

EFEITO DO ULTRASSOM DE BAIXA FREQUÊNCIA DE ALTA POTÊNCIA DE PROCESSAMENTO NA ESTABILIDADE DO LICOPENO PURO E EM TOMATES

V.S. OLIVEIRA¹, S. RODRIGUES², F.A.N. FERNANDES¹

¹ Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia Química

² Universidade Federal do Ceará, Departamento de Tecnologia de Alimentos

E-mail para contato: fabiano@ufc.br

RESUMO – A estabilidade do licopeno foi avaliada após o processamento com ultrassom de baixa frequência de alta potência. O estudo foi realizado em licopeno puro para avaliar o efeito direto do ultrassom em licopeno; e em tomates para avaliar os efeitos diretos e indiretos do ultrassom numa matriz orgânica complexa. O processamento em ultrassom foi realizado usando um banho ultrasônico e um ultrassom tipo sonda. Densidades de potência entre 55 a 5000 W/L e temperaturas de 23 (ambiente) a 60 °C foram avaliadas. Experiências com licopeno puro mostraram que a aplicação de ultrassom não afetou diretamente o licopeno. No entanto, a matriz orgânica contribuiu para a degradação do licopeno através de um efeito indireto causado pela composição da matriz orgânica.

1. INTRODUÇÃO

O licopeno é um carotenóide vermelho, encontrado principalmente em tomates e em menor quantidade em goiaba, melancia, mamão e pitanga. O tomate e seus produtos são a principal fonte deste carotenóide. O consumo de licopeno tem sido associado a um menor risco de desenvolvimento de alguns tipos de câncer, como o câncer de próstata e por reduzir problemas relacionados a doenças do coração (Djuric e Powell, 2001; Sesso *et al.*, 2003).

O processamento industrial do tomate pode levar à perda de licopeno devido à oxidação durante o processamento e o armazenamento dos produtos de tomate, especialmente na presença de metais (Cu^{2+} , Fe^{2+}) (Shi e Le Maguer, 2000). Por outro lado, o processamento térmico do tomate tem sido responsável por um aumento na biodisponibilidade do licopeno em seus derivados.

A aplicação de ultrassom no processamento de alimentos tem sido estudada, especialmente nos processos de lavagem, secagem, higienização e na extração de bio-compostos de frutas e legumes (Riera *et al.*, 2004). A aplicação de ultrassom é eficiente em diversos processos industriais, mas também pode afetar a qualidade dos produtos alimentares. Registraram-se alterações no sabor, cor, viscosidade e também na composição química dos alimentos. A maioria das mudanças foram relacionadas com a produção de radicais livres e com o aumento localizado da temperatura resultante da cavitação acústica (Garcia-Nogueira *et al.*, 2010).

Este estudo avaliou o efeito do ultrassom em licopeno; e os efeitos diretos e indiretos do ultrassom na estabilidade de licopeno dentro de uma matriz alimentar (tomate).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi dividida em duas partes. A primeira parte teve como objetivo estudar os efeitos diretos do ultrassom no processamento de licopeno. Tais efeitos foram avaliados através da sonicação de licopeno puro dissolvido em etanol 95% v/v. A segunda parte teve como objetivo estudar os efeitos indiretos do ultrassom no processamento de tomates e seu efeito na quantidade de licopeno. Tais efeitos foram avaliados através da sonicação do pure de tomate, onde o licopeno pode ser afetado diretamente pelo ultrassom ou, indiretamente, pela reação com outros compostos da matriz alimentar que podem ser diretamente afetados pela aplicação do ultrassom.

2.1. Materiais

Licopeno puro foi obtido dos Laboratórios Baldacci (Brasil). Licopeno puro (5 mg) foi dissolvido em 50 mL de etanol até completa dissolução (aproximadamente 10 min).

Tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill) foram comprados em um supermercado local em condição madura e com cor vermelha completa; e armazenados em uma camara fria a 4 °C antes do uso. O purê de tomate foi obtido por liquefação dos tomates em um processador de alimentos por 3 min. O purê foi peneirado em peneira de malha de 1 mm para retirar os resíduos de sementes e homogeneizado em um homogeneizador de células por 1 min (Ultraturrax modelo T25). Cada ensaio foi realizado com 50 mL de purê de tomate.

2.2. Processamento em Ultrassom

Três conjuntos de experimentos foram realizados com solução de licopeno e com purê de tomate: dois em banhos ultrassônico com diferentes frequências (USC1450, 25 kHz, 150 W, 2,7 L; e Cristofoli, 19 kHz, 170 W, 2,7 L) e outra com um ultrassom de sonda (Unique modelo DES500, 18 kHz, 500 W).

Foram realizados ensaios em banho ultra-sônico à máxima potência (correspondendo a densidades de potência de 55 e 63 W/L, respectivamente no banho ultra-sônico de 25 kHz e de 19 kHz), pois esses equipamentos não permitem a mudança de potência. Foram efetuados testes em ultrassom tipo sonda em 5 níveis de potência diferentes (100, 200, 300, 400 e 500 W – correspondendo a densidades de potência de 1000 a 5000 W/L). Todos os testes foram realizados também em três temperaturas diferentes: ambiente (23 °C), de 40 a 60 °C. Ensaio de referencia (controle) foram realizados sem aplicação de ultra-som nas três temperaturas de processamento para permitir a diferenciação do efeito térmico e do efeito do ultrassom na estabilidade do licopeno. Todos os ensaios e análises foram realizados em triplicata.

Mudanças na concentração de licopeno foram determinadas a cada 5 min durante 30 min. Uma amostra de 50 mL de purê de tomate ou licopeno puro foi usado para cada tempo para não permitir a redução de volume e, portanto, as alterações da densidade de energia ultrassônica. O purê de tomate foi produzido minutos antes dos experimentos e foi armazenado a 4 °C antes do uso. A análise da polpa indicou que a quantidade de licopeno não foi alterada durante o período de tempo que o purê de tomate foi armazenado.

2.3. Análise da Concentração de Licopeno

A análise da solução etanólica de licopeno, usada nos ensaios com o licopeno puro, foi realizada por espectrometria (UV-Vis modelo SP200UV) a 470 nm. A absorbância foi lida usando cubetas de quartzo de 3 mL. Etanol 95% foi usado como branco.

A concentração de licopeno no purê de tomate foi determinada de acordo com o método de Rodriguez-Amaya (2001). Um montante de 4 mL de purê foi misturado com 8 mL de hexano por 2 min para extrair o licopeno do pure. A mistura foi centrifugada a 2900 rpm (temperatura ambiente) por 5 min. O sobrenadante contendo licopeno foi recolhido e analisado espectrofotometricamente a 470 nm. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Os resultados foram apresentados na forma de licopeno residual, considerando-se como 100% a quantidade inicial de licopeno presente na amostra (tempo 0) e como licopeno residual a proporção de licopeno ainda remanescente na amostra em cada tempo amostrado.

2.4. Análise da Atividade de Peroxidase

Atividade da peroxidase foi determinada por espectrofotometria usando um extrato do pure de tomate. Tampão fosfato pH 7,0 (10 mL) contendo 1% (p/v) PVP foi misturado com 5 g de pure de tomate e homogeneizado por 1 min, usando um homogeneizador de células (Ultraturrax IKA modelo T25). A mistura foi centrifugada a 10000 rpm por 20 min em 4 °C. O sobrenadante contendo a enzima (0,60 mL) foi coletado e misturado com 1,00 mL de tampão citrato-fosfato pH 5,0 contendo guaiacol (0,20 mol/L) e 0,10 mL de água oxigenada (0,3% v/v). A mistura foi analisada espectrofotometricamente a 470 nm. Leituras foram feitas a cada minuto por 10 min para determinar da taxa de reação e, portanto, a atividade da enzima. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Diversos estudos indicam que os tratamentos térmicos mais utilizados na produção e preparação de alimentos, como ferver e cozinhar, não alteram significativamente os níveis de licopeno no tomate. Poucos trabalhos mostram como tecnologias não térmicas tais como a sonicação e o processamento a alta pressão afetam os níveis de licopeno no purê de tomate ou em produtos de tomate, porém ainda não foi realizado uma avaliação completa dos efeitos do ultrassom nestes produtos (Colle *et al*, 2010).

Na primeira parte deste estudo, os efeitos diretos do ultra-som processamento em licopeno foram avaliados. Tais efeitos foram avaliados através da sonicação do licopeno puro dissolvido em etanol 95% v/v, submetido a diferentes frequências ultra-sônicas, diferentes densidades de potencia e temperaturas. Todas as experiências realizadas com soluções de licopeno puro não apresentaram qualquer alteração significativa na concentração de licopeno, indicando que a aplicação direta do ultrassom não afeta o licopeno.

Aumentos na frequência de ultrassom (18 a 25 kHz), densidade de potência (55 a 5000 W/L) e temperatura (23 a 60 °C) não alteraram significativamente a concentração de licopeno na solução de etanol. A Figura 1 apresenta os resultados de concentração de licopeno após a aplicação do ultra-som para diferentes densidades de potência e temperaturas. Por conseguinte, pode ser declarado que a sonicação e termo-sonicação (até 60 °C) não afetam diretamente o licopeno.

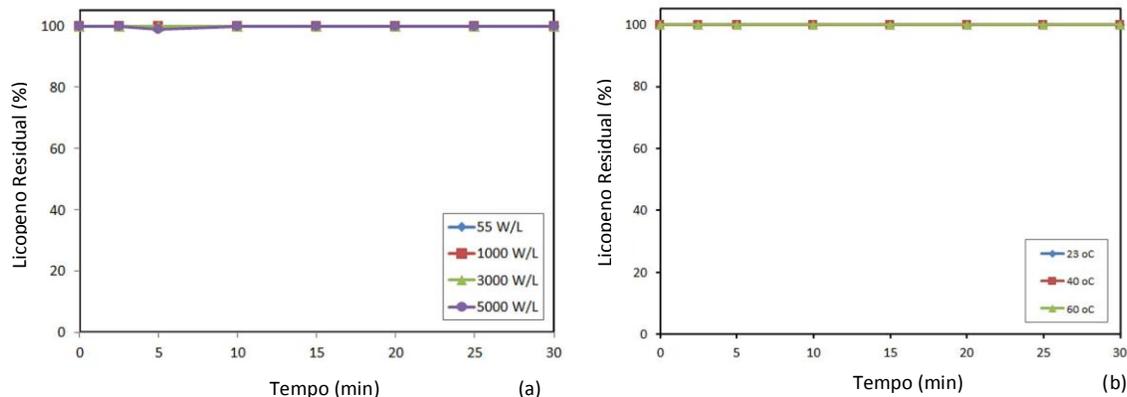


Figura 1 - Efeito do ultrassom na degradação de licopeno: (a) efeito da densidade de potência a 23 °C; (b) efeito da temperatura a uma densidade de potência de 5000 W/L.

Poucos estudos têm sido realizados para avaliar os efeitos diretos e indiretos da aplicação do ultra-som em micronutrientes, tais como o licopeno e vitaminas. Mason (1998) afirmou que a aplicação do ultra-som reduz a probabilidade de degradação de nutrientes, especialmente quando aplicado em baixa temperatura. Os resultados aqui indicados corroboram com esta afirmação.

A segunda parte deste estudo visa avaliar se a aplicação do ultrassom afeta indiretamente os níveis de licopeno em uma matriz alimentar. Tais efeitos foram avaliados através da sonicação do pure de tomate, submetido a diferentes frequências ultra-sônicas, diferentes densidades de potência e diferentes temperaturas. A concentração de licopeno no purê de tomate não tratado foi $145.0 \pm 2.0 \mu\text{g/g}$.

O purê de tomate submetido a sonicação à temperatura ambiente não alterou significativamente os níveis de licopeno. O aumento na frequência de ultra-som (de 18 a 25 kHz) e na densidade de potência (a partir de 55 a 5000 W/L) também não afetou os níveis de licopeno no purê de tomate.

No entanto, a concentração de licopeno no purê de tomate diminuiu com o aumento da temperatura de processo. A Figura 2a apresenta as alterações em licopeno observado a 40 °C sob duas densidades de potência diferentes. Observou-se uma ligeira diminuição (2,3%) a 40 °C e alta densidade de potência (5000 W/L). Uma significativa degradação do licopeno foi observada a 60 °C e densidades de potência que variaram de 1000 a 3000 W/L. O pico de perda de licopeno (51%) foi obtido em uma densidade de potência de 2000 W/L. Acima e abaixo desta densidade de potência, perdas menores foram observadas (Figura 2b). Densidades de potência mais baixas (55 a 63 W/L) não mostraram qualquer influência sobre os níveis de licopeno nesta temperatura.

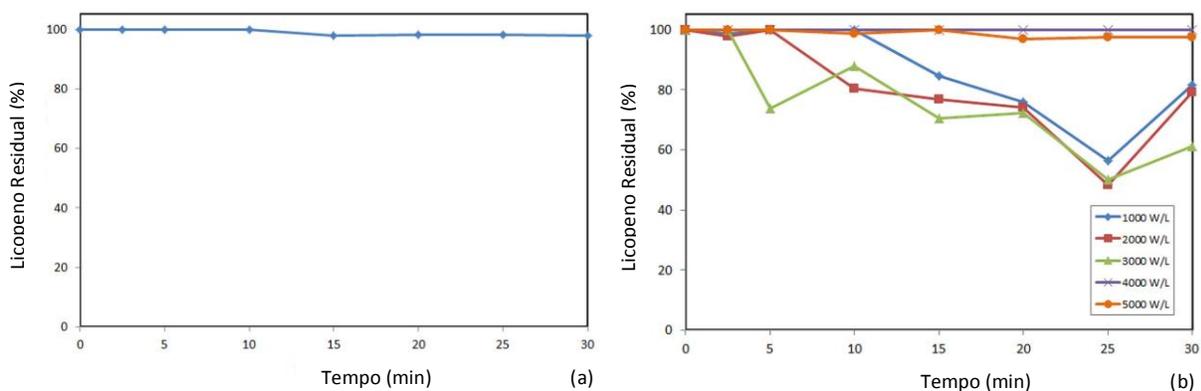


Figura 2 - Degradação do licopeno em purê de tomate submetido a processamento ultrassônico a (a) 5000 W/L e 40 °C; (b) 60 °C.

O aumento da concentração de licopeno no pure de tomate em maiores densidades de potência pode estar relacionado ao aumento da biodisponibilidade do licopeno. O processamento em ultra-som pode melhorar a biodisponibilidade de licopeno por quebrar paredes de célula, que enfraquece a força de ligação entre o licopeno e a matriz de tecido celular (Srivastava e Srivastava, 2012).

Um experimento foi realizado com o purê de tomate a 60 °C sem aplicação de ultra-som (Figura 3). O resultado mostrou uma degradação muito suave do licopeno, que não explica o nível de degradação observado quando ultrassom foi aplicado em densidades de potência de 1000 a 3000 W/L. Experimentos realizados por Hsu (2008) e Thompson *et al.* (2000) também concluíram que o licopeno é estável a temperaturas inferiores a 100 °C.

Se a aplicação de ultrassom não tem nenhum efeito direto na estabilidade de licopeno e se o tratamento térmico, até 60 °C, também não tem um efeito direto na estabilidade do licopeno, então um efeito indireto é responsável pela degradação do licopeno. O tomate é uma matriz composta por açúcares, proteínas, gorduras, vitaminas (A, B1, B2, B3, B5, B6, C e E) e minerais (Davies e Hobson, 1981). Tomates tem várias vitaminas com propriedades antioxidantes que podem ser afetadas pelos radicais livres produzidos durante a termo-sonicação ou pelo oxigênio que pode ser dissolvido na polpa, dado o elevado nível de mistura criado durante a

aplicação do ultra-som. Assim, o produto de degradação dessas vitaminas pode ser responsável pela degradação do licopeno na matriz orgânica.

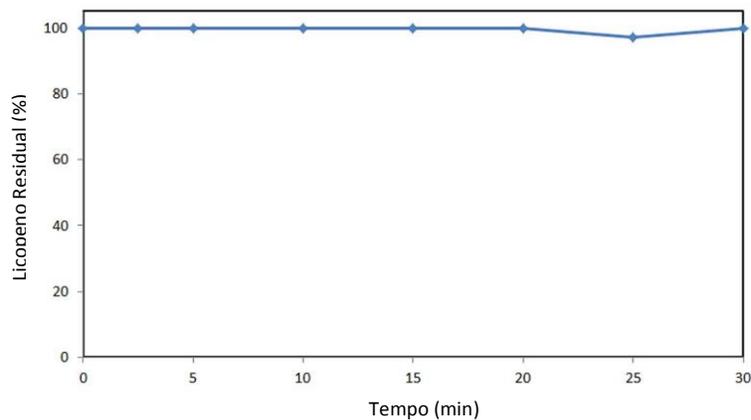


Figura 3 - Degradação de licopeno em purê de tomate submetido a processamento térmico a 60 °C (sem aplicação de ultrassom).

Bou *et al.* (2011) estudaram o efeito da vitamina C na degradação do licopeno e descobriram que a adição de ácido ascórbico (1 ou 10 μM) resultou em uma diminuição da estabilidade do licopeno. O ácido ascórbico é considerado um antioxidante solúvel em água e seus mecanismos antioxidantes estão relacionados à sua capacidade de eliminar o oxigênio, age como um redutor e um quelante de metal. O ácido ascórbico também tem a capacidade de reduzir o ferro ao estado ferroso muito mais pro-oxidativo, que poderia explicar porque o ascorbato impactou negativamente na estabilidade do licopeno. Tomates tem de 15 a 23 mg / 100g de vitamina C, que é uma concentração de vitamina C considerável. Assim, o efeito indireto da termo-sonicação na estabilidade do licopeno pode estar relacionado com a vitamina C.

Um segundo fator que pode contribuir para a degradação do licopeno em tomates é a inativação de enzimas, especialmente a peroxidase, que pode reduzir a proteção ante ao ataque de licopeno por peróxido de hidrogênio que é formado tanto pela célula quanto pelo colapso das bolhas de cavitação produzidas pelo ultrassom. O ultra-som é conhecido para inativar parcialmente as proteases, peroxidases e enzimas relacionadas a parede celular; e a inibição da atividade de peroxidase tem sido correlacionada à perda de licopeno em tomates.

Entre outras funções na defesa da planta, as peroxidases participam na regulação dos níveis de H_2O_2 , que pode causar a degradação do licopeno. A Figura 4 apresenta a atividade relativa da peroxidase em tomates em diferentes temperaturas e em diferentes densidades de potência. Os resultados mostram que a termo-sonicação ativou a enzima, especialmente nas condições onde a maior degradação do licopeno foi relatada. O aumento da atividade de peroxidase pode estar relacionado a um excesso de peróxido de hidrogênio a ser produzido durante a aplicação do ultra-som em determinadas condições. Excesso de peróxido de hidrogênio e a presença de ácido ascórbico poderiam estar atuando em um efeito sinérgico, levando ao consumo de licopeno e sua redução.

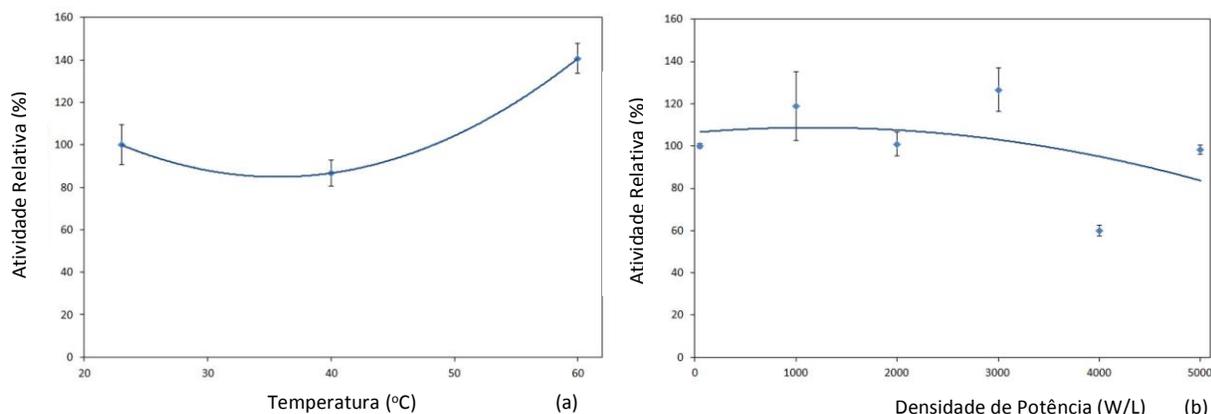


Figura 4 - Atividade relativa da peroxidase em função da temperatura do processo (a) e da densidade de potência (b) para 15 min de processamento. Atividade 100% considerada como a atividade da peroxidase no purê de tomate in natura

4. CONCLUSÃO

A aplicação de ultrassom não apresenta um efeito direto sobre a estabilidade do licopeno. No entanto, pode contribuir para a degradação do licopeno através de um efeito indireto. Sob certas condições (temperatura, frequência e densidade de potência) o ultrassom produz quantidades elevadas de peróxido de hidrogênio e em um efeito sinérgico com a vitamina C pode ocasionar a perda de licopeno em tomates. A aplicação do tratamento de ultra-som em purê de tomate deve ser efetuada a baixas temperaturas para reduzir a perda de licopeno.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro do CNPq.

6. REFERÊNCIAS

- BOU, R.; BOON, C.; KWEKU, A.; HIDALGO, D.; DEKKER, E.A. Effect of different antioxidants on lycopene degradation in oil-in-water emulsions, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* v. 113, p. 724–729, 2011.
- COLLE, I.; VAN BUGGENHOUT, S.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. High pressure homogenation followed by thermal processing of tomato pulp: Influence on microstructure and lycopene in vitro bioaccessibility, *Food Res. Int.* v. 43, p. 2193–2200, 2010.
- DAVIES, J.N.; HOBSON, G.E. The constituents of tomato fruit - the influence of environment, nutrition and genotype, *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* v. 15, p. 205–280, 1981.

- DJURIC, Z.; POWELL, L.C. Antioxidant capacity of lycopene-containing foods, *Int. J. Food Sci. Nutr.* v. 52, p. 143–149, 2001.
- GARCIA-NOGUERA, J.; OLIVEIRA, F.I.P.; GALLÃO, M.I.; WELLER, C.L.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F.A.N. Ultrasound-Assisted Osmotic Dehydration of Strawberries: Effect of Pretreatment Time and Ultrasonic Frequency, *Dry. Technol.* v. 28, p. 294–303, 2010.
- HSU, K.C. Evaluation of processing qualities of tomato juice induced by thermal and pressure processing, *LWT - Food Sci. Technol.* v. 41, 450–459, 2008.
- MASON, T.J. Power ultrasound in food processing – the way forward, in: M.J.W. Povey, T.J. Mason (Eds.), *Ultrasounds Food Process.*, Blackie Academic and Professional, Glasgow, 1998.
- RIERA, E.; GOLÁS, Y.; BLANCO, A.; GALLEGRO, A.; BLASCO, M.; MULET, A. Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound, *Ultrason. Sonochem.* v. 11, p. 241–244, 2004.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. *A guide to carotenoids analysis in food*, International Life Sciences Institute Press, Washington, 2001.
- SESSO, H.D., LIU, S., GAZIANO, J.M., BURING, J.E. Dietary lycopene, tomato-based food products and cardiovascular disease in women, *J. Nutr.* v. 133, p. 2336–2234, 2003.
- SHI, J.; LE MAGUER, M. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing, *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* v. 40, p. 1–42, 2000.
- SRIVASTAVA, S.; SRIVASTAVA, A.K. Lycopene; chemistry, biosynthesis, metabolism and degradation under various abiotic parameters, *J. Food Sci. Technol.*, 2012.