando temperatura mais baixa, foi a BRS CG Mundurucânia. Por sua vez, BRS CG Maués, BRS CG Andirá, BRS CG Luzeia e, BRS CG Cereçaporanga, não diferiram entre si ($p < 0,05$). Essa menor temperatura constatada da cultivar BRS CG Mundurucânia pode estar relacionada ao fato de não ter havido produção suficiente de frutos para encher, completamente, as caixas dos tratamentos/repetições desta cultivar. Apesar de as caixas terem permanecido hermeticamente fechadas durante o experimento, elas possuíam um respiradouro, na parte superior. As caixas que não estavam completamente cheias com frutos teriam formado uma camada superficial de ar, entre a tampa e a massa de fermentação, o que poderia ter interferido na temperatura, determinando uma diferença à menor em relação às demais cultivares.

3.2 Efeito do estágio de maturação sobre as características Avaliadas

Na Figura 2, abaixo, são apresentadas as médias estimadas (Teste de Tukey a 5%) das características Teor de cafeína nas sementes secas (%), Temperatura da massa fermentativa (°C), Rendimento de sementes secas em relação aos frutos – SS/F (%) e, Rendimento de sementes secas em relação às sementes despulpadas e lavadas – SS/SDL (%), todas em função do estágio de maturação.

Surpreendentemente, o estágio de maturação E1, que é aquele que equivale à fase em que os frutos/sementes ainda não completaram totalmente sua maturação fisiológica, foi o que revelou maior teor de cafeína nas sementes. Os estágios E2 e E3 ficaram em segundo lugar, não diferindo entre si ($p < 0,05$).

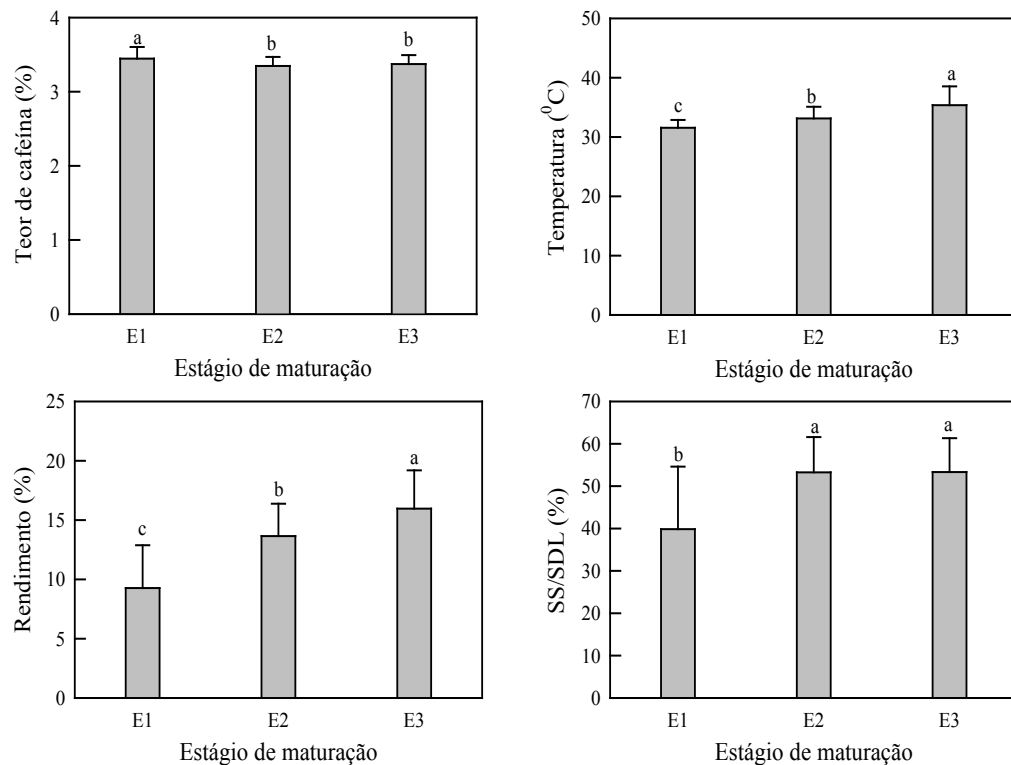


Figura 2. Teor de cafeína (%), temperatura (oC), rendimento SS/F (%) e relação SS/SDL (%) para estágio de maturação.

Aparentemente, na rota de síntese da cafeína existe uma competição entre metabólitos, desencadeada por uma série de fatores que interagem entre si, com destaques para a genética da planta, condições ambientais, dentre outras. Nakamura et al. (2009), observaram correlação negativa entre teobromina e cafeína, e que elas compartilham a mesma via biossintética, na qual a cafeína é sintetizada a partir da xantosina - > 7 metilxantosina - > 7 - metilxantina - > teobromina - > cafeína, em que o doador de metila é a S-adenosilmetionina (SAM). Sugeriram esses autores que diversos fatores poderiam influenciar esta variabilidade, como a variação genética e, parcialmente, as respostas à adaptação ambiental. Portanto, somente um estudo mais detalhado, incluindo também, além da cafeína, as avaliações dos demais metabólitos secundários (catequina, epicatequina, teofilina e teobromina) poderiam auxiliar no processo de esclarecimento do motivo pelo qual o estágio E1 de maturação revelou maior teor de cafeína que os estágios mais avançados de maturação, respectivamente E2 e E3. Vale ressaltar aqui que, na hipótese de esses dados serem confirmados em estudos futuros, e os teores do estágio de maturação E1 forem significativamente superiores aos demais estágios de maturação, isso abrirá uma nova demanda de desenvolvimento de metodologia para processar os frutos do guaranzeiro neste estágio precoce, visando otimizar o aproveitamento da cafeína de suas sementes. Ao lado da substituição do processo de beneficiamento do guaraná por via seca - tradicionalmente realizado pela rota fermentada - pela nova tecnologia da via úmida, sem o emprego da fermentação, conforme foi adotado

pela Jayoro após o ano 2011, a possível antecipação do processamento dos frutos/ sementes de guaraná para a indústria de refrigerantes a partir do estágio E1 de maturação seria a segunda quebra de paradigma que remonta há séculos.

A temperatura mostrou-se bastante coerente em relação aos três estágios de maturação. No estágio E1, que os frutos não completaram ainda sua síntese de compostos orgânicos, a temperatura foi a menor registrada; no estágio E2, a temperatura se mostrou intermediária e, no estágio E3, fase em que os frutos completaram sua maturação fisiológica e, portanto, possuem mais substratos para os microrganismos, revelou a mais alta temperatura, o que é bastante coerente com o fenômeno biológico da fermentação.

Com relação ao rendimento (SS/F%), também houve a estratificação da resposta em três grupos, bastante coerentes, mostrando que, quanto mais próximo do ponto de maturação fisiológica estiverem os frutos do guaranzeiro, maior será o rendimento das sementes secas, devido ao acúmulo máximo de matéria seca nelas.

Já para o rendimento (SS/SDL%), o estágio E1 mostrou também a coerência de ser o mais baixo entre eles e, os outros dois estágios (E2 e E3), foram superiores e não diferiram entre si. Aparentemente, há uma contradição entre os resultados do Rendimento (SS/F%) e o Rendimento (SS/SDL%), visto que, para SS/F% houve diferença entre o estágio E2 e E3, ao passo que, para o SS/SDL%, E2 e E3 não apresentaram diferenças entre si. Uma possível explicação para esse fenômeno seria que, ao atingir o E2, as sementes estariam com suas cascas ainda fechadas, o que teria determinado a preservação do arilo, envolto pelas cascas e, as próprias cascas, teriam permanecido unidas às sementes, durante todo o período experimental (fases fermentativas), dificultando o acesso dos microrganismos ao interior das cascas. Com isso, as sementes teriam se mantido com um maior teor de umidade intrínseca, mesmo após terem sido despulpadas e lavadas, contrapondo-se às sementes do estágio E3 que, por se encontrarem com suas cascas abertas durante os períodos de fermentação, devem ter se desidratado mais. Mesmo em tendo se desidratado mais, como no estágio E3 elas teriam acumulado mais matéria seca, no final, as avaliações mostraram semelhanças entre os estágios de maturação E2 e E3, o que teria determinado essa ausência de diferença significativa entre essas comparações.

3.3 Efeito do tempo de fermentação sobre as características Avaliadas

Na **Figura 3**, abaixo, são apresentados os gráficos com as equações para cada uma das características: Teor de cafeína nas sementes secas (%), Temperatura da massa fermentativa (°C), Rendimento de sementes secas em relação aos frutos – SS/F (%) e, Rendimento de sementes secas em relação às sementes despulpadas e lavadas – SS/SDL (%), todas em função do tempo de fermentação da massa frutos/ sementes.

O teor de cafeína revelou um pequeno aumento, com o ponto de máximo

acúmulo de 3,42%, determinado pelo tempo de fermentação de 42,5 horas. Após esse período, a queda do teor de cafeína foi bastante acentuada. Considerando que o teor de cafeína original, antes do processo da fermentação, era de 3,38%, depreende-se que o melhor resultado desta característica, de 3,42%, obtido após 42,5 horas de fermentação, representa apenas 0,04 pontos percentuais de acréscimo, evidenciando a inviabilidade do processo de fermentação, do ponto de vista da obtenção de aumento do teor de cafeína nas sementes secas de guaraná.

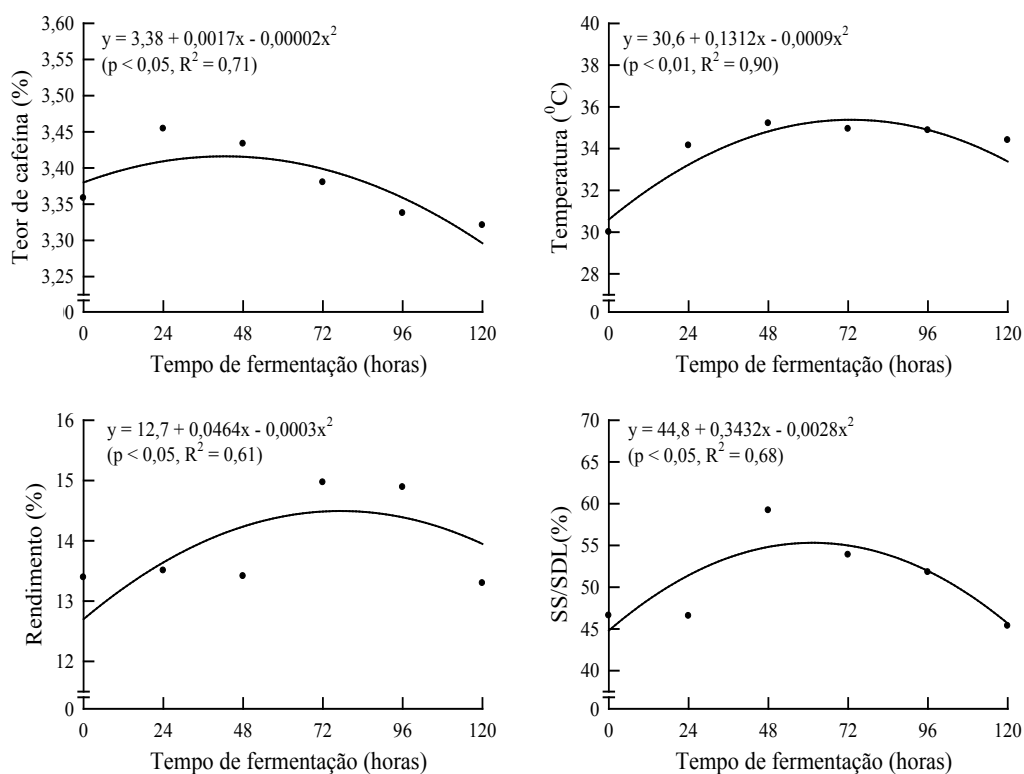


Figura 3. Teor de cafeína (%), temperatura (°C), rendimento SS/F (%) e relação SS/SDL (%) para tempo de fermentação.

O custo operacional demandado para o processo de fermentação, aliado aos demais riscos, tais como o de contaminações das sementes por microrganismos patogênicos e, principalmente, pela possibilidade de a fermentação ultrapassar o período de 42,5 horas - o que levaria a prejuízos financeiros por determinar perdas quantitativas e qualitativas da matéria prima para a indústria de refrigerantes - são alguns dos argumentos que desaconselham a adoção do processo de fermentação na fase pós-colheita e beneficiamento do guaraná. Ademais, é muito provável que essa diferença de 0,04 pontos percentuais de acréscimo do teor de cafeína seja ilusório, considerando os conceitos de base úmida e base seca. Desta forma, antes da fermentação, os frutos possuíam maiores teores de umidade e de compostos orgânicos; após a fermentação, com o consumo dos compostos orgânicos e da água pelos microrganismos, estas relações teriam sido modificadas, não tendo alterado os teores de cafeína e, sim, da matéria seca que a continha, alterando, levemente, essa

proporção. Por sua vez, para os maiores períodos de fermentação, a degradação do substrato e o desdobramento da água da massa fermentativa, provocados pelos microrganismos decompositores, também se elevam, mas, determinam não apenas o consumo e redução do arilo e da água, como também passam a degradar os compostos secundários acumulados nas sementes, como a cafeína, resultando em redução do seu teor.

O tempo de 72,9 horas determinou o ponto de máxima temperatura na massa de fermentação dos frutos/sementes, elevando-a a 35,38 °C. Considerando que a massa de frutos antes de entrar em processo fermentativo apresentava temperatura de cerca de 30,6 °C, houve uma elevação de 4,78 °C até atingir esse ponto de máxima temperatura.

O máximo rendimento de sementes secas (SS/F%), (14,49%), foi obtido após um tempo de fermentação de 77,33 horas. A perda de umidade das cascas e também o próprio desdobramento dos compostos orgânicos que constituem a casca e o arilo, poderiam explicar, pelo menos parcialmente, este aumento de rendimento. Entretanto, após o período de 77,33 horas de fermentação, observaram-se declínios do rendimento. Considerando que o rendimento determinado antes do processo de fermentação foi de 12,7% (idêntico ao que foi obtido em média pela Jayoro, na safra 2014, que foi 12,71% - também sem o processo de fermentação), houve aqui um ganho de 1,79 pontos percentuais com a fermentação por período de 77,33 horas. Se substituirmos o nº de horas de fermentação (77,33 horas), que promoveu o rendimento máximo de sementes secas (SS/F%) (14,49%) na equação da cafeína, obteremos um teor de cafeína de 3,39%, quase idêntico ao teor estimado sem a fermentação, que foi de 3,38%. Logo, se formos fermentar o guaraná visando o aumento máximo de rendimento (14,49%), que foi obtido com o tempo de fermentação de 77,33 horas, o pequeno ganho obtido para a cafeína (0,04 pontos percentuais), com o tempo de fermentação de 42,5 horas, será anulado. Por sua vez, se substituirmos o nº de horas de fermentação (42,5 horas) que promoveu o teor máximo de cafeína (3,39%) na equação do Rendimento (SS/F%), obteremos um Rendimento de sementes secas de 14,13%, representando um ganho de 1,43% em comparação ao rendimento observado com as sementes obtidas dos frutos que não passaram pelo processo de fermentação. Assim, poderíamos então adotar o tempo de fermentação de 42,5 horas, visando atender tanto ao pequeno ganho de cafeína (0,04%) e ao ganho de Rendimento SS/F% (1,43%). Analisando esse novo cenário, é prudente aqui levar em conta pelo menos dois fatores, quais sejam: a) a fermentação reduz drasticamente o peso da massa de frutos/sementes, o que poderá levar a erros de interpretação do rendimento de sementes secas (SS/F%), quando comparados frutos fermentados com frutos não fermentados; b) seria necessária a realização de uma análise econômica, visando definir, com precisão, se haveria viabilidade em adotar todas as complexas operações de fermentação, que demandam espaço, tempo, consumos de energia e mão de obra, além de se tornar suscetível às contaminações

microbiológicas diversas, tudo isso para se obter um ganho relativamente pequeno. É importante também destacar, mais uma vez, que o tamanho da amostra analisada foi bastante pequena para se avaliar com segurança o Rendimento (SS/F%), fato este que não ocorreu com a avaliação da Cafeína, cujo tamanho da amostra foi bastante representativo. Desta forma, recomenda-se repetir essas avaliações, com amostras de tamanho maior, para que os efeitos dos tratamentos possam ser aferidos com maior acurácia sobre o rendimento de sementes secas.

Quanto ao rendimento de sementes secas em relação às sementes despulpadas e lavadas (SS/SDL%), com um tempo de fermentação de 61,29 horas, obtiveram-se o ponto de rendimento máximo, de 55,31%. Períodos superiores a 61,29 horas promoveram declínio desta modalidade de rendimento. Considerando que o SS/SDL% das amostras coletadas antes da fermentação foi de 44,8%, houve um acréscimo de 10,51 pontos percentuais após a fermentação, o que se configura em um resultado altamente expressivo. Especulando sobre a possível explicação para esse fenômeno, as sementes cruas, aquelas que foram obtidas após as coletadas dos frutos, despulpamento e lavagem antes da fermentação, encerravam elevado teor de umidade. Quando essas sementes foram submetidas à secagem na estufa, perderam muita água e resultaram em um SS/SDL% de 44,8%. Por outro lado, quando os frutos contendo as sementes passaram pelo processo de fermentação, após 61,29 horas, a perda de umidade deve ter sido consideravelmente elevada. Desta forma, quando as amostras foram coletadas após a fermentação, despulpadas e lavadas, seus pesos já eram bem menores do que os observados nas sementes despulpadas e lavadas que não passaram pelo processo de fermentação. Ao serem submetidas à secagem na estufa, a porcentagem de água perdida foi bem menor do que a porcentagem perdida constatada nas sementes não-fermentadas. Isso explicaria, pelo menos em parte, os 10,51% de diferença à favor da SS/SDL% das sementes que foram submetidas à fermentação por um período de 61,29 horas, quando comparado com a SS/SDL% das sementes que não foram fermentadas.

3.4 Correlações entre as variáveis

Houve efeitos altamente significativos ($p < 0,01$) das correlações paramétricas “Temperatura x Rendimento (SS/F%)” e “Rendimento (SS/F%) x Rendimento Relativo” (SS/SDL%).

Com referência à correlação entre Temperatura e SS/F%, essa medida revelou que 34% do rendimento pode ser explicado pelo efeito da temperatura, o que está estreitamente ligado ao tempo e às condições de fermentação da massa de frutos/sementes. Entretanto, foi demonstrado na **Figura 3**, acima, e nos seus respectivos comentários, que o ganho observado de acréscimo no Teor de Cafeína inviabiliza o processo de fermentação, o mesmo tendo sido concluído com relação ao Rendimento.

A correlação mais estreita entre SS/F% e SS/SDL%, (60%), era esperada, visto que ambos os índices dizem respeito ao rendimento final das sementes secas, com

a diferença de o primeiro ser realizado em função do fruto inteiro e, o segundo, partir das sementes despulpadas e lavadas, portanto, sem a casca e o arilo.

4 | CONCLUSÕES

- O teor de cafeína não variou entre as cinco cultivares estudadas.
- É mais viável, do ponto de vista técnico, processar o guaraná *in natura*, sem a prática da fermentação.
- O Rendimento de sementes secas em relação aos frutos (SS/F%) foi inferior para a cultivar BRS CG Maués, e as demais cultivares não apresentaram diferença entre si.
- Durante o processo fermentativo, a única cultivar que apresentou temperatura mais baixa foi a Mundurucânia.
- O estágio de maturação **E1** foi o que revelou maior teor de cafeína das sementes.
- É recomendável realizar uma análise econômica para complementar os estudos da viabilidade de se fermentar o guaraná antes do seu processamento.

REFERÊNCIAS

ANTONIO, I. C. **Boletim agrometeorológico 1998**: Estação Agroclimatológica da Embrapa Amazônia Ocidental, no Km 29 da Rodovia AM 010. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2005. 28 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 42).

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. ZENEON, O., PASCUET, N. S., TIGLEA, P. (Coord.). São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

LOPES, M. C., SALES, P. C., FERRAZ, J. [Online]. Estoques de carbono em solos de áreas degradadas e reflorestadas com espécies nativas na Amazônia **URL: <http://www.cemac-ufla.com.br/trabalhospdf>**

NAKAMURA, K. L. et al. Genetic variation of phytochemical compounds in progenies of *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 9, n. June, p. 116–123, 2009.

PEREIRA, J. C. R. (Editor). **Cultura do guaranzeiro no Amazonas**. (4. Ed.). Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2005. 40 p. (Sistemas de produção; 2).

SANTOS, L.P. Sistema mecanizado de processamento pós-colheita de guaraná: nova tecnologia. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2014. 10 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Comunicado Técnico, 108). **URL: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1000439/1/ComTec108.pdf>** Acesso em: 15 de julho 2019.

SANTOS, L.P. Sistema mecanizado de processamento pós-colheita de guaraná: nova tecnologia para o agronegócio e a agricultura familiar. A engenharia de produção na contemporaneidade. Ponta Grossa: Atena Editora, 2018. v. 1. p. 283-293.

SANTOS, L.P., SILVA, E. de B., BRAGANÇA, S.M., RESENDE, L. Gesso agrícola associado ao calcário e produtividade de sementes secas de guaraná. **ELEMENTOS da natureza e propriedades do solo**. Ponta Grossa: Atena Editora, 2018. v. 3. p. 270-280. **URL: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/>**



Figura 4. Vista geral da instalação do experimento, com a composição dos tratamentos/ repetições, distribuição aleatória das caixas contendo as diversas cultivares, em seus distintos estágios de maturação, para submissão aos períodos de fermentação.

Crédito da Fotografia: Lucio Pereira Santos

VALORIZATION OF WASTE COFFEE HUSKS: RECOVERY OF BIOACTIVE COMPOUNDS USING A GREEN EXTRACTION METHOD

Ádina Lima de Santana

Bioprocesses Laboratory. School of Food Engineering. University of Campinas (Unicamp).
Campinas, São Paulo, Brazil.
adina.santana@gmail.com

Gabriela Alves Macedo

Bioprocesses Laboratory. School of Food Engineering. University of Campinas (Unicamp).
Campinas, São Paulo, Brazil.
macedoga@gmail.com

ABSTRACT: Coffee husks is considered a waste from the coffee processing. To the best of our knowledge, researches on the valorization of coffee husks with the use of environmentally-friendly methods is scarce. In this work, cold hydroalcoholic extraction of coffee husks was applied to recover possible bioactive compounds, based on the possibility to provide novel products with added-value, with the use of a low cost processing. Extractions with 50-65% ethanol were able to raise the maximum content of the phenolic catechin (23.09-28.39g/100g ext.) and alkaloid caffeine (6.99-7.41g/100g ext.), associated with the highest levels of total phenolic content (3.14-3.18 gallic acid equivalent/ 100g ext.), the condensed tannins (1.05-1.25 g catechin equivalent/100g ext.), the reducing (2.65-2.81 g glucose equivalent/100g ext.) and total sugars (0.56-0.59 g sucrose/100g

ext.) and antioxidant capacities for the phosphomolybdenum, and the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assays.

KEYWORDS: Biowaste, phenolic compounds, alkaloids, natural antioxidants.

1 | INTRODUCTION

The processing of coffee starts with the removal of the mature cherry from the seeds, composed of husk and beans. The beans are dried, fermented and roasted to be subsequently commercialized. The husks are commonly discharged or used for composting.

Recent researches applied the husks as sorbents for the production of biogas (DOS SANTOS et al., 2018), thermoplastic films (COLLAZO-BIGLIARDI et al., 2018), adsorbent (HERNANDEZ RODRIGUEZ et al., 2018), and substrate for the production of cellulase by solid state fermentation (CATALÁN et al., 2019)

The scientific literature on the recovery of bioactive compounds from coffee husks is scarce. For instance, (RIBEIRO et al., 2019) evaluated the effects of ultrasound and type of solvent on the total phenolic content and antioxidant capacity of the extracts and (AL-YOUSEF e AMINA, 2018) quantified the aromatic compounds from the essential oil

extracted with a glass-Clevenger apparatus.

The probable composition of coffee husks in terms of methylxanthines and aromatic compounds may induce potential applications in food products, similarly to other plant materials. Recently, ginger waste fractions (ŠVARC-GAJIĆ et al., 2017) and the chicory roots have been showed as potential coffee replacers (WU e CADWALLADER, 2019).

In this work a low cost extraction of coffee husks based on conventional cold hydroethanolic extraction was done to detect possible bioactive compounds that contribute to the valorization of this waste fraction to attribute uses as functional food.

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 Raw material and reagents

Coffee husks were donated from a local farm (Campinas, Brazil). The raw material was milled using a commercial blender (BL.2.201/202, Marchesoni, São Paulo, Brazil) and sieved (25 µm screen, W.S. Tyler, Wheeling, EUA).

Ethanol (99% pure) was obtained from Êxodo Científica (Sumaré, Brazil), while Folin-Ciocalteu, 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS), were purchased from Dinâmica (Indaiatuba, Brazil). Methanol, hydrochloric acid, sulphuric acid, formic acid, anhydrous monobasic sodium phosphate, ammonium molybdate were purchased from Synth (Diadema, Brazil). Trolox, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), vanillin, L-ascorbic acid, gallic acid, caffeine, theobromine, (+)(-) catechin (99%), (-) epicatechin (≥97%), and (-) epicatechin gallate (≥98%) were obtained from Sigma-Aldrich (Darmstadt, Germany) and theophylline (97.50%) was obtained from Abbott (São Paulo, Brazil).

2.2 Experimental

The hydroalcoholic solutions were prepared in polyethylene tubes using five solvent formulations with varied ratios of ethanol:water (weight/weight), i.e., 100:0, 80:20, 65:35, 50:50 and 0:100. The cold maceration assays were carried out using a seed:solvent ratio of 1:3 (weight/weight) with subsequent vortex agitation (Fanem, Model 251, São Paulo, Brazil) of the tubes for 1 min. Afterwards, the samples were stored immobilized in the dark at 25°C for 24 h. On the next day, the samples were centrifuged (Heraeus, Megafuge 16 R, Thermo Scientific, Massachusetts, USA) at 2500 rpm and 25°C for 10 min. The supernatant (extract) was separated from the solid fraction and subsequently kept frozen (-4°C) prior to analysis.

2.3 Global yield

Global yield, or the total extractable material (Eq.1), consisted on the mass of

dried extract obtained by the removal of solvent.

$$X_0 = \left(\frac{m_{EXT}}{F_0} \right) \times 100 \quad (1)$$

Where X_0 is the global yield (g dried extract/100g raw coffee husks), m_{EXT} is the mass of dried extract obtained (g) and F_0 is the mass of raw material (g) used in the extractions.

2.4 Composition of extracts

2.4.1 Condensed tannins (CT)

The condensed tannins (CT) were determined mixing the diluted extracts with the vanillin (1:5, v/v) (PRICE et al., 1978). The calibration curve was plotted using catechin standard with concentration range between 0.1 and 5 mg/mL ($R^2=0.99$). The results were expressed as g catechin equivalent/100g extract.

2.4.2 Total phenolic content (TPC assay)

Total phenolic content (TPC) was determined with the Folin–Ciocalteu reagent (SINGLETON e ROSSI, 1965). A calibration curve using gallic acid was plotted in a concentration range of 16 – 700 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The results were expressed as g of gallic acid equivalent (GAE)/ 100g extract.

2.4.3 Antioxidant capacity: Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)

2.4.3.1 ABTS^{•+} assay

The Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) was evaluated using the ABTS^{•+} free radical (OKI et al., 2006). The ABTS^{•+} solution was initially prepared by mixing 88 μL of 140 mM of aqueous sodium persulfate solution with 5 mL of 7 mM of aqueous solution of ABTS, which was stored in the dark at 25°C for 12-16 h and subsequently diluted 16 times in ethanol 100% for analysis.

The reaction consisted by mixing 20 μL of diluted extracts in 980 μL of diluted ABTS^{•+}. After 10 minutes of reaction 200 μL aliquots in triplicate were evaluated at 636 nm. The calibration curve using synthetic antioxidant Trolox was plotted (10 -2000 μM). Results were expressed in terms of μM TEAC per g of extract.

2.4.3.2 DPPH[•] assay

The of the extracts to scavenge the DPPH[•] free radical was evaluated by the

reaction between the 100 μL aliquot of extract (diluted in methanol 70%) and 1 mL of DPPH solution (5 mg of DPPH diluted in 50 mL methanol 100%) for 30 min and detection at with absorbance filters for the wavelength of 515 nm. The results were calculated using the linear regression equation from plotting the concentrations of Trolox (15 - 300 $\mu\text{mol/mL}$, $R^2 = 0.94$). The results were expressed as g Trolox equivalent/g extract (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

2.4.3.3 FRAP assay

The ferric reducing ability of plasma (FRAP) assay was conducted using the procedure described by BENZIE e STRAIN (1996). The FRAP reagent was prepared by mixing 25 mL 0.3 M acetate buffer (pH 3.6) with 2.5 mL TPTZ (0.01 M) and 2.5 mL $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.02 M) solutions. A calibration curve using Trolox (15-1500 $\mu\text{mol/mL}$, $R^2 = 0.99$) was obtained, and the results were expressed as gTrolox equivalent/g extract.

2.4.4 Antioxidant capacity: Phosphomolybdenum (P-Mo) complex assay

The diluted extract were mixed P-Mo complex reagent at the 1:10 (v/v) ratio. The mixture was incubated at 95 °C for 60 min and immediately subjected to an ice bath to stop the reaction (PRIETO et al., 1999).

The ascorbic acid calibration curve (100 – 2100 mM/mL ; $R^2=0.98$) was plotted and results were expressed in terms of g Ascorbic Acid Equivalent per g of extract.

2.4.5 Total (TS) and Reducing sugars (RS)

The total (TS) and reducing sugars (RS) were determined using the DNS reagent (MILLER (1959). The calibration curve was plotted using glucose standard in the concentrations ranging between 0.1 and 1 mg glucose/mL ($R^2=0.99$) and 0.5-6 mg hydrolyzed sucrose/mL ($R^2=0.99$) and results were expressed as g sucrose/100g extract (total sugars) and g glucose/100g extract (reducing sugars).

2.4.6 Determination of catechins and methylxanthines

High-performance liquid chromatography coupled with diode array detector (HPLC-DAD) was used to detect methylxanthines (caffeine, theobromine and theophylline) and catechins (catechin, epicatechin and epicatechin gallate) in guarana extracts according to procedures determined previously (SANTANA e MACEDO, 2019). All analytical procedures were performed in triplicate and results were expressed in wet basis.

2.5 Statistical evaluation

The results were expressed as the mean \pm standard deviation. All measurements were performed in triplicate and evaluated using the analysis of variance (Tukey test, $p \leq 0.05$), with Statistica 8 software.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

Highest extraction yield was found in the extracts obtained with ethanol 50% (Fig.2D), which was correlated with the total phenolic content (TPC) and condensed tannins (CT), results. The highest proportions of total (TS) and reducing sugars (RS), were attributed to the 65% hydroethanolic extract (Table 1). The TPC (2.33-3.28 gGAE/100g extract or 0.78-1.09 gGAE/100g coffee husks, Table 1) values are in accordance with those obtained to cold hydroalcoholic extraction of crude guarana seeds (SANTANA e MACEDO, 2019).

The addition of water in ethanolic solutions has been associated with increased selectivity to extract phenolic compounds because of enhanced polarity of solvent, similarly to the recovery of phenolic compounds from orange peel (BARRALES et al., 2018) and propolis (SUN et al., 2015).

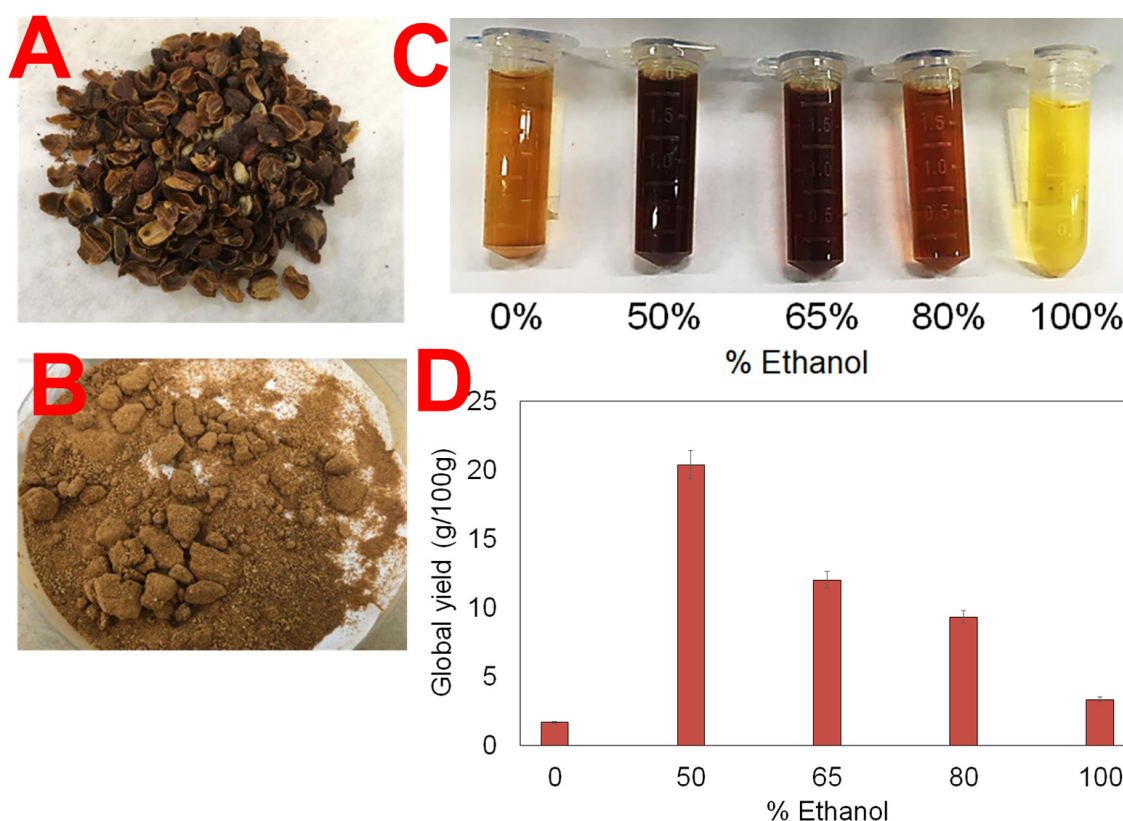


Figure 1. Whole (A) and milled (B) coffee husks, extracts (C) and global yield (D).

% Ethanol	TPC	CT	RS	TS
	gGAE/100g ext	g cat eq/100g	g gluc/100g ext	g sucrr/100g ext
0	2.51±1.27 ^a	0.50±0.06 ^a	0.03±0 ^a	0.21±0 ^a
50	3.28±1.77 ^b	1.25±0.04 ^b	2.65±0.15 ^b	0.56±0.03 ^b
65	3.14±7.08 ^b	1.05±0.03 ^b	2.81±0.22 ^b	0.59±0.05 ^b
80	2.64±1.96 ^c	1.21±0.04 ^b	1.96±0.13 ^c	0.41±0.03 ^c
100	2.33±8.07 ^c	0.63±0.12 ^a	1.17±0.05 ^d	0.24±0.01 ^a

Table 1. The chemical composition of coffee husks extracts.

Mean ± standard deviation of determinations. Different letters in the same column indicate significant difference related to the effects of process parameters.

TPC – Total phenolic content, CT – condensed tannins, RS – reducing sugars, TS – total sugars

The values of TPC detected (2.33-3.28 gGAE/100g ext, Table 1) were higher than those detected aqueous extracts of coffee husks (NEVES et al., 2019), and comparable or even lower than those obtained by hydroalcoholic extraction of coffee husks assisted with ultrasound, probably because of the highest exposure to acoustic cavitations that maximized the extraction of target compounds (RIBEIRO et al., 2019). On the other hand, the antioxidant capacity of extracts considering the DPPH assay (0.43-3.48×10³ gTrolox eq/g extract or 0.14-1.16×10³ gTrolox eq/g coffee husks – Table 2) were higher than the previous mentioned work, and the values detected by the FRAP assay were comparable. High ultrasonic frequencies induce the degradation of antioxidants, because of excessive temperature induced by high energy density (MEDINA-TORRES et al., 2017).

% Ethanol	P-Mo	FRAP	DPPH	ABTS
	g Asc.Acid eq/g ext		gTrolox eq/g ext	
0	502.33±11.06 ^a	13.90±0.05 ^a	1.73×10 ³ ±8.77×10 ^{3a}	1.26±34.50 ^a
50	2692.37±21.23 ^b	54.94±0.02 ^b	3.48×10 ³ ±0.64×10 ^{3b}	2.88±11.28 ^b
65	2704.03±57.21 ^c	46.87±0.06 ^c	3.19×10 ³ ±0.74×10 ^{3b}	4.33±4.66 ^c
80	670.11±3.11 ^d	37.16±0.01 ^d	0.43×10 ³ ±1.69×10 ^{3c}	3.12±71.47 ^d
100	426.81±4.45 ^e	16.47±0.03 ^e	3.03×10 ³ ±4.18×10 ^{3b}	0.98±38.31 ^e

Table 2. The antioxidant capacity of coffee husks extracts.

Mean ± standard deviation of determinations. Different letters in the same column indicate significant difference related to the effects of process parameters.

The condensed tannins (0.5-1.21 g catechin eq./100g extract or 0.16-0.40 g catechin eq./100g coffee husks – Table 1) detected in this work were next to those detected in the hydromethanolic extracts of leaves and flowers of *Erodium glaucophyllum* (BAKARI et al., 2018).

The highest proportion of these substances was attributed to the 50% hydroethanolic solution, similarly to those reported in literature for guarana (SANTANA

e MACEDO, 2019) and *F. benghalensis* Linn. (BHANWASE e ALAGAWADI, 2016). Unidentified small peaks were found in the chromatograms of the hydroethanolic extracts composed of 50, 65, 80% and 100% ethanol (Figure 2. B, C D and E).

For the catechins and methylxanthines, only catechin, caffeine and theophylline were detected in relevant content (Figure 2, Table 3). The epicatechin, epicatechin gallate, and theobromine were detected as traces, under the limit detection from the method and equipment used.

The behavior of antioxidant capacity was similar to the target compounds detected considering the highest proportions attributed to the extracts with 50% and 65% ethanol. However, considering the ABTS and P-Mo assay, the extracts with 65% ethanol showed highest antioxidant capacity than the 50% ethanol (Table 3).

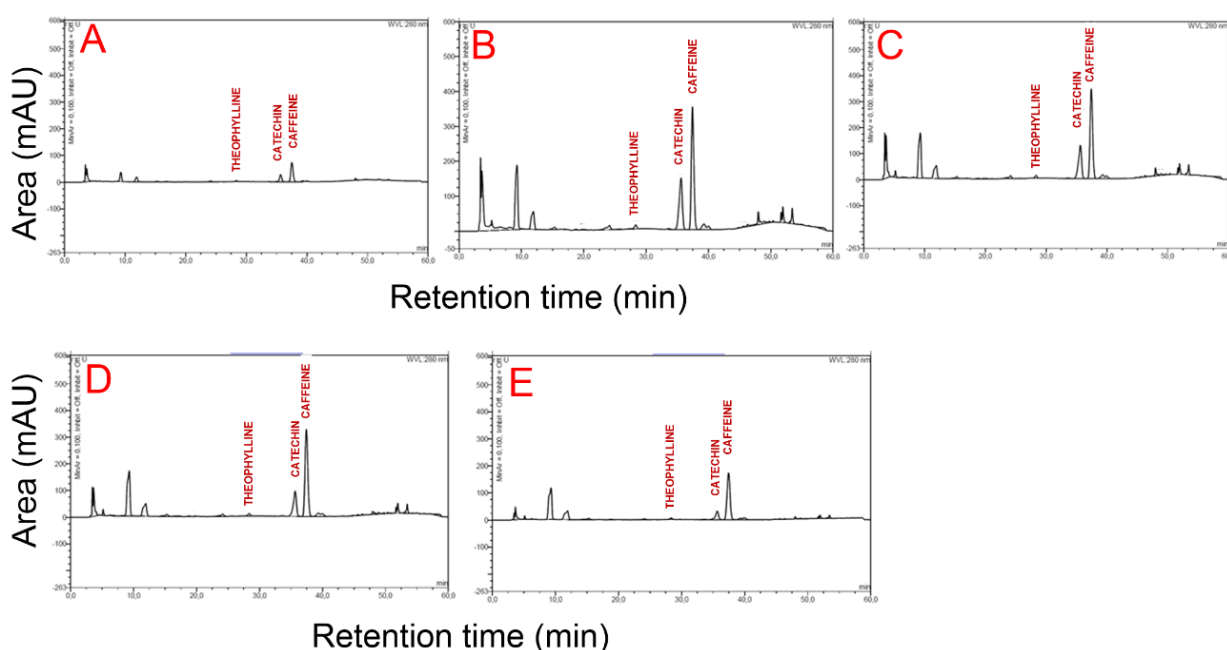


Figure 2. Chromatograms of coffee husks extracts obtained with cold hydroethanolic extraction with ethanol concentrations of: 0% (A), 50% (B), 65% (C), 80% (D) and 100% (E).

% Ethanol	CAT	CAF	TPh
0	3.48±0.01 ^a	1.29±0 ^a	0.84±0 ^a
50	28.39±0.36 ^b	7.41±0.08 ^b	1.42±0.07 ^b
65	23.09±0.05 ^c	6.99±0.01 ^c	1.31±0.07 ^c
80	16.13±0 ^d	6.91±0 ^c	1.21±0 ^d
100	5.19±0.04 ^e	3.85±0.02 ^d	1.00±0.01 ^e

Table 3. The catechin and methylxanthines (g/100g extract) detected in coffee husks extracts.

Mean ± standard deviation of determinations. Different letters in the same column indicate significant difference related to the effects of process parameters ($p \leq 0.05$).

CAT – catechin, CAF – caffeine, TPh – theophylline.

CONCLUSIONS

A simple, low cost and environmentally-friendly process was able to obtain extracts with an attractive composition in terms of polyphenols, sugars and alkaloids. Coffee husks could be reused as a low cost ingredient for industry applications, reducing the plant waste emission. Our results support further studies on the impact of coffee husks in health and food products.

REFERENCES

- AL-YOUSEF, H. M. ; AMINA, M. Essential oil of Coffee arabica L. Husks: A brilliant source of antimicrobial and antioxidant Agents. v., n., 2018.
- BAKARI, S.; HAJLAOUI, H.; DAOUD, A.; MIGHRI, H.; ROSS-GARCIA, J. M.; GHARSALLAH, N. ; KADRI, A. Phytochemicals, antioxidant and antimicrobial potentials and LC-MS analysis of hydroalcoholic extracts of leaves and flowers of *Erodium glaucophyllum* collected from Tunisian Sahara. **Food Science and Technology**, v. 38, n. p. 310-317, 2018.
- BARRALES, F. M.; SILVEIRA, P.; BARBOSA, P. D. P. M.; RUVIARO, A. R.; PAULINO, B. N.; PASTORE, G. M.; MACEDO, G. A. ; MARTINEZ, J. Recovery of phenolic compounds from citrus by-products using pressurized liquids — An application to orange peel. **Food and Bioproducts Processing**, v. 112, n. p. 9-21, 2018.
- BENZIE, I. F. F. ; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytic Biochem**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
- BHANWASE, A. S. ; ALAGAWADI, K. R. Antioxidant and Immunomodulatory Activity of Hydroalcoholic Extract and its Fractions of Leaves of *Ficus benghalensis* Linn. **Pharmacognosy research**, v. 8, n. 1, p. 50-55, 2016.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, A. E. ; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Sci Tech**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- CATALÁN, E.; KOMILIS, D. ; SÁNCHEZ, A. Environmental impact of cellulase production from coffee husks by solid-state fermentation: A life-cycle assessment. **Journal of Cleaner Production**, v., n., 2019.
- COLLAZO-BIGLIARDI, S.; ORTEGA-TORO, R. ; CHIRALT BOIX, A. Reinforcement of thermoplastic starch films with cellulose fibres obtained from rice and coffee husks. **Journal of Renewable Materials**, v. 6, n. 6, p. 599-610, 2018.
- DOS SANTOS, L. C.; ADARME, O. F. H.; BAËTA, B. E. L.; GURGEL, L. V. A. ; DE AQUINO, S. F. Production of biogas (methane and hydrogen) from anaerobic digestion of hemicellulosic hydrolysate generated in the oxidative pretreatment of coffee husks. **Bioresource technology**, v. 263, n. p. 601-612, 2018.
- HERNANDEZ RODRIGUEZ, M.; YPERMAN, J.; CARLEER, R.; MAGGEN, J.; VANDERHEYDEN, S.; FALCON HERNANDEZ, J.; OTERO CALVIS, A. ; GRYGLEWICZ, G. Evaluation of activation parameters of activated carbon from coffee and cocoa seed husk rests: carbon yields and Ni (II) adsorption capacity study. v., n., 2018.
- MEDINA-TORRES, N.; AYORA-TALAVERA, T.; ESPINOSA-ANDREWS, H.; SÁNCHEZ-CONTRERAS, A. ; PACHECO, N. Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. **Agronomy**, v. 7, n. 3, p. 47, 2017.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Anal. Chem.**, v. 31, n. p. 426-428, 1959.

NEVES, J. V. G. D.; BORGES, M. V.; SILVA, D. D. M.; LEITE, C. X. D. S.; SANTOS, M. R. C.; LANNES, S. C. D. S. ; SILVA, M. V. D. Total phenolic content and primary antioxidant capacity of aqueous extracts of coffee husk: chemical evaluation and beverage development. **Food Science and Technology**, v. 39, n. p. 348-353, 2019.

OKI, T.; NAGAI, S.; YOSHINAGA, M.; NISHIBA, Y. ; SUDA, I. **Contribution of beta carotene to radical scavenging capacity varies among orange-fleshed sweet potato cultivars**, 2006.

PRICE, M. L.; VAN SCOYOC, S. ; BUTLER, L. G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 26, n. 5, p. 1214-1218, 1978.

PRIETO, P.; PINEDA, M. ; AGUILAR, M. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. **Analytical Biochemistry**, v. 269, n. 2, p. 337-341, 1999.

RIBEIRO, E. F.; LUZIA, D. M. M. ; JORGE, N. Antioxidant compounds extraction from coffee husks: the influence of solvent type and ultrasound exposure time. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 41, n. p. e36451, 2019.

SANTANA, Á. L. ; MACEDO, G. A. Effects of hydroalcoholic and enzyme-assisted extraction processes on the recovery of catechins and methylxanthines from crude and waste seeds of guarana (*Paullinia cupana*). **Food Chem**, v. 281, n. p. 222-230, 2019.

SINGLETON, V. L. ; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. **Am J Enol Vitic**, v. 16, n. p. 144-158, 1965.

SUN, C.; WU, Z.; WANG, Z. ; ZHANG, H. Effect of Ethanol/Water Solvents on Phenolic Profiles and Antioxidant Properties of Beijing Propolis Extracts. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, n. p. 9, 2015.

ŠVARC-GAJIĆ, J.; CVETANOVIĆ, A.; SEGURA-CARRETERO, A.; MAŠKOVIĆ, P. ; JAKŠIĆ, A. Functional coffee substitute prepared from ginger by subcritical water. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, n. p. 32-38, 2017.

WU, T. ; CADWALLADER, K. R. Identification of Characterizing Aroma Components of Roasted Chicory “Coffee” Brews. **Journal of agricultural and food chemistry**, v., n., 2019.

VIABILIDADE DE *BACILLUS CLAUSII*, *BACILLUS SUBTILIS* E *BACILLUS SUBTILIS* VAR NATTO EM NÉCTAR E POLPA DE CAJU

Adriana Lucia da Costa Souza

Universidade Federal de Sergipe, Departamento
de Nutrição
Lagarto - Sergipe

Luciana Pereira Lobato

Universidade Federal de Sergipe, Departamento
de Farmácia
Lagarto - Sergipe

Rafael Ciro Marques Cavalcante

Universidade Federal de Sergipe, Departamento
de Farmácia
Lagarto - Sergipe

Roberto Rodrigues de Souza

Universidade Federal de Sergipe, Departamento
de Engenharia Química
São Cristóvão - Sergipe

RESUMO: Este estudo teve como objetivo verificar a viabilidade do gênero *Bacillus* como microrganismo probiótico em néctar e polpa de caju. Foram avaliadas as cepas de *Bacillus clausii*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus subtilis* var natto em néctares e polpas de caju comerciais ao longo de 60 dias em conservação refrigerada à 4°C para os néctares e -12°C para as polpas. Além disso foram avaliados esses mesmos produtos numa conservação de atmosfera acelerada de 24°C para néctares e 4°C para as polpas. Os resultados foram expressos em média ± desvio padrão

da média e avaliados a significância das diferenças entre as médias através da análise de variância e teste de Tukey ao nível de 99% de confiança. Tanto na conservação normal como acelerada de néctares e polpas de caju, tiveram como resultados a efetiva viabilidade dos microrganismos probióticos. Os resultados foram em média de 10⁹, 10¹⁰ e 10¹⁰UFC/mL para *Bacillus clausii*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus subtilis* var natto, respectivamente. Assim, comprovou-se que os néctares e polpas de caju são substratos viáveis para microrganismos probióticos.

PALAVRAS-CHAVE: viabilidade; probióticos; não-lácteos; caju.

VIABILITY OF *BACILLUS CLAUSII*, *BACILLUS SUBTILIS* AND *BACILLUS SUBTILIS* VAR NATTO IN CASHEW NECTAR AND PULP

ABSTRACT: This study aimed to verify the viability of genus *Bacillus* as probiotic microorganisms in cashew nectar and pulp. Strains of *Bacillus clausii*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus subtilis* var natto were evaluated in commercial cashew nectar and pulp along 60 days in refrigerate conservation at 4°C for nectars and -12°C for pulps. Besides, the same products were evaluated in conservation of accelerated atmosphere of 24°C for nectars

and 4°C for pulps. Results were expressed in mean, mean \pm standard deviation of the mean and evaluated the significances of differences between means by variance analysis and Tukey's test at a level of 99% of confidence. Both in normal as well as in accelerated conservation of cashew nectar and pulps had as results the effective viability of the probiotic microorganisms. Results were in average 10^9 , 10^{10} and 10^{10} CFU/mL for *Bacillus clausii*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus subtilis* var natto, respectively. Therefore, it was proved that cashew nectar and pulps are viable substrates for probiotic microorganisms.

KEYWORDS: viability; probiotic; non-dairy; cashew.

1 | INTRODUCTION

Functional food has potential to promote health by means of mechanisms not previewed by conventional nutrition (SANDERS, 1998), being important to highlight that this effect is restricted to promoting health and prevention of diseases, not to heal them. Thus, there is interest in developing functional food and beverages in order to improve health and the well being of consumers, mainly the one that creates a beneficial effect to the intestine, which dominates the market of functional food (LUCKOW et al, 2004).

This market niche has been representing a high growth in the last years, reflecting the concern and interest of consumers in taking food that bring benefits to health. Among the functional food, highlight the ones having probiotic cultures, those being internationally defined as living microorganisms that, when administered in proper amounts, bring benefits to the health of the host (SHEEHAN; ROSS; FITZGERALD, 2007; FAO/WHO, 2002). In this context, the intake of sources of probiotic microorganisms is growing as a global trend (RAIZEL et al., 2011).

Among the factors influencing the viability of probiotic bacteria in the elaborated product, must be highlighted genus, species and strains of the microorganism; the formulation and composition of the food (acidity, content of usable carbohydrates; nitrogen sources, mineral content and water activity) to which they were added; the physical condition of storing (time and temperature), and possible interactions of probiotics (bacteriocins, antagonism, synergism) (DEL PIANO et al., 2006).

Probiotic cultures have been added, mainly, to yogurts and to other fermented milk products. The introduction of those microorganism in non-dairy products would allow its consumption by lactose intolerant, allergic to milk proteins, hypercholesterolemic people who refuse to ingest dairy products due to particular reasons, such as vegetarian people or when those products are not reachable (RIVERA-ESPINOZA AND GALLARDO-NAVARRO, 2010).

According to Sheehan, Ross and Fitzgerald (2007), fruit juices may represent an ideal vehicle of probiotic cultures to consumers, since they are not regularly consumed, this being an essential factor for the probiotics to exercise their functions. Luckow

et al (2006) comment that juice fruits have been suggested as a proper mean for adding probiotic cultures, since they are considered as healthy food products and are consumed by a large parcel of the population, besides not containing starter cultures which compete by substrates with the probiotics; they are usually supplemented with ingredients that promote anaerobic, such as ascorbic acid; and have sugars fermentable by the probiotics.

According to Fernandes et al. (2009) and the Brazilian Fruits Institute (IBRAF, 2015), the production of juice fruits in the scene of the national and international agribusiness is seen as one of the most promising activities of the food sector, being Brazil considered as one of the greatest world producers of tropical fruits.

In the northeast region of Brazil there is a great cashew fruit farming, which normally is consumed as fresh or processed fruits (ARAÚJO, SILVA, MOREIRA, NARAIN and SOUZA, 2011). From its pseudo fruit different products and sub products can be obtained such as integral juice, reconstituted juice, tropical juice, pulp, among others (MATTA et al., 2010).

Considering the relevance of functional food in human health, the benefits caused by ingesting probiotic microorganisms and the fact that sources of probiotic food are still very limited to dairy products, it is essential that new probiotic food products are researched, in order not only to widen the market of those products, but also to have an option to the ones that cannot or do not enjoy the consume of dairy products. Considering this, the present study had the objective of evaluating the viability of *Bacillus clausii*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus subtilis* var *natto* in cashew nectar and pulp.

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 Material

Samples

Nectars (50% of pulp) and pulp (pasteurized) of fruits used in analyzes were obtained from donation of companies acting in this sector, seated in the state of Sergipe. All samples were stored complying with the adequate temperatures of conservation and hygienic-sanitary conditions (FELLOWS, 2006).

Microrganisms

Vegetative cells of *Lactobacillus casei* were obtained in the form of flakes (Christian Hansen®).

Spores of *Bacillus clausii* (*B. clausii*) were commercially bought in drugstore in the form of little bottles (Enterogermina®), containing according to information from the manufacturer 10⁹CFU of spores of the microorganism by bottle unity (5mL).

Bacillus subtilis (*B. clausii*) was obtained from strains cultivated in laboratory. *Bacillus subtilis* var. natto was isolated from natto (japanese fermented food) marketed in the “Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP)” in São Paulo-Brazil.

2.2 Activation, inoculation and analysis of viability of *Lactobacillus casei* and *Bacillus subtilis*

The *Lactobacillus* were activated in soup MRS (From Man, Rogosa and Sharpe) during 12 hours at 37°C, statically. While the vegetative cells of *Bacillus subtilis* were activated in medium BHI (Brain Heart Infusion) during 24hs at 37°C in incubator under stirring of 200 rotations per minute (rpm), described by Pereira et al. (2011). The initial counting of the microorganisms was made using the technique of pour plate for *L.casei* and plate spread for *B. subtilis*. After this initial counting, inoculations in concentration of 10⁶CFU/mL of probiotic microorganisms were made in cashew nectars and pulp, packed at temperature of 4°C (nectars) and -12°C (pulp).

For analysis of viability serial dilutions until 10⁻³ were executed and aliquots of 100µL taken, adding them in plates with medium MRS for *L. Casei* and MH (Muller Hilton) for *Bacillus subtilis*. After this procedure, plates were incubated in greenhouse at temperature of 37°C during 24h, for counting the unities forming colonies, made manually.

2.3 Bacterial sporulation of *B. subtilis* and *Bacillus subtilis* var natto

First, was executed the *Bacillus* activation in medium BHI during 24h at 37°C in incubator under stirring of 200rpm.

The bacterial sporulation of probiotic cultures were made in growth medium as described by Tavares et al. (2013), in F medium, composed by 1% of glucoses, 0.1% of L-glutamate de diethyl, 0.05% of yeast extract, 0.5% of KH₂PO₄, 0.1% of (NH₄)₃PO₄, 0.02% of MgSO₄, 0.01% of NaCl, 0.005% CaCl₂, 0.0007% MnSO₄, 0.001% of ZnSO₄, and 0.001% FeSO₄.

Reagents were dissolved in 1L of distilled water sterile and submitted to sterilization in autoclave model AV AV (Phoenix Luferto®). The culture of *B. Subtilis* was added to F medium and kept in orbital stirrer brand Superohm for 7 days. Posteriorly, the isolation of spores was executed.

The same procedure was made for *Bacillus subtilis* var natto.

2.4 Isolation of spores of *B. Subtilis* and *B.subtilis* var. natto

For isolation of *B. subtilis*, and *B. subtilis* var. natto, the cultures of microorganisms were centrifuged at a speed of 10,000rpm for 10 minutes (centrifuge Megafuge 16R of Datamed) as described by Nicholson and Setlow (1990) and adapted. The supernatant was discharged after centrifugation for obtaining the pellet. The pellet was

resuspended in 25mL of sterile distilled water, being submitted to new centrifugation under the same previous conditions and discharged the supernatant. This stage was repeated 6 times in order to get a cultivation of spores, free from vegetative cells, which were stored under freezing temperature of -12°C.

2.5 Inoculation of spores of *Bacillus* in nectar and cashew pulp

Packages of cashew nectar containing 200mL and cashew pulp containing 100mL, were sanitized with alcohol at 70% and opened with sterilized scissors. The samples of cashew nectars and pulp were distributed (in duplicate) in glass flasks, type Shott, previously sterile. In each flask containing 200mL of cashew nectar were added 200 μ L of each inoculum (*B. clausii* with initial spore counting of 10⁹CFU/mL and *B. subtilis* and *B. subtilis* var natto with initial spore counting of 10¹⁰CFU/mL). And in each flask containing 100mL of cashew pulp, were added 100 μ L of each inoculum.

The samples of cashew nectars were conserved at refrigeration temperature at 4°C, while cashew pulps were conserved at conservation temperature of -12°C in the first stage. In the second stage, the samples of cashew nectars were conserved in accelerated atmosphere at environmental temperature of 24°C, while cashew pulps were conserved at accelerated refrigeration temperature at 4°C.

2.6 Viability analysis of *B. clausii*, *B. subtilis* and *B. subtilis* var natto

Serial dilutions of cashew nectars and pulps containing microorganisms were executed in saline solution at 0.9% until obtaining the dilution of 10⁻⁴ for *B. Clausii* (initial counting of 10⁹CFU/mL) and 10⁻⁵ for *B. subitillis* e *B. subtilis* var. natto (initial counting of 10¹⁰ CFU/mL). It was used aliquot of 0.2mL of sample in test tubes with 2mL of saline solution.

Posteriorly were made platings in triplicate for each sample, in different periods of storage along 60 days. The plates with culture medium Muller Hilton (MH), received aliquots of 50 μ l of the nectar or pulp diluted and it was spread in the plate (technique of spreading in plate) with handle Drigalski until the culture medium absorbed the whole content. After this procedure, plates were incubated in oven at temperature of 31°C for 24 hours, for manually counting the unities forming colonies.

For analyzing the conformity of Colony Forming Unities in the products, the Brazilian legislation was used as parameter, fermented dairy probiotics must have a minimum of 10⁸ to 10⁹ CFU by portion of product (BRAZIL, 1999; BRAZIL, 2002; BRAZIL, 2008).

2.7 Statistical Analysis

Results were analyzed with the statistics program GRAPHPAD PRISM 5 Software and were expressed in mean \pm standard deviation of the mean. In order

to evaluate the significance of the differences between the means were used the variance analysis (ANOVA) and Tukey's test at a level of 99% of reliability.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

First, tests were made with probiotic bacteria as vegetative cells. Two species were studied: *Lactobacillus casei* and *Bacillus subtilis*. The microorganisms analyzed did not have viability in both products of the study (cashew nectar and pulp). The strains of *L. Casei* did not survive 24 hours in the products, while *B. subtilis* survived to 72 hours in the samples of cashew nectar, while in cashew pulp the survival was 48 hours. The concentration of *B. subtilis* found both in the cashew nectar as well as in cashew pulp was not enough to give to those products' functional properties from the added probiotics, as can be observed in Figure 1.

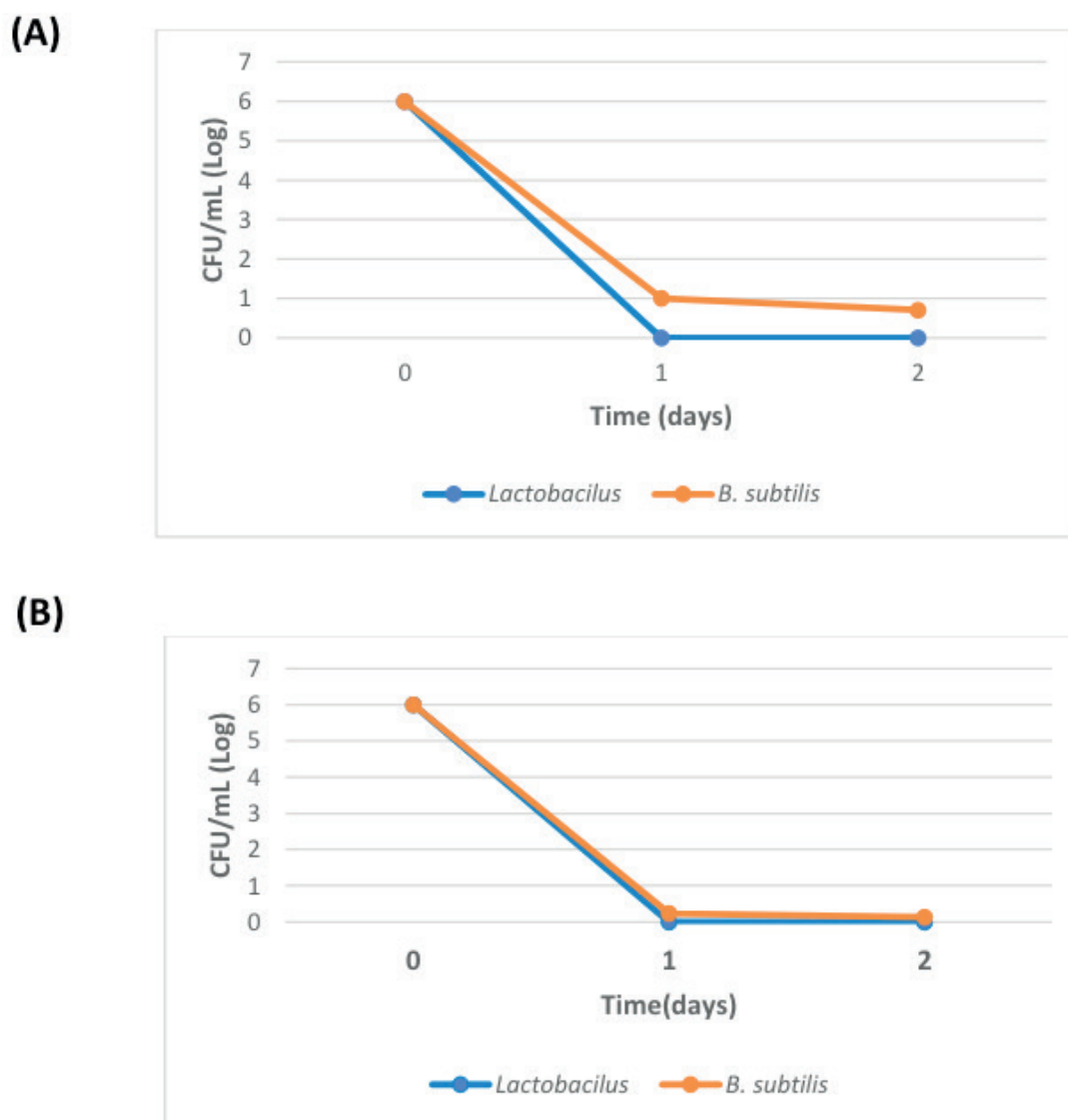


Figure 1. Viability (CFU/mL) of vegetative cells of *L. casei* and *B. subtilis* inoculated with cashew nectar (A) and cashew pulp (B).

It is possible to suppose that the inviability of vegetative cells in cashew products was due to the concentration of tannin present in products elaborated from its pseudo fruit. Tannin is known as an antioxidant and antimicrobial which may be the cause of the death of the probiotic bacteria. An alternative to increase the concentration of probiotic vegetative cells in these products would be the clarification of products, a technique that removes a part of the fibers and tannins. However, with this clarification, the products had their nutritional value decreased, and this would not be interesting for the consumers (PEREIRA et al., 2011; PIMENTEL, 2014).

Souza (2014), evaluated the viability of *Lactobacillus acidophilus* in fermented mango and grape juice, and after 6 hours of fermentation, the microorganisms were no longer feasible in the products. Anekella and Orsat (2014) used *Lactobacillus rhamisus* and *Lactobacillus acidophilus* in raspberry juices and after 30 days of storage at 4°C, the microorganisms did not have adequate feasibility to consider the juice as probiotic. Those authors corroborate this study trying to use probiotic microorganisms of genus *Lactobacillus*.

From those preliminary results and aiming to keep the nutritional characteristics of the products, not reducing their nutritional values but aggregating a functional property, tests were made with spores of genus *Bacillus*, due to the resistance that the spore shape of a microorganism has.

The counting of unities forming colonies of probiotics studied during the storage time of cashew nectars and pulps, stayed over the concentration determined by the Brazilian law.

In Figure 2 are demonstrated the graphics with the means of the counts of unities forming colonies of cashew nectars during the shelf life conserved at refrigeration temperature of 4°C and at environmental temperature of 24°C (accelerated atmosphere) along 60 days. The conservation under accelerated atmosphere allows to suppose that in normal storage conditions of the product, this may double its lifetime in shelf. With that, it is possible to infer that the period of 60 days under conservation of accelerated atmosphere corresponds to 120 days under conservation at normal conditions of the product.

The probiotic microorganisms inoculated in cashew nectars, kept the feasibility during the whole storage time, having in average concentration of 10⁹CFU/mL, without significant difference between times analyzed at 99% of reliability, for *B. clausii*; 10¹⁰CFU/mL, without significant difference between times analyzed, for *B. subtilis* cultivated in lab and between 10⁹ and 10¹⁰ UFC/mL for strains of *B. subtilis* var natto, also without significant difference between analyzed times (Figure 2).

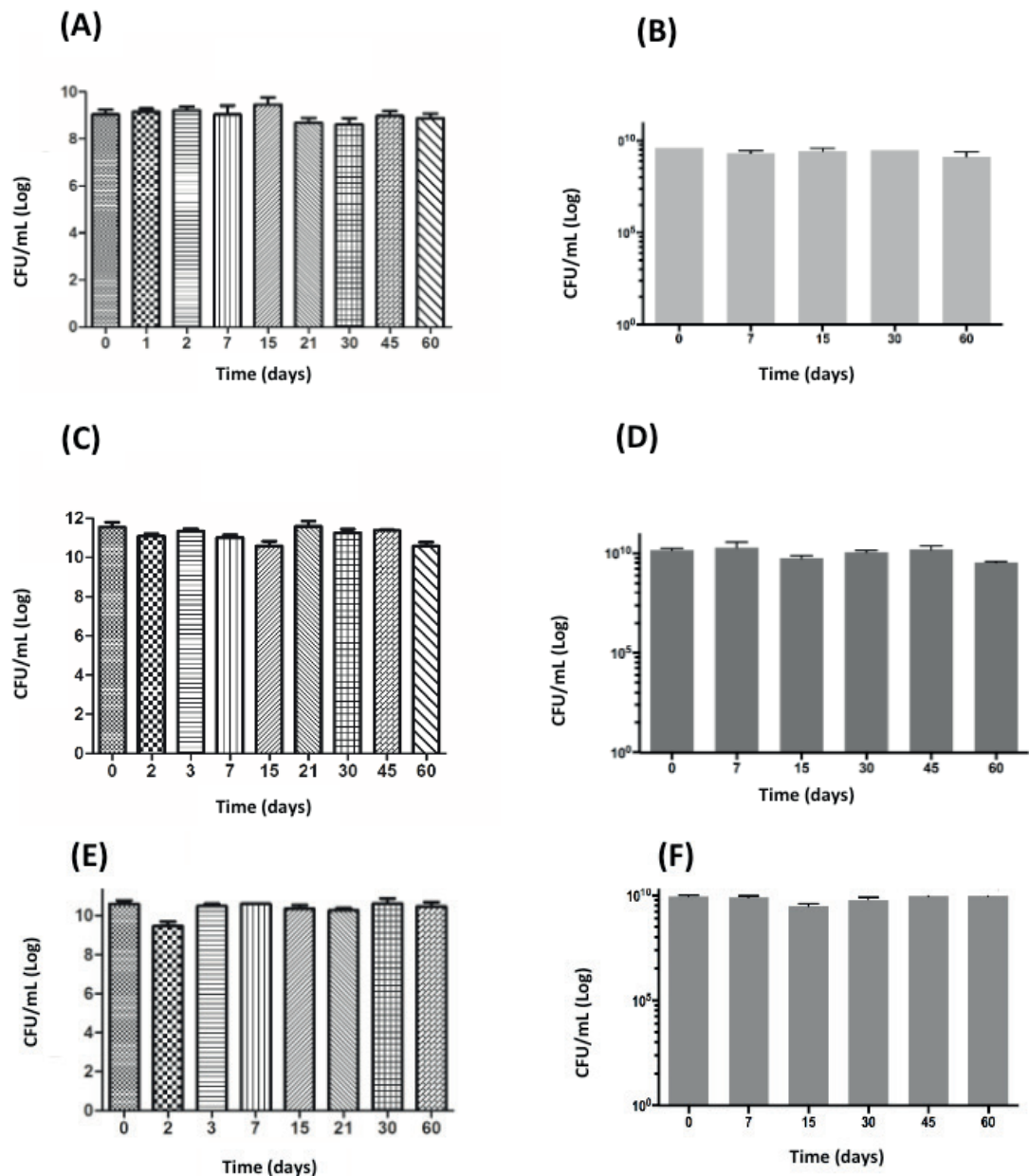


Figure 2. Viability (CFU/mL) of spores of *Bacillus* genus inoculated in cashew nectar along 60 days. (A) *B. clausii* – refrigeration temperature at 4°C; (B) *B. clausii* – environment temperature at 24°C; (C) *B. subtilis* – refrigeration temperature at 4°C; (D) *B. subtilis* – environment temperature at 24°C; (E) *B. subtilis* var natto – refrigeration temperature at 4°C; (F) *B. subtilis* var natto – environment temperature at 24°C.

B. clausii was used as control of tests in order to behave like a probiotic of the same genus already sold in market. While *B. subtilis* cultivated in lab were analyzed for standardizing analyzes with this species and the *B. subtilis* var natto that was isolated from a food, is the main probiotic when someone thinks about food products.

Pimentel et al. (2011) analyzed peach nectar using microorganism of genus *Lactobacillus* for 28 days, conserved at 4°C. It had, as a result, an average of 10^7 CFU/mL, being one value below the recommended by Brazilian legislation. While Antunes et al. (2013) evaluated nectar of acerola added with probiotic microorganism of genus *Bifidobacterium* for 30 days and stored at 5°C, finding 10^8 CFU/mL, according to the current legislation. This study found values well above the ones of unities forming colonies of probiotic microorganisms than studies found in literature about fruits

nectar (Figure 2). The greater viability of probiotic microorganism in fruit nectars than in fruit juices, is possibly related with the concentration of tannins present in those products, being of 27mg/100g and 136mg/100g, respectively (VIDAL, 2016).

In literature some studies are found using fruit as food matrix for producing probiotic beverages, most of the studies are made with fruit juices and using the genus *Lactobacillus* as probiotic microorganism with different processing techniques (BETORET et al., 2012; ALMEIDA et al., 2012; COSTA et al., 2013; ANEKETTA et al., 2014; DIMITROVSKI et al., 2015; ALVES et al., 2016; FARIAS et al., 2016).

Fermentation is one of the processing techniques more used for elaboration of probiotic beverages, having fruits as food matrix. The greater disadvantage of this technique is the production of aromas and flavors unpleasant to the consumer. Santos et al. (2008), Coelho (2009), Pereira et al. (2011), Dimitrovski (2015), Farias et al. (2016), studied probiotic fruit juices by means of fermentation made by the microorganism, finding that the viability of the microorganisms stayed during the whole shelf life. However, from sensorial tests, Coelho (2009) says that products sweetened after fermentation are more accepted by masking products resulting from fermentation.

Another very present technique is the microencapsulation allowing the protection of the microorganism regarding the acidity of the product or presence of antimicrobial substances, despite being a more expensive technique. And another alternative for improving the feasibility of probiotic microorganisms in fruit beverages is the clarification that eliminates, mainly, fibers and tannins from the original beverages.

Another option for improving the viability of the probiotic microorganism in the elaborated food is the addition of prebiotics. Maltodextrin and fructooligosaccharides (FOS) are more present in studies. Barbosa et al. (2015) and Alves et al. (2016) evaluating probiotic fruit juices, added probiotic substances for increasing the growth of vegetative cells. This work had no need of improving the cost of the elaborated product for increasing the growth of microorganism, by using microorganisms as spores.

This study did not use fermentation or any more elaborated technique for protecting the microorganism from the acidity of the product, neither removed antimicrobial substances that are naturally present in cashew, such as the tannin, being a product of lower cost for the food industry, as well as, probably, more accepted by consumers.

The values of CFU found in tests of the three strains of genus *Bacillus* proves the resistance of the spore shape of the bacteria to antimicrobial substances, as well as the acidity of the product (Figure 3). Products elaborated from the peduncle of cashew, have acidity around 0.26g of citric acid/100g for nectar and 0.94g of citric acid/100g for pulp (FIGUEIRA, PILON, DUCATTI, GASTONI e FILHO, 2015).

In Figure 3 they are expressed in mean \pm mean of the standard deviation of the triplicate, not having significant difference in any one of the samples at 99% of

confidence, during shelf life. Spores of *B. clausii* had a mean of 10^9 CFU/mL, both in the sample conserved in freezing temperature as well as in the sample kept at refrigeration temperature.

Cashew pulps used in the study, inoculated with probiotics from genus *Bacillus*, had viability during the storage of the product, in both types of conservation (frozen at temperature of -12°C and refrigerated at temperature of 4°C).

Concentration of *B. subtilis* stayed between 10^{10} CFU/mL in pulps conserved under freezing and 10^9 and 10^{10} CFU/mL in pulps conserved at refrigerated temperature, even with this reduction, it is still inside the concentration recommended by Brazilian legislation (Figure 3);

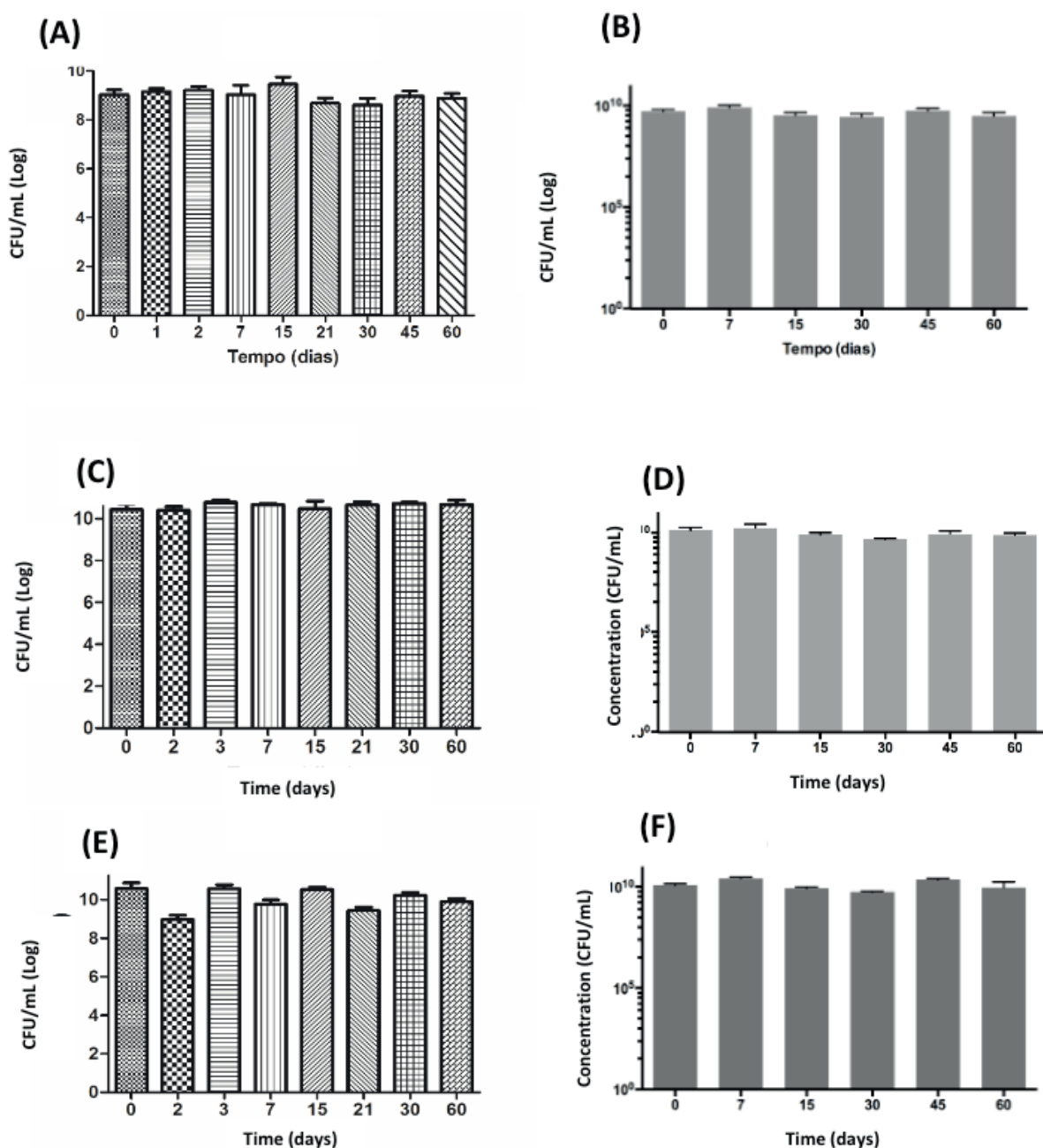


Figure 3. Viability (CFU/mL) of spores of *Bacillus* genus inoculated in cashew pulp along 60 days. (A) *B. clausii* – refrigeration temperature at -12°C ; (B) *B. clausii* – environment refrigeration temperature at 4°C ; (C) *B. subtilis* – refrigeration temperature at -12°C ; (D) *B. subtilis* – refrigeration temperature at 4°C ; (E) *B. subtilis* var natto – freezing temperature at -12°C ; (F) *B. subtilis* var natto – freezing temperature at 4°C .

Pulps inoculated with *B. subtilis* var natto conserved at freezing temperature, had an average of concentration of 10^9 and 10^{10} CFU/mL and in pulps conserved at 4°C of 10^{10} CFU/mL (Figure 3).

Comparing the feasibility of probiotic microorganisms of spores of genus *Bacillus* in cashew nectars with cashew pulps, the nectars had a greater stability and concentration of probiotics, although, the concentration of cashew pulps being also according with the current law, as mentioned previously. Probably, the greater concentration of probiotics in cashew nectars is due to their chemical composition, cashew pulp having lower pH than the nectars and more concentration of tannins. Both products did not need technological alternatives for protection of microorganisms, such as fermentation and microencapsulation, being advantageous from the economic and sensorial point of view.

The study from Pereira, Maciel and Rodrigues (2011), is the last work published during the last ten years about cashew as a food matrix for feasibility of probiotic microorganisms. After 42 days of refrigerated storage, the concentration of *Lactobacillus casei* was 10^8 CFU/mL. In this study, the elaboration of cashew nectar and pulp with spores from genus *Bacillus* obtained superior concentration along the 60 days of storage in normal conditions of those products, as well as in conservation of accelerated atmosphere supposing a viability of 120 days for those products. Thus, it is perceived the efficacy of adding spores from probiotic microorganisms instead of vegetative cells from the microorganisms.

In literature no studies were found analyzing the feasibility of probiotics in pulps of fruits, making this work a starting point for future researches about this theme and in the future the insertion of those products in the market for the consumers.

4 | CONCLUSION

The use of cashew nectar and pulp as substrates for the viability of the probiotic microorganism is a good alternative for the maintenance and feasibility of probiotics. Along the shelf life of cashew nectars and pulps, the probiotics stayed over 10^8 CFU/mL. Thus, cashew nectar and pulp with *Bacillus clausii*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus subtilis* var natto are options of food with allegations of probiotic functional properties for consumers with restriction to the ingestion of dairy and/or vegetarian products.

ACKNOWLEDGES

The authors thank CNPq (Agência Brasileira de financiamento a pesquisa) by its financial support.

REFERENCES

ALMEIDA, F. D. L. **Desidratação de Suco de Abacaxi Probiótico por Spray-Dryer**, 70p. Dissertação. 2012.

ALVES, N. N., MESSAOUD, G. BEN, DESOBRY, S., COSTA, J. M. C., RODRIGUES, S. Effect of drying technique and feed flow rate on bacterial survival and physicochemical properties of a non-dairy fermented probiotic juice powder. **Journal of Food Engineering**, 189, 45–54, 2016.

ANEKELLA, K. ., ORSAT, V. Shelf life stability of lactobacilli encapsulated in raspberry powder: Insights into non-dairy probiotics. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 65(4), 411–418,2014.

ARAÚJO, S. M., SILVA, C. F., MOREIRA, J. J. S., NARAIN, N., SOUZA, R. R. Biotechnological process for obtaining new fermented products from cashew apple fruit by *Saccharomyces cerevisiae* strains. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 38(9), 1161–1169, 2011.

BARBOSA, J., BORGES, S., TEIXEIRA, P. Influence of sub-lethal stresses on the survival of lactic acid bacteria after spray-drying in orange juice. **Food Microbiology**, 52, 77–83, 2015.

BETORET E., BETORET N., ARILLA A., et al. No invasive methodology to produce a probiotic low humid apple snack with potential effect against *Helicobacter pylori*. **Int J Food Eng.**, 110, 289-293,2012.

BRASIL . Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **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**. Brasília, 1999.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n. 2, de 7 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde**. Brasília, 2002.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. IX Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas**. Brasília, 2008.

COELHO, J.C. **Elaboração de bebidas probiótica a partir do suco de laranja fermentado com *Lactobacillus casei***. 90 p. Dissertação. 2009.

COSTA M.G.M, FONTELES T.V., DE JESUS A.L.T, RODRIGUES S. Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: Process optimisation and product stability. **Int Food Chem**, 139, 261-266, 2013.

DEL PIANO M. et al. Probiotics: from research to consumer. **Int Digestive and Liver Disease**, 38, 248-255, 2006.

DIMITROVSKI, D., VELICKOVA, E., LANGERHOLC, T., WINKELHAUSEN, E. Apple juice as a medium for fermentation by the probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS 26 strain. **Annals of Microbiology**, 65(4), 2161–2170, 2015.

FAO/WHO. **Guidelines for the evaluation of probiotics in Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report**. 2002.

FARIAS, N., SOARES, M., GOUVEIA, E. Enhancement of the viability of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 in passion fruit juice: Application of a central composite rotatable design. **LWT - Food**

Science and Technology, 71, 149–154, 2016.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Práticas**. 2ª edição, 2006.

FERNANDES A.G., SOUSA P.H.M., MAIA G.A., SILVA D.S., SANTOS S.M.L. Avaliação sensorial de bebidas de goiabas adoçadas com diferentes agentes adoçantes. **Int Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 29, 358-364, 2009.

FIGUEIRA, R., PILON, C., DUCATTI, C., GASTONI, W., FILHO, V. Caracterização química e legalidade em bebidas não alcoólicas de caju. **Revista Energia na Agricultura**, 30 (4), 437–441, 2015.

IBRAF - Instituto Brasileiro de Frutas. Agronegócio Fruticultura. **Boletim de Inteligência**, 1-5, 2015.

LUCKOW, T.; SHEEHAN, V.; DELAHUNTY, C.; FITZGERALD, G. Determining the aromatic and flavor characteristics of functional, health-promoting ingredients, and the effects of repeated exposure on consumer acceptance. **Journal of Food Science**, 70, 53-59, 2004.

LUCKOW, T., SHEEHAN, V., FITZGERALD, G., DELAHUNTY, C. Exposure, health information and flavour-masking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice. **Appetite**, 47(3), 315–323, 2006.

MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C.; COURI, S. Suco de caju. In: VENTURINI FILHO, W. G. (Coord.) **Bebidas não alcoólicas: ciencia e tecnologia**. Sao Paulo: Edgard Blucher, v. 2, cap. 13, p. 227-240, 2010.

NICHOLSON W.L., SETLOW P. Sporulation, germination and outgrowth. In: Harwood CR, Cutting SM (eds) **Molecular biological methods for Bacillus**. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, p 391–450, 1990.

PEREIRA, A. L. F., MACIEL, T. C., & RODRIGUES, S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. **Food Research International**, 44(5), 1276–1283, 2011.

PIMENTEL, T. C., PRUDENCIO, S. H., RODRIGUES, S. Néctar de pêssigo potencialmente simbiótico, **Alim. Nutr.**, v. 22, n. 3, p. 455-464, jul./set., 2011.

PIMENTEL, T.C. **Suco clarificado de maçã com *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* e oligofrutose e sacarose**, 153 p. Dissertação. 2014.

RAIZEL, R., SANTINI, E., KOPPER, A.M., REIS FILHO, A.D. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Revista Ciência e Saúde**, 4(2), 66-74, 2011.

RIVERA-ESPINOZA, Y., GALLARDO-NAVARRO, Y. Non-dairy probiotic products. **Food Microbiology**, 27(1), 1–11, 2010.

SANDERS M.E. Overview of functional foods: Emphasis on probiotic bacteria. **Int Dairy J.**, 8, 341-347, 1998.

SANTOS, J. S. et al. Grape juice supplemented with *Lactobacillus acidophilus* and oligofrutose. **Seminanciencias Agrarias**, 29(4), 839–844, 2008.

SOUZA, R.S. **Elaboração de bebida probiótica sabor manga e uva com *Lactobacillus acidophilus***, 25 p. Monografia. 2014.

SHEEHAN, V. M., ROSS, P., FITZGERALD, G. F. Assessing the acid tolerance and the technological

robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 8(2), 279–284, 2007.

TAVARES, M. B., SOUZA, R. D., LUIZ, W. B., CAVALCANTE, R. C. M., CASAROLI, C., MARTINS, E. G., FERREIRA, L. C. S. Bacillus subtilis endospores at high purity and recovery yields: Optimization of growth conditions and purification method. **Current Microbiology**, 66(3), 279–285, 2013.

VIDAL, R. H. L. **Avaliação do processo de obtenção da cajuína por resinas de troca iônica**, 136p. Tese, 2016.

SOBRE AS ORGANIZADORAS

VANESSA BORDIN VIERA bacharel e licenciada em Nutrição pelo Centro Universitário Franciscano (UNIFRA). Mestre e Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Docente do Curso de Nutrição e da Pós-Graduação em Ciências Naturais e Biotecnologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Editora da subárea de Ciência e Tecnologia de Alimentos do *Journal of bioenergy and food science*. Líder do Grupo de Pesquisa em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFCG. Possui experiência com o desenvolvimento de pesquisas na área de antioxidantes, desenvolvimento de novos produtos, análise sensorial e utilização de tecnologia limpas.

NATIÉLI PIOVESAN Docente no Instituto Federal do Rio Grande do Norte (IFRN), graduada em Química Industrial e Tecnologia em Alimentos, pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Possui graduação no Programa Especial de Formação de Professores para a Educação Profissional. Mestre e Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Atua principalmente com o desenvolvimento de pesquisas na área de antioxidantes naturais, desenvolvimento de novos produtos e análise sensorial.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Abelhas sociais 1

Ácido graxo 85, 232

Alelopátia 99

Alimento funcional 6

Análise de qualidade 1

Análise físico-química 90

Análises microbiológicas 8, 30, 36, 40, 42, 61, 62, 64, 80, 82, 203

Antioxidantes 6, 11, 14, 108, 110, 113, 115, 140, 152, 154, 172, 174, 175, 177, 178, 179, 180, 188, 193, 194, 200, 202, 228, 319

Antropoentomofagia 77, 78

Atividade antioxidante 90

Atividade de água 1, 2, 33, 36, 38, 39, 40, 41, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 53, 54, 55, 56, 57, 65, 71, 85, 86, 87, 88, 118, 123, 124, 163, 165

Avaliação 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 15, 16, 17, 26, 27, 34, 35, 36, 40, 43, 45, 53, 54, 55, 57, 59, 69, 73, 85, 86, 101, 124, 126, 142, 158, 170, 172, 177, 179, 200, 203, 206, 207, 211, 216, 223, 230, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 276, 288, 293, 317, 318

Azeitona 85, 86, 87, 88

C

Café instantâneo 54

Coconut sprout 18, 19, 21, 22, 23

Cogumelo do sol 6, 7, 16, 158

Cogumelos medicinais 6, 11

Compostos bioativos 99, 160, 188, 189, 190, 195, 203

Contaminação microbiológica 27, 42, 84, 200

E

Efeito antimicrobiano 6, 13, 15, 210, 214

Espinha em Y 59

F

Farinha 46, 65, 66, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 80, 81, 126, 197, 198, 200, 202, 203, 206, 240

Fenólicos 11, 96, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 172, 174, 176, 177, 178, 179, 180, 188, 191, 192, 193, 194, 200, 201, 202, 205

Flor comestível 108

H

Hidroximetilfurfural 1, 2, 4

I

Impacto ambiental 59, 60, 204

L

Lactobacilli 18, 19, 20, 21, 22, 23, 316

M

Microbiologia 15, 16, 17, 23, 24, 29, 34, 43, 44, 45, 49, 52, 53, 61, 80, 138, 216

Morango 90

Musa spp 117, 119

O

Ômega 77, 81

Orgânico 90, 97, 188, 189

P

Pereskia aculeata 65, 66, 67, 68, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 115

Plantas medicinais 16, 105, 108, 179, 195

Pós colheita 117

Produtos naturais 7, 99, 108, 109, 173

Propriedades tecnológicas 65, 66, 71, 205

Proteína 17, 69, 72, 77, 78, 79, 80, 81, 83, 142, 154, 169, 187, 199, 200, 204, 237, 239, 240, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248

Q

Qualidade alimentar 36

Queijo colonial 26, 27, 29, 30, 32, 33, 34

R

Rosa x grandiflora Hort. 108, 109, 110

S

Secagem 10, 52, 54, 56, 57, 65, 69, 71, 80, 111, 118, 119, 124, 125, 126, 127, 166, 174, 199, 207, 293

Segurança alimentar 34, 43, 59, 77, 83, 117, 124, 126

Spray-dryer 54, 316

Sustentabilidade 59

T

Tangerina 90

Tecnologia de alimentos 33, 43, 44, 54, 76, 85, 96, 97, 114, 117, 125, 126, 127, 170, 171, 206, 207, 208, 228, 249, 317, 319

Teste acelerado 45

Timol 98, 99, 103, 104, 105

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-7247-699-7



9 788572 476997