

5

Ana Flávia de Oliveira  
Marianne Ayumi Shirai  
organizadoras

# TÓPICOS EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

resultados de pesquisas acadêmicas



Ana Flávia de Oliveira  
Marianne Ayumi Shirai  
(organizadoras)

TÓPICOS EM CIÊNCIAS E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
resultados de pesquisas acadêmicas

Volume 5

2020

*Tópicos em ciências e tecnologia de alimentos: resultados de pesquisas acadêmicas – volume 5*

© 2020 Ana Flávia de Oliveira, Marianne Ayumi Shirai (organizadoras)

Editora Edgard Blücher Ltda.

Diagramação: Laércio Flenic Fernandes

Revisão: Samira Panini

O conteúdo dos capítulos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos seus respectivos autores.

---

# Blucher

Rua Pedroso Alvarenga, 1245, 4º andar  
04531-934 – São Paulo – SP – Brasil  
Tel 55 11 3078-5366  
contato@blucher.com.br  
www.blucher.com.br

Segundo Novo Acordo Ortográfico, conforme 5. ed.  
do Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa,  
Academia Brasileira de Letras, março de 2009.

É proibida a reprodução total ou parcial por quaisquer  
meios, sem autorização escrita da Editora.

---

Todos os direitos reservados pela Editora  
Edgard Blücher Ltda.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Angélica Ilacqua CRB-8/7057

---

Tópicos em ciências e tecnologia de alimentos:  
resultados de pesquisas acadêmicas - volume 5 /  
organizado por Ana Flávia de Oliveira, Marianne Ayumi  
Shirai – São Paulo : Blucher, 2020.  
466 p.

Bibliografia  
ISBN - 978-65-5550-024-0 (e-book)  
ISBN - 978-65-5550-025-7 (impresso)  
Open Access

1. Tecnologia de alimentos 2. Alimentos – Pesquisas –  
Brasil 2. Nutrição – Pesquisas – Brasil I. Oliveira, Ana Flávia  
de II. Shirai, Marianne Ayumi

---

20-4005

CDD 664.005

---

Índices para catálogo sistemático:  
1. Tecnologia de alimentos – Pesquisas

# **SOBRE OS AUTORES**

## **Alexandre Rodrigo Coelho**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.  
Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina.

## **Amanda Martins Coutinho**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná,  
câmpus Londrina.

## **Amélia Elena Terrile**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.  
Doutorado em Química pela Universidade Estadual de Londrina.

## **Ana Flávia de Oliveira**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.  
Doutorado em Ciências da Nutrição pela Universidade Federal de São Paulo.

## **Anna Carolina Turman Silva**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná,  
câmpus Londrina.

**Anyketlen Valério Seret Lion**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Londrina.

**Bruna Kaori Fujii**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Londrina.

**Camila Fernanda Piva**

Graduanda do Curso de Tecnologia em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Londrina.

**Carina Moro Benis**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Londrina.

**Caroline Maria Calliari**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Londrina. Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina.

**Cláudio Takeo Ueno**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Londrina. Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina.

**Dâmaris Cristine Landgraf**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Londrina.

### **Deise Aparecida da Silva Dijuli**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Deyse Sanae Ota**

Graduanda do Curso de Engenharia Química pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Diovana Dias Rodrigues**

Engenheira de Alimentos pela Universidade Estadual do Centro-Oeste.

### **Douglas Rangel da Costa**

Químico pela Universidade Norte do Paraná e Mestre em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Eduarda Cristina Catandubas Goulart**

Graduanda do Curso de Engenharia de Materiais pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Eloisi Galindo Ferreira**

Engenheira de Alimentos pela Universidade Norte do Paraná e Mestre em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Emerson José Venancio**

Docente da Universidade Estadual de Londrina. Doutorado em Ciências Biológicas pela Universidade de Brasília.

### **Fabiana Fiusa Ferreira**

Tecnóloga em Alimentos e Mestre em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Fábio Augusto Garcia Coró**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina. Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina.

### **Felipe Amorin Rossi**

Graduando do Curso de Engenharia Química pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Franciele Maria Perseguelo**

Química pela Universidade Estadual de Londrina e Mestre em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Gabriella Deduch**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Heloísa Gabriel Falcão**

Docente do Instituto Federal de Goiás, câmpus Inhumas. Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina.

### **Ioshimi Lilian Watanabe Hasunuma**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Isabel Craveiro Moreira Andrei**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina. Doutorado em Química Orgânica pela Universidade de São Paulo.

### **Jaquellyne Bittencourt Moraes Duarte da Silva**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Jefferson Sussumu de Aguiar Hachiya**

Docente do Instituto Federal do Paraná, câmpus Londrina. Mestre em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Jonas de Sousa**

Graduando do Curso de Química pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Juliany Piazzon Gomes**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina. Mestre em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina.

### **Kelly Cristina da Silva**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Lais Ribeiro de Souza**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.



### **Lívia Santos Tavares**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Lúcia Felicidade Dias**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina. Doutorado em Química pela Universidade Federal de Santa Catarina.

### **Luciana Furlaneto-Maia**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina. Doutorado em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Paraná.

### **Lyssa Setsuko Sakanaka**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina. Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina.

### **Margarida Masami Yamaguchi**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina. Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas.

### **Marianne Ayumi Shirai**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina. Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina.

### **Marina Levorato de Moraes**

Engenheira de Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Campo Mourão.

### **Marly Sayuri Katsuda**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.  
Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina.

### **Mayka Reghiany Pedrão**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.  
Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina.

### **Natália Moraes Leite**

Tecnóloga em Alimentos e Mestre em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Neusa Fátima Seibel**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.  
Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina.

### **Nolam Ryuki Miazato Suenaga**

Graduando do Curso de Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Paulo de Tarso Carvalho**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.  
Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina.

### **Rafael Motoki Bertho**

Graduando do Curso de Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

**Rafaela Alves Martins**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

**Rafaelli Yumi Yanaze**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

**Renata Marques Bonfim**

Química pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

**Roberta Barreiros de Souza**

Bióloga pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho e Mestre em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina.

**Samuel Camilo da Silva**

Tecnólogo em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

**Sumaya Hellu El Kadri**

Química pela Universidade Estadual de Londrina e Especialização em Desenvolvimento de Produtos Alimentícios pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

**Thais Fascina Silva**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Thaysa Amélia Bortoloti Fernandes**

Tecnóloga em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

### **Valéria Barbosa Gomes de Santis**

Tecnóloga em Alimentos e Mestre em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.



# **SOBRE AS ORGANIZADORAS**

## **Ana Flávia de Oliveira**

Graduada em Nutrição. Doutora em Ciências pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Atua como docente no ensino superior há 18 anos. Docente do Departamento Acadêmico de Alimentos da UTFPR desde 2007, lecionando no curso de Tecnologia em Alimentos na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) campus Londrina.

## **Marianne Ayumi Shirai**

Graduada em Engenharia de Alimentos. Doutora em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). É docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) desde 2012 e atua no curso de Tecnologia de Alimentos e no Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos (Mestrado Profissional).



# DEDICATÓRIA

Dedicamos este livro a todos os colegas e alunos que valiosamente contribuíram com a redação desta obra.





# AGRADECIMENTOS

A todos os autores pela dedicação em adequar trabalhos acadêmicos em capítulos de livro, permitindo a concepção desta obra.

Aos nossos alunos e ex-alunos, muitos dos quais se tornaram amigos e colegas de profissão, pois a razão determinante deste trabalho é o oferecimento de uma fonte de consulta e estudo confiável para todos vocês.

Às nossas famílias pelo suporte e acolhimento em todos os momentos.



# APRESENTAÇÃO

Com grande satisfação apresentamos o volume 5 da coleção Tópicos em Ciências e Tecnologia de Alimentos: Resultados de Pesquisas Acadêmicas desenvolvidas na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Londrina, em conjunto com alunos do Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos (PPGTAL), campus de Londrina e Francisco Beltrão.

Este livro é uma coletânea de pesquisas acadêmicas realizadas ao longo dos anos de 2018 e 2019, em que alunos do curso de Tecnologia em Alimentos desenvolveram pesquisas orientadas por docentes, mestres e doutores, com experiência na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Como docentes responsáveis pela coordenação de trabalhos de conclusão de curso (TCC) da graduação em Tecnologia de Alimentos, sentimos enorme gratificação em observar a transformação de ideias antes subjetivas de alunos, em trabalhos científicos dignos de serem divulgados à comunidade científica, notadamente quando imprescindível retribuir à sociedade o conhecimento construído em pesquisas científicas desenvolvidas em instituição pública de ensino superior.

Com esta obra, assim como os volumes anteriores, disponibilizamos mais subsídios teórico-metodológicos para investigações posteriores, como também uma plataforma de apoio não somente à área acadêmica, mas para todos os profissionais atuantes nas mais diversas áreas de alimentos.

*Ana Flávia de Oliveira  
Marianne Ayumi Shirai*



# SUMÁRIO

**CAPÍTULO 1 – QUALIDADE DO ÓLEO DE SOJA E DE BATATA PRÉ-FRITA E CONGELADA DURANTE O PROCESSO DE FRITURA.....25**

*Dâmaris Cristine Landgraf*  
*Rafael Motoki Bertho*  
*Deise Aparecida da Silva Dijuli*  
*Neusa Fátima Seibel*

**CAPÍTULO 2 – MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTE DE UVA POR SPRAY DRYING ..... 47**

*Kelly Cristina da Silva*  
*Cláudio Takeo Ueno*  
*Lyssa Setsuko Sakanaka*  
*Marianne Ayumi Shirai*

**CAPÍTULO 3 – ACOMPANHAMENTO MICROBIOLÓGICO E FÍSICO-QUÍMICO DE PRODUTOS À BASE DE BANANA-VERDE: ATUAÇÃO DO TECNÓLOGO EM ALIMENTOS NO CONTROLE DE QUALIDADE .....69**

*Carina Moro Benis*  
*Paulo de Tarso Carvalho*  
*Luciana Furlaneto Maia*

**CAPÍTULO 4 – ELABORAÇÃO DE CONSERVA FERMENTADA (NUKAZUKE) DE PEPINO AMARGO (MOMORDICA CHARANTIA) EM FARELO DE ARROZ (NUKA) E FOLHAS DE REPOLHO .....89**

*Bruna Kaori Fujii*  
*Lyssa Setsuko Sakanaka*  
*Claudio Takeo Ueno*

**CAPÍTULO 5 – DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E ANÁLISE ANTIOXIDANTE DA POLPA DE PITAIA (HYLOCEREUS POLYRHIZUS) ..... 115**

*Anna Carolina Turman Silva*  
*Camila Fernanda Piva*  
*Amanda Martins Coutinho*  
*Sumaya Hellu El Kadri*  
*Lúcia Felicidade Dias*  
*Isabel Craveiro Moreira Andrei*

**CAPÍTULO 6 – DESENVOLVIMENTO DE PROCESSO DE ENCAPSULAMENTO DE ANTICORPOS IGY VISANDO MANUTENÇÃO DA VIABILIDADE ..... 135**

*Thaysa Amélia Bortoloti Fernandes*  
*Emerson José Venancio*  
*Lyssa Setsuko Sakanaka*  
*Marianne Ayumi Shirai*  
*Cláudio Takeo Ueno*

**CAPÍTULO 7 – DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SALAME TIPO ITALIANO COM SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DE CLORETO DE SÓDIO ..... 175**

*Gabriella Deduch*  
*Lúcia Felicidade Dias*  
*Margarida Masami Yamaguchi*

**CAPÍTULO 8 – AVALIAÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA DA CARNE DE FRANGO REFRIGERADA E PÓS-COCÇÃO ACOMETIDA PELA ANOMALIA WHITE STRIPING ..... 199**

*Lais Ribeiro de Souza*  
*Natália Moraes Leite*  
*Roberta Barreiros de Souza*  
*Alexandre Rodrigo Coelho*  
*Fábio Augusto Garcia Coró*  
*Mayka Reghiany Pedrão*

**CAPÍTULO 9 – Extração do óleo de semente de uva por diferentes métodos e armazenado por 30 dias ..... 219**

*Jaquellyne Bittencourt Moraes Duarte da Silva*  
*Deise Aparecida da Silva Dijuli*  
*Caroline Maria Calliari*  
*Lyssa Setsuko Sakanaka*  
*Neusa Fátima Seibel*

<b>CAPÍTULO 10 – OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FARINHA DAS CASCAS DE BANANAS VERDES E MADURAS .....</b>	<b>251</b>
<i>Anyketlen Valério Seret Lion</i>	
<i>Rafaelli Yumi Yanaze</i>	
<i>Diovana Dias Rodrigues</i>	
<i>Caroline Maria Calliari</i>	
<i>Neusa Fátima Seibel</i>	
<b>CAPÍTULO 11 – DESENVOLVIMENTO DE DOCE PARA DIABÉTICOS UTILIZANDO MATCHÁ (CAMELLIA SINENSIS) .....</b>	<b>273</b>
<i>Ioshimi Lilian Watanabe Hasunuma</i>	
<i>Nolam Ryuki Miazato Suenaga</i>	
<i>Juliany Piazzon Gomes</i>	
<i>Amélia Elena Terrile</i>	
<b>CAPÍTULO 12 – BISCOITO DOCE DE OKARA COM TOFU E FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS.....</b>	<b>291</b>
<i>Lívia Santos Tavares</i>	
<i>Neusa Fátima Seibel</i>	
<b>CAPÍTULO 13 – BIOCONTROLE IN VITRO DE BLORES DETERIORANTES POR TOXINA KILLER DE LEVEDURA ANTAGONISTA .....</b>	<b>317</b>
<i>Rafaela Alves Martins</i>	
<i>Douglas Rangel da Costa</i>	
<i>Fabiana Fiusa Ferreira</i>	
<i>Lyssa Setsuko Sakanaka</i>	
<i>Marianne Ayumi Shirai</i>	
<i>Alexandre Rodrigo Coelho</i>	
<b>CAPÍTULO 14 – TIPOS DE PERDAS EM FRUTAS, LEGUMES E HORTALIÇAS EM FEIRAS-LIVRES NO MUNICÍPIO DE LONDRINA - PR.....</b>	<b>339</b>
<i>Samuel Camilo da Silva</i>	
<i>Diovana Dias Rodrigues</i>	
<i>Neusa Fátima Seibel</i>	
<b>CAPÍTULO 15 – ADAPTAÇÃO DA METODOLOGIA DE EXTRAÇÃO LÍPIDICA POR EXTRATOR SOXHLET PELO EQUIPAMENTO SOXTEC™ 2055 EM PRODUTOS DE SOJA.....</b>	<b>363</b>
<i>Thais Fascina Silva</i>	
<i>Deise Aparecida da Silva Dijuli</i>	
<i>Marianne Ayumi Shirai</i>	
<i>Neusa Fátima Seibel</i>	



**CAPÍTULO 16 – APLICAÇÃO DO SISTEMA APPCC NO  
PROCESSAMENTO DO TRIGO PARA OBTENÇÃO DA  
FARINHA INTEGRAL.....383**

*Franciele Maria Perseguelo*  
*Mayka Reghiany Pedrão*  
*Lúcia Felicidade Dias*  
*Fábio Augusto Garcia Coró*  
*Neusa Fátima Seibel*

**CAPÍTULO 17 – CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ACEITAÇÃO  
SENSORIAL E PERFIL PROTEOLÍTICO DE QUEIJO HIPOSSÓDICO  
MATURADO POR CULTURA ADJUNTA.....415**

*Marly Sayuri Katsuda*  
*Jonas de Sousa*  
*Eduarda Cristina Catandubas Goulart*  
*Deyse Sanae Ota*  
*Renata Marques Bonfim*  
*Felipe Amorin Rossi*  
*Valéria Barbosa Gomes de Santis*  
*Marina Levorato de Moraes*  
*Jefferson Sussumu de Aguiar Hachiya*  
*Luciana Furlaneto-Maia*

**CAPÍTULO 18 – DETERMINAÇÃO DE VITAMINA C EM PREPARADOS  
SÓLIDOS PARA REFRESCO.....431**

*Heloísa Gabriel Falcão*  
*Lúcia Felicidade Dias*  
*Ana Flávia de Oliveira*

**CAPÍTULO 19 – ESTUDO PARA ESTABELECEER OS PARÂMETROS DE  
RELAÇÃO ENTRE O TEOR DE CINZAS E A COLORIMETRIA NA  
FARINHA DE TRIGO.....447**

*Eloisi Galindo Ferreira*  
*Paulo de Tarso Carvalho*  
*Mayka Reghiany Pedrão*  
*Lúcia Felicidade Dias*

# Capítulo 1

## **QUALIDADE DO ÓLEO DE SOJA E DE BATATA PRÉ-FRITA E CONGELADA DURANTE O PROCESSO DE FRITURA**

*Dâmaris Cristine Landgraf  
Rafael Motoki Bertho  
Deise Aparecida da Silva Dijuli  
Neusa Fátima Seibel*

### **1. INTRODUÇÃO**

A fritura é uma operação unitária de cocção muito utilizada tanto industrialmente quanto no ambiente doméstico, por fornecer ao alimento frito características sensoriais como aumento da palatabilidade, diminuindo ou acentuando a cor, o sabor, a textura ou a consistência dos alimentos.

Cada alimento possui uma forma particular de absorção do óleo durante o processo de fritura, dependendo das condições oferecidas. Os fatores do processo incluem temperatura do óleo, tempo do óleo na fritadeira, material constituinte da fritadeira e tipo de equipamento utilizado, por batelada ou contínuo (OSAWA et al., 2010).

A população tem aumentado seu consumo de alimentos de procedência *fast-food* por estes oferecerem maior praticidade, porém, sua grande maioria é frito e pode conter substâncias provenientes de degradações lipídicas. O consumo de alimentos fritos, cada vez mais crescente com óleos oxidados, vem sendo associado a doenças cardiovasculares que se manifestam em idades precoces podendo provocar sérios riscos à saúde (LIMA et al., 2000).

No processo de fritura, o alimento é submerso em óleo quente na presença de ar, e assim, é exposto à oxidação interagindo com uma série de agentes como: ar, água, alta temperatura e componentes dos alimentos que estão sendo fritos; os quais causam degradações em sua estrutura, especialmente quando utilizados por um longo período, gerando compostos responsáveis por odor e sabor desagradáveis (BRASIL, 2004a).

Óleos utilizados para fritura não devem ultrapassar a temperatura de 180 °C e devem ser substituídos de imediato sempre que demonstrarem alterações evidentes em suas características físico-químicas ou sensoriais, como o início da formação de espuma e fumaça, além de modificações no aroma e sabor (BRASIL, 2004b). Os efeitos do aquecimento prolongado da fritura nos alimentos podem resultar em perdas nutricionais de vitaminas lipossolúveis, alterações na qualidade das proteínas, gorduras e carboidratos. Já os efeitos do aquecimento prolongado do óleo, na presença de oxigênio, causam a oxidação que origina uma variedade de compostos carbonílicos voláteis e ácidos graxos contendo outros grupos funcionais como hidroxila, cetona e epóxidos.

Visando a determinação da qualidade do óleo de soja utilizado para a fritura de batata congelada e pré-frita, este trabalho teve por finalidade a determinação dos índices de peróxido, acidez, iodo e saponificação. Além das análises de cor, umidade, atividade de água e absorção de óleo das batatas congeladas e após a fritura.

## 2. OXIDAÇÃO LIPÍDICA

A oxidação lipídica é um processo espontâneo e inevitável. É neste processo que ocorre a produção de compostos *off flavors* e também o desenvolvimento do ranço. Este tipo de reação acarreta na diminuição do valor nutritivo dos alimentos e na diminuição do tempo de vida útil.

### 2.1 ÓLEO DE SOJA

O óleo de soja possui em sua composição ácidos graxos insaturados que representam 85% do total de lipídios, e aproximadamente 60% destes são constituídos pelos ácidos graxos essenciais, como oleico e linolênico. Dentre os compostos minoritários do óleo de soja, estão os tocoferóis (JORGE, 2009).

O óleo de soja é o óleo vegetal mais utilizado, tanto diretamente como óleo de cozinha, quanto como matéria-prima na preparação de outros alimentos. Isso se deve ao seu baixo preço, com a grande industrialização deste grão e a sua qualidade nutricional (SEIBEL, 2018).

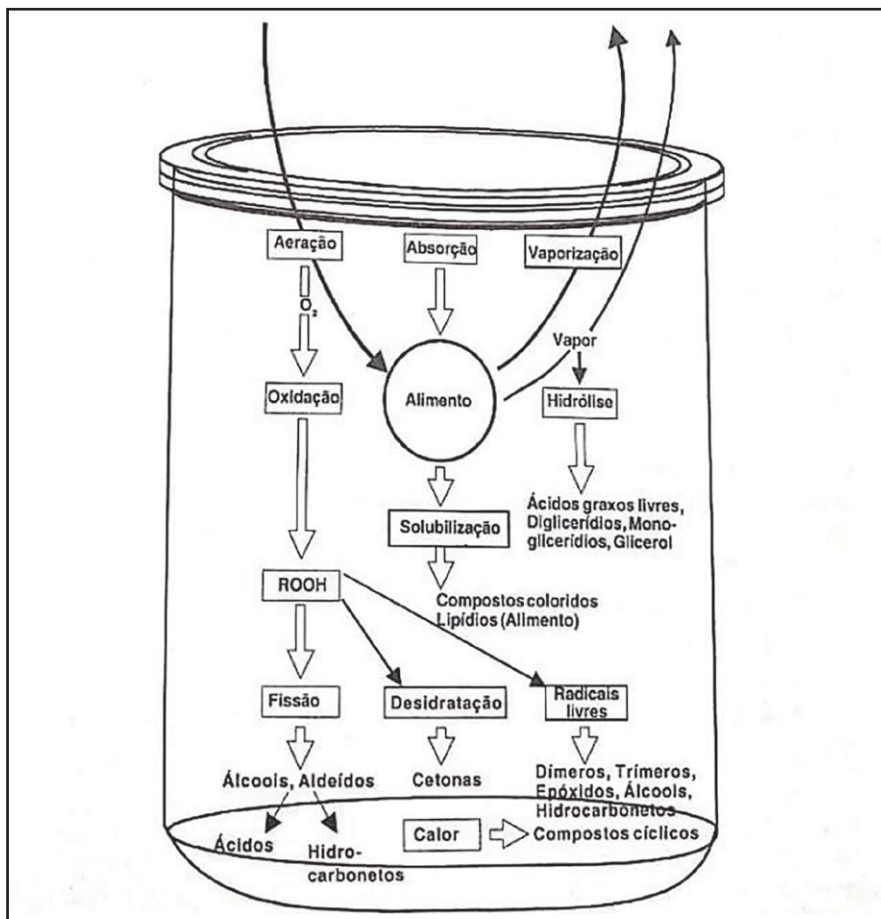
Em estudos comparativos foi verificado que o óleo de soja se manteve mais estável por mais tempo, demorando 6,5 horas para produzir 25% de polares totais. Essa maior estabilidade pode ser devido ao seu caráter vitamínico e sua atividade antioxidante, sendo os principais compostos minoritários desse óleo (SEIBEL, 2018).

## Degradação do óleo de soja

A oxidação lipídica é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, modificando a qualidade sensorial dos alimentos e os tornando impróprios para consumo, além de também provocar outras alterações na qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (ARAÚJO, 2008).

As alterações do óleo durante o processo de fritura dependem de diversos fatores como, exposição prolongada ao calor, oxigênio e a luz. As temperaturas utilizadas nestes processos são comumente altas, provocando a formação de compostos de deterioração como, epóxidos, dihidroperóxidos, ácidos graxos cíclicos e dímeros, descritos na Figura 1 (ARAÚJO, 2008).

Figura 1 – Transformações químicas no óleo durante a fritura



Fonte: ARAÚJO (2008).

Os processos oxidativos intensificam a degradação de óleos e gorduras, podendo também ocorrer por hidrólise, polimerização e pirólise, implicando assim nas características sensoriais como sabor e coloração final dos óleos e gorduras (HIDALG; NOGALES; ZAMORA, 2007). Dependendo dos alimentos que são utilizados, do óleo e do processo de fritura, a formação dos produtos de degradação (Tabela 1) pode ser resumida pela formação de compostos voláteis que são eliminados em razão da sua natureza durante a fritura, tendo grande influência nas características sensoriais do produto e do óleo (ARAÚJO, 2008).

Tabela 1 – Alterações do óleo durante a fritura

<b>Tipo de Alteração</b>	<b>Agente</b>	<b>Compostos Resultantes</b>
<b>Hidrólise</b>	<b>Umidade</b>	<b>Ácidos graxos Monoglicerídeos Diglicerídeos Glicerol</b>
<b>Oxidação</b>	<b>Oxigênio</b>	<b>Monômeros cíclicos, polímeros, voláteis (aldeídos, ácidos, hidrocarbonetos, cetonas, álcoois etc.)</b>
<b>Alterações térmicas</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Monômeros cíclicos, dímeros e polímeros</b>

Fonte: ARAÚJO (2008).

A velocidade de deterioração dos óleos e das gorduras é diferente, os estágios da evolutiva oxidação englobam o período de indução, seguida da formação de peróxidos, decomposição, polimerização e degradação, que resultam em uma série de mudanças físicas (ARAÚJO, 2008).

Durante o processo de fritura, óleos e gorduras estão expostos à ação de agentes que diminuem a qualidade e modificam suas estruturas, sendo eles, a umidade proveniente dos alimentos, que é a causa da alteração hidrolítica, o oxigênio do ar, que entra em contato com o óleo através da superfície, possibilitando a alteração oxidativa e a elevada temperatura no processo, que provoca a alteração térmica (JORGE et al., 2005).

A combinação dos fatores, calor, ar, luz, umidade e fragmentos do produto submetidos ao aquecimento prolongado, contribuem para a oxidação dos óleos que alteram substancialmente as propriedades químicas e físicas, um exemplo são as reações que envolvem as insaturações que provocam a diminuição do índice de iodo (ARAÚJO, 2008).

## 2.2 AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO ÓLEO

### Índice de Peróxido

O Índice de Peróxido é um indicador muito significativo no estágio inicial da oxidação, sua presença é um indício de deterioração do óleo afetando,

sabor e odor. Quando sua concentração atinge certo nível, mudanças complexas ocorrem, formando compostos de baixo peso molecular, provindos de sua degradação (ARAÚJO, 2006).

Estes produtos possuem propriedades radicalares que ao estabilizarem-se subtraem hidrogênios de ácidos graxos, decompondo-os em radicais livres de ácidos graxos. Esta etapa, chamada de propagação, é um processo autocatalítico que não necessita da participação dos radicais livres de oxigênio da etapa de iniciação. Durante a propagação, a formação de peróxidos ganha certa velocidade, acompanhada pelo consumo elevado de oxigênio causando modificações estruturais no lipídeo (VALENZUELA; NIETO, 2001).

A tendência que normalmente se verifica é de um acréscimo no valor do índice de peróxido nas primeiras vinte horas do processo de fritura, seguido de uma redução, indicando que a decomposição de hidroperóxidos ocorre numa velocidade maior que a da sua formação (WITSCHINSKI; GHISLENI; VALDUGA, 2012).

## Índice de Acidez

A análise de índice de acidez demonstra mudanças nas concentrações de íons hidrogênio. O aumento da acidez na amostra evidencia processos de alterações na estrutura dos óleos, isto é, a hidrólise e oxidação, que são aceleradas pela ação conjunta dos fatores, luz, aquecimento e umidade do produto utilizado no processo (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

A determinação da acidez pode fornecer um dado importante para a avaliação do estado de conservação do óleo. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, podendo alterar a concentração dos íons hidrogênio (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

A decomposição das gorduras através da lipase é acelerada por luz e calor, com formação de ácidos graxos livres que causam um sabor-odor desagradáveis. Porém, em gorduras com ácidos graxos não-voláteis, o sabor-odor característico não aparece juntamente com a deterioração. Neste caso, é muito importante a medida quantitativa dos ácidos graxos livres para a determinação do grau de deterioração (CECCHI, 2003).

## Índice de Iodo

Segundo Maia (2006), quanto maior o índice de iodo, maior o número de duplas ligações (insaturações) presentes no óleo, sendo assim, há maior

probabilidade da amostra ser considerada um óleo do que uma gordura, pois, é notória que os óleos possuem um maior grau de insaturação do que as gorduras, o que justifica o estado físico dela à temperatura ambiente (25 °C).

O índice de iodo de um óleo é a medida do seu grau de insaturação, é expresso em termos do número de centigramas de iodo absorvido por grama da amostra (% iodo absorvido). O Wijs é o método aplicável a todos os óleos e gorduras que não contenham ligações duplas conjugadas (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Cada óleo possui um respectivo intervalo característico no valor do índice de iodo. A fixação do iodo ou de outros halogênios ocorre nas ligações etilênicas dos ácidos graxos (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

## Índice de Saponificação

O índice de saponificação de um óleo ou gordura é determinado com o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para a neutralização dos ácidos graxos resultantes da hidrólise de 1 g de amostra, indicando a quantidade relativa de ácidos graxos de alto e baixo peso molecular (CECCHI, 2007).

É utilizado para estimar o peso molecular médio dos ácidos graxos que constituem a gordura, pois a cada um grama de gordura compõe-se uma quantidade maior de ácidos graxos, se estes são de cadeia curta (RIBEIRO, 2004).

Esse procedimento inclui o aquecimento da solução alcoólica de hidróxido de potássio em excesso, contendo uma quantidade conhecida da amostra, até a completa saponificação. O excesso de base é então titulado como ácido clorídrico padronizado (ARAÚJO, 2006).

## 2.3 BATATA PRÉ-FRITA CONGELADA

A batata (*Solanum tuberosum L.*) é uma das culturas alimentares mais consumidas. No Brasil é uma das hortaliças que apresentam maior relevância econômica, com uma produção anual de aproximadamente 3,5 milhões de toneladas, onde a maior parte da produção é comercializada *in natura*, sendo uma parcela destinada ao processamento industrial, nas formas de pré-frita congelada, chips e batata palha (EMBRAPA, 2016).

A rotina diária acelerada do mundo globalizado vem fazendo com que o alimento do tipo expresso ganhe notoriedade, visando agilidade no preparo e



realização das refeições. Nessa perspectiva, a batata pré-frita congelada se destaca como forte opção de consumo (JESUS et al., 2016).

Na produção de batatas pré-fritas congeladas, as batatas *in natura* são submetidas ao fatiamento, seguidas para o branqueamento, feito através da imersão das batatas em água fervente por um minuto e posterior mergulho em água fria por dois minutos. A temperatura utilizada na pré-fritura é de 140 a 150 °C, estas batatas são embaladas e congeladas a -18 °C (MALDONADE; CARVALHO; FERREIRA, 2013).

### 3. METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada por meio de uma fritura utilizando óleo de soja e com o acompanhamento da degradação do mesmo durante este tempo, através da determinação dos índices de peróxido, acidez, iodo e saponificação. Além da avaliação inicial e final do produto utilizado na fritura, verificando mudanças de cor, umidade, atividade de água e absorção de óleo. Todas as análises foram executadas nos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina.

O óleo de soja escolhido para o experimento foi da marca, Cocamar® 900 mL, embalado em garrafa PET. Sua composição era constituída de óleo vegetal de soja (geneticamente modificada a partir de *Agrobacterium Sp*) e dos antioxidantes, TBHQ e Ácido Cítrico. A marca escolhida de batatas pré-fritas congeladas para a fritura no estudo foi a RapiPad® tradicional. Sua lista de ingredientes era composta por batatas, óleo vegetal, dextrose, estabilizador INS – 450 (pirofosfato ácido de sódio) e era de origem argentina.

#### 3.1 MÉTODOS

##### Condições de Fritura

A fritura aplicada na batata pré-frita congelada foi realizada com o uso de 3,5 litros de óleo de soja, em fritadeira elétrica aberta, Progás de inox com dois cestos, a 180 °C, sem reposição do óleo pelo período de três horas continuamente. Foram adicionados 200 gramas de batata congelada que eram fritas durante três minutos, então retiradas e esperava-se mais sete minutos para a adição de mais batatas. A temperatura do procedimento foi controlada por um termômetro

digital tipo espeto da marca Incoterm. O óleo ficou em todo momento exposto a 180 °C, luz, oxigênio e a água proveniente do alimento. A cada uma hora de fritura eram retirados 60 mL de óleo com auxílio de uma proveta de 100 mL e uma concha utilizada na transferência do material ainda quente.

## 3.2 ANÁLISE DO ÓLEO DE SOJA

### Índice de peróxido

A determinação do índice de peróxido foi realizada seguindo a metodologia do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008), que determina todas as substâncias, em termos de miliequivalentes de peróxido por 1000 g de amostra, que oxidam o iodeto de potássio. Foram pesados cinco gramas de amostra em um frasco Erlenmeyer de 250 mL, com a adição de 30 mL da solução de ácido acético-clorofórmio 3:2 até a dissolução da amostra, e 0,5 mL de solução saturada de KI. Após este período, foram acrescentados 30 mL de água e um mL da solução indicadora de amido 1% (m/v). A titulação ocorreu com a adição gota a gota de tiosulfato de sódio 0,01 N, em constante agitação, a titulação terminou quando houve o desaparecimento da coloração azul.

### Índice de Acidez

A determinação consistiu na pesagem de dois gramas da amostra, com adição de 25 mL da solução éter etílico e álcool etílico (2:1) e duas gotas do indicador fenolftaleína, a titulação com o hidróxido de sódio 0,1 N e prosseguiu até o aparecimento da coloração rósea (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

### Índice de Iodo

Foram pesados aproximadamente 0,25 gramas de amostra em um Erlenmeyer de 500 mL, com a adição de 10 mL de ciclohexano, 25 mL de solução de Wijs, com agitação cuidadosa, esta mistura foi deixada sob repouso ao abrigo da luz e à temperatura ambiente, por 30 minutos. Foram adicionados 10 mL da solução de iodeto de potássio 15% e 100 mL de água recentemente fervida e fria, e um mL de solução indicadora de amido 1% (m/v). A titulação com a solução de tiosulfato de sódio 0,1 N, terminou com o completo desaparecimento da cor azul. Foi preparada uma determinação em branco seguindo os mesmos

procedimentos para que fosse possível a realização do cálculo (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

## Índice de Saponificação

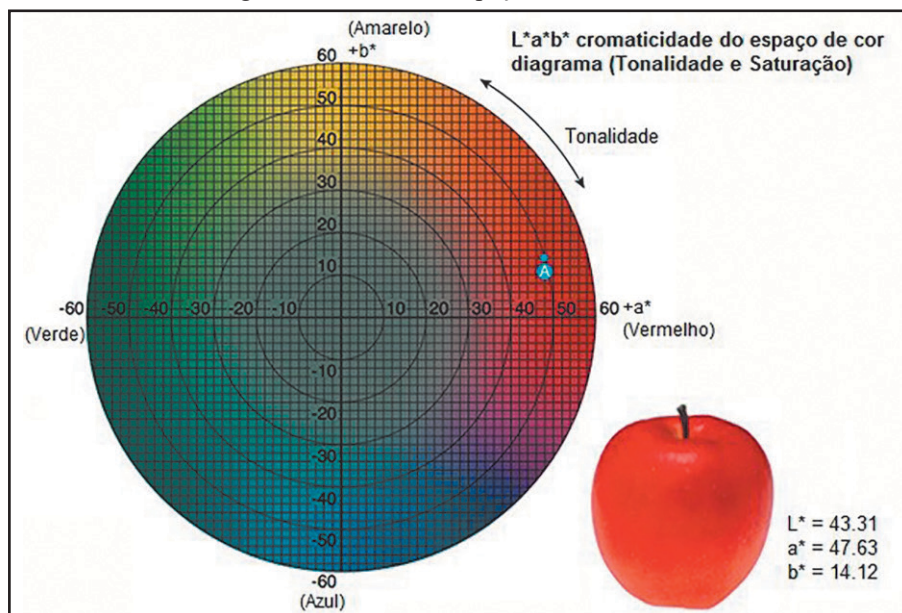
A determinação consistiu na pesagem de cinco gramas da amostra em um balão de fundo chato de 250 mL, com adição posterior de 50 mL de solução alcoólica de KOH, um branco foi preparado e analisado simultaneamente. A amostra foi deixada sob refluxo durante 1 hora até a completa saponificação dela. Após o resfriamento do frasco, foi adicionado 4 gotas do indicador fenolftaleína e a titulação foi realizada com a solução de ácido clorídrico 0,1 N até o desaparecimento da cor rósea (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

## Análise de cor

A análise de cor do óleo foi realizada utilizando-se o colorímetro digital (KONICA MINOLTA – Chroma Meter CR-400). As amostras de óleo foram dispostas em uma placa de Petri para a leitura de cor em 12 pontos escolhidos aleatoriamente, visando uma ampla coleta de dados.

O método de avaliação utilizado foi o CIELAB (Commission Internationale de l'Eclairage), o qual define que o espaço de cor  $L^*a^*b^*$  são correlacionados com os valores de cor da percepção visual. Para que a cor avaliada seja precisa, é necessária a ordenação em termos de tonalidade, luminosidade e saturação, através de escalas (KONICA MINOLTA, 2019). A Figura 2 mostra ilustrativamente onde se encaixam os eixos em um gráfico de colorimetria. O sistema CIELAB determina as coordenadas constantes no espaço tridimensional de cor, sendo que “ $L^*$ ” é a luminosidade, que varia do preto total (0) ao branco total (100) e “ $a^*$ ” e “ $b^*$ ” contêm as informações de croma, onde “ $a^*$ ” corresponde a um eixo que varia do vermelho ao verde e “ $b^*$ ” é um eixo que varia do amarelo ao azul (HUNTERLAB, 1996; MINOLTA, 1998).

Figura 2 – Gráfico de espaço de cor CIELAB



Fonte: Konica Minolta (2019).

### 3.3 ANÁLISES DAS BATATAS FRITAS

Para as análises das batatas fritas, foram coletados 200 gramas de amostra para cada hora de fritura em óleo de soja, nestas foram analisadas, em triplicata, a atividade de água, umidade e a quantidade de absorção de óleo após o período de fritura. A cor foi determinada com o colorímetro Konica Minolta CR-400 em três pontos diferentes de 20 amostras de batata, pois devido à diferença de tamanho e espessura das batatas (forma palito) a fritura não apresentou uniformidade de cor.

#### Atividade de água

A atividade de água foi determinada a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1$  utilizando o higrômetro elétrico de medida direta (AQUALAB 4TE, Decagon CX-2, Pullman, Estados Unidos) aferido com água destilada, quantificando as amostras em triplicata no início e a cada 1 hora de fritura.

## Umidade

A umidade foi realizada seguindo a metodologia da AOAC (2016). As cápsulas utilizadas no experimento foram taradas previamente em estufa por 3 horas a 105 °C, as amostras foram então coletadas em triplicata no tempo inicial e depois sucessivamente a cada uma hora de fritura, trituradas e pesadas 5 gramas em cada cápsula. A determinação aconteceu pela submissão das amostras em estufa para secagem a 105 °C com circulação de ar durante 5 horas.

## Absorção de óleo

A quantificação de lipídios das amostras de batata frita foi realizada seguindo metodologia da AOAC (2016), onde foram moídas e pesadas cerca de 0,5 gramas dentro de cartuchos de papel filtro, estes levados à estufa para secagem, durante 2 horas. Os cartuchos em triplicata foram dispostos dentro dos extratores de Soxhlet e deixados sob refluxo com o reagente éter de petróleo durante 30-60 °C. Ao final foram colocados em estufa para secagem durante 1 hora a 105 °C e pesados em balança analítica para realização dos cálculos.

## 3.4 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados obtidos foram avaliados por Análise de Variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%, com auxílio do software Statistica TM.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A temperatura utilizada no processo de fritura foi escolhida com base na legislação que estabelece 180 °C como a temperatura máxima, pois temperaturas excessivamente altas causam alterações térmicas, com a liberação de compostos voláteis e a formação de monômeros cíclicos, dímeros e polímeros. Além da exposição do óleo ao oxigênio e umidade oriunda do alimento que também provocam reações de hidrólise e oxidação.

Na Tabela 2 são apresentados os dados das análises dos índices de saponificação, acidez, iodo e saponificação, realizadas no óleo sem fritura e submetido

a esse processo, a cada hora. Durante o processo de fritura, o óleo de soja não apresentou diferença significativa em nenhum dos índices avaliados.

O processo de oxidação dos óleos é dividido em duas etapas, na iniciação, são formados radicais, em condições de exposição à luz e calor. A propagação é a etapa em que os radicais livres são sujeitos a influências exteriores, de luz, calor e oxigênio, sendo transformados em outros radicais, formando peróxidos e hidroperóxidos, e diversos produtos primários de oxidação (BORGIO; ARAÚJO, 2005; RAMALHO; JORGE, 2006).

Tabela 2 – Qualidade do óleo de soja refinado durante a fritura

Índices	Tempo de fritura (h)			
	Inicial	1h	2h	3h
Peróxido (mEq.kg <sup>-1</sup> )	2,60 ± 0,18 <sup>a</sup>	2,09 ± 0,21 <sup>a</sup>	2,18 ± 0,18 <sup>a</sup>	2,46 ± 0,21 <sup>a</sup>
Acidez (mg/KOH)	0,01 ± 0,007 <sup>a</sup>	0,03 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,03 ± 0,0003 <sup>a</sup>	0,03 ± 0,0001 <sup>a</sup>
Iodo (gI <sub>2</sub> /100g)	146,0 ± 1,02 <sup>a</sup>	143,6 ± 2,09 <sup>a</sup>	141,7 ± 2,11 <sup>a</sup>	139,8 ± 2,59 <sup>a</sup>
Saponificação (mg KOH/g)	212,6 ± 0,68 <sup>a</sup>	211,8 ± 0,054 <sup>a</sup>	211,1 ± 1,24 <sup>a</sup>	210,2 ± 1,84 <sup>a</sup>

Média em triplicata ± desvio padrão. Letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey (ANOVA).

Fonte: Autoria Própria (2019).

Diversos pesquisadores constataram que óleos submetidos ao processo de fritura apresentaram comportamentos instáveis principalmente o índice de peróxido, e justificaram que isso se deve ao fato de que os peróxidos são substâncias que se decompõem rapidamente em produtos secundários de oxidação nas temperaturas usuais dos processos de fritura (VERGARA et al., 2006).

Não houve diferença significativa entre os tempos de fritura, isto pode ser atribuído à composição do óleo de soja da marca COCAMAR, já que este contém em sua composição antioxidante TBHQ. O TBHQ é considerado um dos melhores antioxidantes para utilização em óleos de fritura, pois além de resistir ao calor, proporciona uma excelente estabilidade para os produtos fritos (RAMALHO; JORGE, 2006).

O índice de acidez leva em consideração as degradações hidrolíticas, oxidativas ou térmicas que por consequência alteram a concentração de íons hidrogênio assim como as cadeias orgânicas dos ácidos graxos, que por resultado causam alterações indesejáveis. (MENDONÇA et al., 2008).

Os resultados referentes ao índice de acidez apresentaram valores bem abaixo aos descritos nas legislações, a qual preconiza máximo de 0,20 miligramas de KOH, por grama de amostra de óleo, sendo que os valores encontrados não foram superiores a 0,03, e isso se deve ao fato da presença de antioxidantes na composição do óleo e ao tempo do processo de fritura, o qual foi de apenas 3 horas.

A velocidade de formação dos ácidos graxos livres é influenciada por vários fatores, entre os quais a temperatura de fritura, a quantidade de água liberada pelo alimento que está sendo frito, o número de vezes de aquecimento e resfriamento do óleo e a quantidade de partículas queimadas provenientes do alimento (ARAÚJO, 2008).

Os resultados das análises se assemelham aos resultados de Jorge e Lunardi (2005), que obteve amostras de diferentes óleos submetidos à fritura doméstica, a 180 °C, de batata *in natura*, com retirada de amostras a cada 25 minutos do procedimento, onde foram verificados que os valores de ácidos graxos livres não diferiram entre si para o óleo de soja no tempo de fritura 1,5 horas, e apenas começaram a aumentar após as 7,5 horas de fritura.

O índice de iodo permaneceu dentro do valor de referência comercial, o qual deve ser superior a 120 gI<sub>2</sub>/100g, sugerindo que as insaturações das cadeias lipídicas não foram afetadas significativamente. Rampazzo (2015) analisou por cromatografia diversos óleos de origem vegetal, sem tratamento térmico e submetidos a 180 °C durante 8 horas, onde observou que o óleo de soja apresentou um maior número de insaturações nas amostras sem o tratamento térmico do que após o tratamento térmico.

O índice de saponificação do óleo de soja, segundo ANVISA (2007), deve apresentar os valores entre 180-200 mg KOH/g. O índice de saponificação é considerado inversamente proporcional à massa molar média dos ácidos graxos presentes nos triacilgliceróis, é proficiente na identificação de adulteração com outros óleos e gorduras, que contém ácidos graxos com tamanhos diferentes ao óleo de soja, ou até mesmo com material insaponificável, como parafina e óleo mineral (GRANATO; NUNES, 2016). Com os valores observados nesse experimento foi constatado que no óleo de soja utilizado não havia adulteração e que o processamento de fritura não afetou a massa molecular dos ácidos graxos presentes.

Nos resultados de análise de cor (Tabela 3), foram observadas diferenças estatísticas nos três parâmetros avaliados. A luminosidade, representada pelo parâmetro  $L^*$ , foi diminuindo durante o processo de fritura, ou seja, o óleo tornou-se mais escuro ao final do tratamento térmico. O parâmetro  $a^*$  negativo indicou que a cor do óleo de soja refinado tende para a tonalidade verde, a qual perdeu um pouco da intensidade até 2 horas de fritura, mas com 3 horas de processo a cor verde tornou-se mais intensa. O parâmetro  $b^*$  positivo indicou tendência para a tonalidade amarela, a qual foi intensificada ao final do período analisado. Todas essas variações de intensidades podem ser justificadas pelo tempo ao qual o óleo de soja foi exposto a várias alterações térmicas.

Tabela 3 – Análise de cor do óleo de soja refinado durante a fritura

Cor	Tempo de fritura (h)			
	Inicial	1h	2h	3h
$L^*$	$47,88 \pm 1,48^a$	$46,35 \pm 0,54^b$	$45,26 \pm 1,38^b$	$42,21 \pm 1,44^c$
$a^*$	$-1,89 \pm 0,21^a$	$-1,27 \pm 0,20^b$	$-1,31 \pm 0,16^b$	$-1,82 \pm 0,12^a$
$b^*$	$6,09 \pm 0,66^b$	$5,17 \pm 1,06^b$	$5,35 \pm 0,88^b$	$8,72 \pm 1,33^a$

Média em triplicata  $\pm$  Desvio padrão. Letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey (ANOVA).

Fonte: Autoria Própria (2019).

A atividade de água é um fator de grande importância a ser considerado na composição dos alimentos, esta atividade vai determinar como o alimento se comportará, durante sua vida útil, pois dependendo da quantidade de água livre presente no alimento, este vai estar mais propenso ao desenvolvimento de micro-organismos.

As leituras da atividade de água presente nas batatas (Tabela 4) apresentaram o maior valor no tempo inicial, havendo diferença estatística significativa com o processamento da fritura. Todos os resultados se apresentaram acima de 0,95, faixa onde a água do alimento está passível de ser utilizada em reações químicas, enzimáticas e para o desenvolvimento de micro-organismos (FOOD SAFETY BRASIL, 2016). No entanto, produtos fritos por imersão, onde se obtém crocância externa e maciez interna, são alimentos para serem consumidos imediatamente, para evitar alterações na sua textura.



Tabela 4 – Atividade de água das batatas pré-fritas e congeladas e fritas por imersão

	<b>Tempo de fritura (h)</b>			
	<b>Inicial</b>	<b>1h</b>	<b>2h</b>	<b>3h</b>
<b>Aw</b>	0,9869 ± 0,0011 <sup>a</sup>	0,9726 ± 0,0048 <sup>b</sup>	0,9758 ± 0,0015 <sup>b</sup>	0,9742 ± 0,0015 <sup>b</sup>

Média em triplicata ± desvio padrão. Letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey (ANOVA).

Fonte: Autoria Própria (2019).

Os valores de umidade das batatas fritas durante as frituras tiveram diferença significativa no tempo inicial em comparação ao restante do tempo, sendo maior no início, pois as batatas possuíam grande quantidade de água em sua estrutura, apresentando 72,9% de umidade (Tabela 5). Este valor foi menor do que o encontrado no trabalho de Jorge e Lunardi (2005), onde na batata *in natura* apresentou 83,8% de umidade. Isso é explicado, pois batatas congeladas são branqueadas e fritas previamente ao congelamento, onde ocorre perda de água.

Tabela 5 – Umidade das batatas pré-fritas e congeladas e fritas por imersão

	<b>Período (h)</b>			
	<b>Inicial</b>	<b>1h</b>	<b>2h</b>	<b>3h</b>
<b>Umidade (%)</b>	72,9 ± 0,39 <sup>a</sup>	48,5 ± 1,33 <sup>b</sup>	44,7 ± 1,00 <sup>b</sup>	41,8 ± 4,30 <sup>b</sup>

Média em triplicata ± desvio padrão. Letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey (ANOVA).

Fonte: Autoria Própria (2019).

Após as frituras, os teores de umidade foram menores do que o produto inicial, sendo que a perda de umidade nas batatas fritas correspondeu a 33,47%; 38,68% e 42,66%, respectivamente, em relação às batatas pré-fritas e congeladas. Durante a fritura, diversas reações de transferência ocorrem, sendo elas, de calor do óleo para o alimento, deslocamento da massa de umidade e da absorção do óleo pelo alimento, sendo um processo semelhante à desidratação. As batatas sofrem uma diminuição da umidade, pois a fritura é um processo que provoca a evaporação da água, que ocasiona a desidratação dos tecidos onde auxilia na formação da crosta, característica de produtos fritos (FELLOWS, 2019).

Os resultados obtidos com a extração de lipídeos das amostras de batata frita são apresentados na Tabela 6, nela é possível observar que após o início da fritura o teor de óleo aumentou, havendo diferença significativa entre o início e o restante da fritura. A absorção do óleo pelas batatas nos tempos de uma e duas horas dobrou em comparação com o início, e nas três horas triplicou, demonstrando que a capacidade de absorção de óleo pelas batatas com o passar do tempo é aumentada.

Tabela 6 – Extração do óleo das batatas pré-fritas e congeladas e fritas por imersão.

	<b>Período (h)</b>			
	<b>Inicial</b>	<b>1h</b>	<b>2h</b>	<b>3h</b>
<b>Óleo extraído (%)</b>	5,20 ± 0,33 <sup>b</sup>	12,70 ± 1,59 <sup>a</sup>	11,97 ± 1,14 <sup>a</sup>	17,35 ± 1,11 <sup>a</sup>

Média em triplicata ± desvio padrão. Letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey (ANOVA).

Fonte: Autoria Própria (2019).

O óleo que permanece sob aquecimento em temperatura elevada sofre alterações também na viscosidade e densidade ocasionando maior absorção lipídica pelo alimento. Jorge e Lunardi (2005) observaram numa fritura a 175 °C, que as batatas fritas tiveram em média o teor lipídico de 29,26%, após 8,5 horas de fritura. No entanto, ressaltaram que o óleo de soja foi o óleo com a menor absorção lipídica, em comparação com os óleos de girassol e milho.

Na análise de cor das batatas fritas (Tabela 7), a luminosidade não apresentou diferença significativa em nenhum dos tempos avaliados, e todos os produtos são claros. Coleman (2004) classificou a luminosidade da batata após a fritura como sendo de qualidade inaceitável ( $L^* < 55$ ); aceitável ( $L^* \geq 55$  e  $\leq 70$ ) e de alta qualidade ( $L^* > 70$ ), assim, todas as batatas fritas foram aceitáveis, sendo que a frita após 1h de utilização do óleo está classificada como de alta qualidade.

Tabela 7 – Análise de cor das batatas pré-fritas e congeladas e fritas por imersão.

Cor	Tempo de fritura (h)			
	Inicial	1h	2h	3h
L*	67,86 ± 2,90 <sup>a</sup>	70,85 ± 4,91 <sup>a</sup>	67,37 ± 6,63 <sup>a</sup>	66,25 ± 5,72 <sup>a</sup>
a*	- 2,92 ± 0,54 <sup>b</sup>	- 0,935 ± 1,61 <sup>a</sup>	- 0,809 ± 1,94 <sup>a</sup>	- 0,061 ± 2,82 <sup>a</sup>
b*	14,53 ± 2,72 <sup>b</sup>	29,93 ± 3,64 <sup>a</sup>	26,96 ± 4,13 <sup>a</sup>	28,43 ± 4,50 <sup>a</sup>

Média em triplicata ± desvio padrão. Letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey (ANOVA).

Fonte: Autoria Própria (2019).

Os parâmetros a\* e b\* apresentaram diferença significativa entre os produtos fritos e a batata pré-frita e congelada. Com a fritura, os produtos perderam a intensidade verde, diminuindo os valores de a\* negativo e intensificaram a cor amarela, b\* positivo.

## 5. CONCLUSÃO

O óleo de soja refinado utilizado na fritura de batatas pré-fritas e congeladas não apresentou diferença significativa nos índices de peróxido, acidez, iodo e saponificação, demonstrando que não houve degradação do óleo durante o período de três horas nas condições avaliadas e que se encontra apto para continuar sendo utilizado em frituras. A luminosidade do óleo diminuiu com o tempo da fritura, tornando-o mais escuro após 3h de uso, os parâmetros a\* e b\* representaram as cores verde e amarela, respectivamente, cujas intensidades aumentaram no final do tempo analisado.

Durante o processamento da fritura, as batatas pré-fritas e congeladas apresentaram diminuição da atividade de água e de umidade e absorção de óleo. A perda de umidade dos produtos foi de 57,34% comparando as batatas não fritas e as batatas fritas em óleo utilizado por 3 horas. A absorção de óleo pelas batatas durante o processo de fritura foi comprovada, pois ao final do período analisado o teor de lipídios nas batatas aumentou três vezes. O parâmetro L\* nas batatas não diferiu e caracterizou o produto como claro, o parâmetro a\* representou a cor verde e diminuiu com a fritura, enquanto que o parâmetro b\* foi intensificado e representou a cor amarela.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Departamento Acadêmico de Alimentos e ao Laboratório Multiusuário da UTFPR Câmpus Londrina.

## REFERÊNCIAS

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. 20 ed. (2016).

ARAÚJO, J. M. A. Consequências Biológicas da Oxidação de Lipídios. In: \_\_\_\_\_. **Química de Alimentos**. 3ª Edição. Viçosa: Editora UFV. 2006.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: Teoria e prática**. 4ª ed. Viçosa: Editora UFV. 2008. p. 596.

BORGO, L.A., ARAÚJO W.M.C. Mechanisms of the process of lipid oxidation. **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 30, p. 50-58, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Informe técnico nº11: Regulamenta Técnicas de Boas Práticas para Serviços de Alimentação de 05 de outubro de 2004**. Brasília, DF, 2004a.

\_\_\_\_\_. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada nº 216: Regulamenta Técnicas de Boas Práticas para Serviços de Alimentação de 15 de setembro de 2004**. Brasília, DF, 2004b.

CECCHI, H. M. Lipídeos. In: \_\_\_\_\_. **Fundamentos Teóricos e práticos em análise de Alimentos**. 2ª Edição. Campinas: Editora Unicamp. 2007.

COLEMAN, W.K. Comparative performance of the L\* a\* b\* colour space and North American colour charts for determining chipping quality in tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). **Agriculture and Agri-Food Canada**, Potato Research Centre, P.O. Canada, June, 2003.

EMBRAPA. **Sistema de produção da batata. Embrapa hortaliças**, 2ª ed., 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/hortalicas/batata>. Acesso em: 10 nov. 2019.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos**. 4ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2019.

FERREIRA, P. B. et al. **O Mercado de Batatas Congeladas no Brasil – Estudo de Caso: Batatas MCCAIN**. Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural. Rio Branco – Acre, jul de 2008.

FOOD SAFETY BRASIL. **A diferença entre Atividade de Água (Aw) e o Teor de Umidade nos alimentos**. 2016. Disponível em: <https://foodsafetybrasil.org/diferenca-entre-atividade-de-agua-aw-e-o-teor-de-umidade-nos-alimentos/>. Acesso em: 10 nov. 2019.

GRANATO, D.; NUNES, D.S. **Análises químicas, propriedades funcionais e controle de qualidade de alimentos e bebidas: uma abordagem teórica-prática**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

HIDALG, F.; NOGALES, F.; ZAMORA, R. The role of amino phospholipids in the removal of the cito-and geno-toxic aldehydes produced during lipid oxidation. **Food Chemistry Toxicology**, v. 46, n. 1, p. 43-8, 2007.

HUNTERLAB. **CIELAB color scale: applications note**, v.8, n.7, 1996. Acesso em 12 de setembro de 2004. On line. Disponível em: [http://www.hunterlab.com/color\\_theory.php](http://www.hunterlab.com/color_theory.php). Acesso em: 11 nov.2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4ª Edição, São Paulo. 2008. 1020p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/ial/publicacoes/livros/metodos-fisico-quimicos-para-analise-de-alimentos>. Acesso em: 21 maio 2019.

JESUS, J.H. et al. Teor de Lipídios da Batata Pré-Frita: Fritura em Diferentes óleos. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 151-164, jan.-jun., 2016.

JORGE, N.; LUNARDI, V.M. Influência dos Tipos de Óleos e Tempos de Fritura na Perda de Umidade e Absorção de Óleo em Batatas Fritas. **Ciênc. Agrotec.**, v. 29, n. 3, p. 635-641, 2005.

JORGE, N. et al. Alterações físico-químicas dos óleos de girassol, milho e soja em frituras. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 947-951, 2005.

JORGE, N. **Química e Tecnologia de Óleos Vegetais**. Cultura Acadêmica: Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2009. p. 83-98.

KONICA MINOLTA. **Entendendo o Espaço de Cor L\*a\*b\***. Disponível em: <http://sensing.konicaminolta.com.br/2013/11/entendendo-o-espaco-de-cor-lab/>. Acesso em: 26 out. 2019.

LIMA, F.E.L. et al. Ácidos Graxos e Doenças Cardiovasculares: Uma Revisão. **Revista de Nutrição**, v. 13, n. 2, p. 73-80, maio/ago., 2000.

MAIA, E.L. Material Didático Teórico – **Tecnologia do Pescado I**, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

MALDONADE, I.R.; CARVALHO, P.G.B. de; FERREIRA, N.A. **Produção de batata pré-frita congelada**. 2013. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-depublicacoes/-/publicacao/956362/producao-de-batata-pre-frita-congelada>. Acesso em: 11 nov. 2019.

MENDONÇA, M.A. et al. Alterações físico-químicas em óleos de soja submetidos ao processo de fritura em unidades de produção de refeição no Distrito Federal. **Comunicação em Ciências e Saúde**, v. 19, n. 2, p. 115-122, 2008.

MINOLTA. **Precise color communication: color control from perception to instrumentation**. Japan, 1998. 59p.

OSAWA, C.C.; GONÇALVES, L.A.G.; MENDES, F.M. Avaliação dos Óleos e Gorduras de Fritura de Estabelecimentos Comerciais da Cidade de Campinas/

SP. As Boas Práticas de Fritura Estão Sendo Atendidas? **Alimentos e Nutrição**, Araraquara v.21, n.1, p. 47-55, jan./mar. 2010.

RAMALHO, V.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-60, 2006.

RAMPAZZO, V. **Avaliação da Degradação Térmica de Óleos Vegetais por Termogravimetria, Cromatografia Gasosa e Espectroscopia de Infravermelho Médio**. 2015. 94 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

RIBEIRO, E. P. **Química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2004.

SEIBEL, N. F. Óleo de soja. In: \_\_\_\_\_. **SOJA: cultivo, benefícios e processamento**. Curitiba: CRV, 2018, p. 119-145.

VALENZUELA, A.B.; NIETO, S.K. Los antioxidantes: protectores de la calidad en La industria alimentaria. **Asociación Argentina de Grasas y Aceites**. Libro 10° Aniversario. Recopilación de Artículos Técnicos de 1990 - 2000. Ed 1 - 41, Tomo III, p. 85 – 94, 2001.

VERGARA, P. et al. Estudo do comportamento de óleo de soja e de arroz reutilizados em frituras sucessivas de batata. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. v. 24, n. 1, p. 207-220, jun., 2006.

WITSCHINSKI, F.; GHISLENI, C.P.; VALDUGA, E. Alterações do Óleo de Soja em Fritura Descontínua de Produtos Empanados Congelados em uma Unidade de Alimentação e Nutrição. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 23, n. 3, p. 499-505, jul./set. 2012.

## **MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE SEMENTE DE UVA POR *SPRAY DRYING***

*Kelly Cristina da Silva  
Cláudio Takeo Ueno  
Lyssa Setsuko Sakanaka  
Marianne Ayumi Shirai*

### **1. INTRODUÇÃO**

O consumo de alimentos funcionais está em constante crescimento e vem sendo aceito cada vez mais pelos consumidores de diferentes classes sociais e faixas etárias. Entre estes alimentos destacam-se compostos bioativos como vitaminas, minerais e ácidos graxos. Esses compostos têm diferentes benefícios e são de diversas naturezas fazendo com que o seu processamento ou armazenamento seja um desafio para as indústrias (PAUCAR et al., 2016).

Uma das frutas mais cultivadas no mundo é a uva, sendo que 80% da produção é destinada à produção de vinho e suco, originando uma grande quantidade de subprodutos como a casca e a semente. Com o objetivo de maximizar o aproveitamento dos subprodutos, as indústrias estão investindo em novos processos onde permite unir a produtividade com a eficiência ambiental. Deste modo, destaca-se o reaproveitamento das sementes de uva para a extração do óleo, que são ricos em ácidos graxos poli-insaturados e apresentam antioxidantes naturais, como os polifenóis e vitamina E (FREITAS, 2007; MELLO, 2012). Além disso, as sementes são ricas em compostos fenólicos, como os flavonoides, que apresentam atividade antioxidante e contribuem para



prevenção de diversas enfermidades cardiovasculares, cancerígenas e doenças neurológicas (ROCKENBACH et al., 2008).

A microencapsulação é um processo onde os compostos (sólidos, líquidos e gases) são revestidos com finas membranas de polímeros, com o objetivo de proteger os compostos sensíveis de condições adversas como luz, ar, umidade, temperatura. Desta maneira o produto é estabilizado, promovendo sua liberação controlada e aumentando sua vida útil. A substância encapsulada é denominada núcleo e o material utilizado, cobertura ou material de parede (RAMOS, 2006; SUAVE et al., 2006).

A microencapsulação por *spray drying* é uma tecnologia utilizada em diversos segmentos industriais e na alimentícia é empregada para melhorar a estabilidade de diferentes compostos e manter o seu valor nutritivo. Esta tecnologia consiste na nebulização de uma mistura em estado líquido dentro de uma câmara mantida a uma corrente controlada de ar quente. A evaporação do solvente produz gotículas que se solidificam obtendo o material em pó formando as micropartículas (RAMOS, 2006; VITALI et al., 2008; OLIVEIRA; PETROVICK, 2009).

Desta maneira, a microencapsulação do óleo de semente de uva por *spray drying* seria interessante para possibilitar a sua aplicação em diferentes alimentos. Além disso, na forma encapsulada este composto estaria protegido de condições drásticas de processamento como calor, variação de pH, pressão, temperatura e luz, reduzindo a perda de nutrientes e a formação de sabor e odor desagradáveis (RAMOS, 2006; VITALI et al., 2008).

O objetivo deste trabalho foi microencapsular o óleo de semente de uva pela técnica de *spray drying* utilizando a goma arábica como material de parede. Nas partículas obtidas foram determinados a distribuição de tamanho, higroscopicidade, densidade, atividade de água e eficiência de encapsulação das micropartículas obtidas.

## 2. UVA

A uva é uma das frutas mais antigas do mundo e também uma das mais produzidas, sendo originada da América do Norte e Eurásia, mas a origem das primeiras produções de vinhos é incerta. A evolução da viticultura (ciência que estuda a produção da uva) ocorreu no século XIX com as pesquisas, que proporcionaram o desenvolvimento da produção de uva para o comércio industrial (RITSCHER; QUECINI, 2015).

As uvas são produzidas pelas videiras que são classificadas botanicamente como *Vitis* spp como mostrado na Figura 1. Há mais de 10.000 tipos no mundo, mas no Brasil são encontrados basicamente duas espécies: um grupo formado pelas uvas comuns ou americanas (*Vitis labrusca* ou híbridas) que são empregadas para o consumo *in natura* e para a produção de vinhos de mesa, sucos e derivados. Outro grupo são as destinadas à produção de vinhos finos ou para mesa pelas uvas europeias ou finas (*Vitis, vinifera*). A maior produção de uvas no Brasil se localiza nas regiões Sul, principalmente no Rio Grande do Sul e Santa Catarina (CAMARGO; NACHTIGAL, 2007; PÖTTER, 2010).

Um cacho de uva pode ser dividido em duas partes: uma parte herbácea, e a outra parte carnosa nomeada de baga ou grão. A herbácea é intitulada como engaço que equivale ao cacho que sustenta as bagas de uva. Sua composição consiste em grande quantidade de água, minerais, taninos e matéria lenhosa. Segundo Böger (2016), o grão ou baga apresenta de 6 a 12% de casca ou película, a qual consiste de um envoltório e em seu interior estão localizadas a polpa (85% a 92%) e as sementes (2 a 5%).

A casca é constituída de antocianinas, ácidos, taninos, substâncias aromáticas. As sementes possuem taninos, ácidos voláteis, substância resinosa e óleo comestível. A polpa abrange a parte mais importante da fruta composta de ácidos, minerais, substâncias pécnicas e compostos fenólicos (AQUARONE et al., 2001; BÖGER, 2016).

Figura 1 – Uva



Fonte: IBRAVIN (2018).

A produção de uvas em 2015 no Brasil teve um aumento de 4,41% em relação ao ano de 2014, onde foram produzidas 1.499.353 toneladas de uvas, mas ocorreu redução de produção nos estados da Bahia, São Paulo e Paraná. Nesses estados, ocorreu a redução da área, além dos fatores climáticos. No Rio Grande do Sul, teve-se um aumento de 7,85% na produção em 2015 (MELLO, 2012).

No primeiro trimestre de 2018, as exportações brasileiras do setor vitivinícola registraram um crescimento em valor de 44%, segundo balanço divulgado pelo Instituto Brasileiro do vinho (IBRAVIN). Os espumantes representam 30% do total e apresentaram um crescimento de 64% em relação ao mesmo período de 2017, sendo o valor médio por litro de US\$ 4,88. Os vinhos por sua vez apontaram um aumento de 37% e o valor médio por litro foi de US\$ 2,25 (IBRAVIN, 2018).

A produção de derivados da uva gera milhões de toneladas de subprodutos, tais como o bagaço de uva, que é constituído pela semente, casca, engaço e restos da polpa da uva. Este resíduo é uma fonte rica de minerais, fibras, ácidos graxos poli-insaturados, compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas, sendo considerado uma importante fonte de compostos bioativos para a aplicação em alimentos (IORA et al., 2015).

No Brasil, o bagaço de uva é geralmente usado na adubação do solo e como complementos para ração animal, sendo que esse não é um meio adequado devido à lenta biodegradabilidade das sementes de uvas no solo e à elevada concentração de fibras que o torna inviável ao consumo animal. Na Europa já é fabricado o óleo de semente de uva desde 1930 e é usado como óleo comestível, na produção de sabonetes finos, sabões e emulsões (FREITAS, 2007).

## 2.1 SEMENTES DE UVA

As sementes de uva apresentam 3% ao peso da uva e representam aproximadamente 15% dos subprodutos sólidos resultantes da indústria vinícola. A partir delas são extraídas o óleo, pois contêm cerca de 7 a 20% de óleo, 35% de fibras, 29% de compostos fenólicos, 11% de proteínas, 3% de minerais e 7% de água. A quantidade de óleo varia de acordo com as condições ambientais e da espécie da uva, conseguindo atingir valores de 10 a 16% do peso seco.

A Europa já consome o óleo de semente de uva como óleo comestível e utiliza como matéria-prima no setor industrial. O mesmo apresenta odor agradável e pode substituir quase todos os óleos vegetais, até mesmo o azeite de oliva, pois

sua digestibilidade (97,2%) é maior do que o óleo de soja (95%) segundo Oliveira et al. (2003).

Comparando o óleo de semente de uva com os de outras sementes, o mesmo contém uma porcentagem alta de taninos, lipídios insaponificáveis e tocoferol (vitamina E). Com isso, o óleo tem maior resistência à peroxidação, sendo um bom ingrediente na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (PEREIRA, 2008; BÖGER, 2016).

O conteúdo de ácido linoleico e oleico é superior em relação aos outros óleos vegetais, sendo uma importante fonte para produção de ácido linoleico conjugado. Estudos apontam que o ácido linoleico conjugado produzido sinteticamente é eficaz na interdição de cânceres e mostrou ser eficaz também na redução da porcentagem de gordura em animais (PEREIRA, 2008).

A vitamina E presente no óleo de semente de uva é um antioxidante lipossolúvel composto de tocoferóis e tocotrienóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\sigma$ ), sendo  $\alpha$ -tocoferol a mais abundante e ativa. Ele impede a oxidação dos radicais livres e reage com o oxigênio, impedindo a transformações dos ácidos graxos insaturados em aldeídos. Além disso, é um dos antioxidantes mais utilizados e auxiliam na prevenção de doenças crônicas e seu emprego em alimentos ajuda na prevenção de doenças cardiovasculares. Desta forma, a grande vantagem na utilização do óleo de semente de uva é de que a matéria-prima é resultante de resíduo industrial (FREITAS, 2007; PEREIRA, 2008; BÖGER, 2016).

## 2.2 MICROENCAPSULAÇÃO

A microencapsulação surgiu ao final da década de 50 e vem sendo explorada desde então, com aplicações em diversas áreas utilizando vários métodos, pois cada um proporciona materiais com propriedades distintas (RAMOS, 2006; GHARSALLAOUI et al., 2007).

A microencapsulação é definida como um processo no qual pequenas partículas ou gotas são envolvidas por uma cobertura, ou são embebidas em uma matriz homogênea ou heterogênea, proporcionando a formação de pequenas cápsulas com várias propriedades. As microcápsulas têm como objetivo proteger compostos ativos de condições adversas como luz, umidade, temperatura, oxigênio, aumentando assim a estabilidade (GHARSALLAOUI et al., 2007).

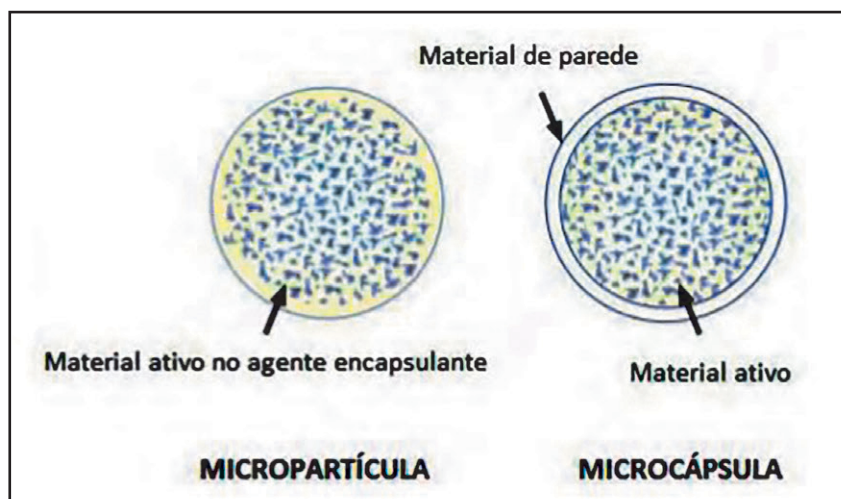
De forma simplificada, uma microcápsula é uma pequena esfera com uma parede uniforme ao seu redor. O material que se encontra no interior da

microcápsula é chamado de núcleo, fase interna ou material ativo, enquanto que o revestimento é denominado de material de parede, cobertura, casca ou membrana (GHARSALLAOUI et al., 2007).

No processamento da microencapsulação pode-se obter dois tipos de estruturas, que diferem pela distribuição do material encapsulado sendo conhecido como micropartícula e microcápsula. Nas micropartículas o material encapsulado permanece uniforme em todo volume da partícula e nas microcápsulas o material é totalmente envolvido pelo material de parede formando um núcleo de material ativo, conforme ilustrado na Figura 2 (SUAVE et al., 2006; GHARSALLAOUI et al., 2007).

A microencapsulação de compostos bioativos vem crescendo nas indústrias alimentícias, pois os ingredientes ativos são encapsulados reduzindo a volatilização dos aromas durante o armazenamento, inibe a reatividade em relação aos fatores ambientais e as interações indesejáveis com outros componentes dos alimentos, diminui as alterações de cor, perda do valor nutricional e a separação de componentes reativos ou incompatíveis e permite uma liberação controlada (BÖGER, 2016).

Figura 2 - Estruturas que podem ser obtidas na microencapsulação



Fonte: Suave et al. (2006).

A microencapsulação de óleos tem como objetivo prevenir a oxidação, a perda de substâncias voláteis e controlar a liberação do aroma. Já foram realizados estudos de microencapsulação de diferentes óleos, tais como óleo essencial

de manjeriço (GARCIA, 2013), óleo de linhaça (CARNEIRO, 2011), óleo de abacate (BAE; LEE, 2008), óleo de semente de uva (BÖGER; GEORGETTI; KUROSZAWA, 2018), dentre outros.

## 2.3 MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY DRYING*

Um dos processos mais utilizados para microencapsulação na indústria de alimentos é o *spray drying*, por ser considerado um processo econômico e flexível, podendo ser realizado em um equipamento de fácil acesso que resulta em partículas de boa qualidade (DZIEZAK, 1988).

A secagem por aspersão ou atomização é um processo contínuo, onde um líquido ou pasta é transformado em um produto seco, na forma de pó, caracterizando-se por um tempo de secagem relativamente curto. O processo consiste basicamente na aspersão do líquido em um compartimento que recebe um fluxo de ar quente, de modo que a rápida evaporação da água permite manter baixa a temperatura das partículas (RÉ, 1998; CARNEIRO, 2011). Além disso, permite obter partículas de qualidade e com custo relativamente baixo comparado com outros processos (DESAI; PARK, 2005).

O método de encapsulação é um processo contínuo, podendo ser resumido em três etapas: atomização, desidratação e obtenção do pó. Na primeira etapa é preparada a emulsão e o líquido é atomizado e pulverizado. A atomização ocorre conforme é lançada no meio gasoso, tomando a forma esférica. Na segunda etapa as partículas são desidratadas por um fluxo de ar quente que evapora a água presente. Finalmente, na terceira etapa as partículas sólidas são coletadas e caracterizadas (FERNANDES et al., 2008; AMERI; MAA, 2006).

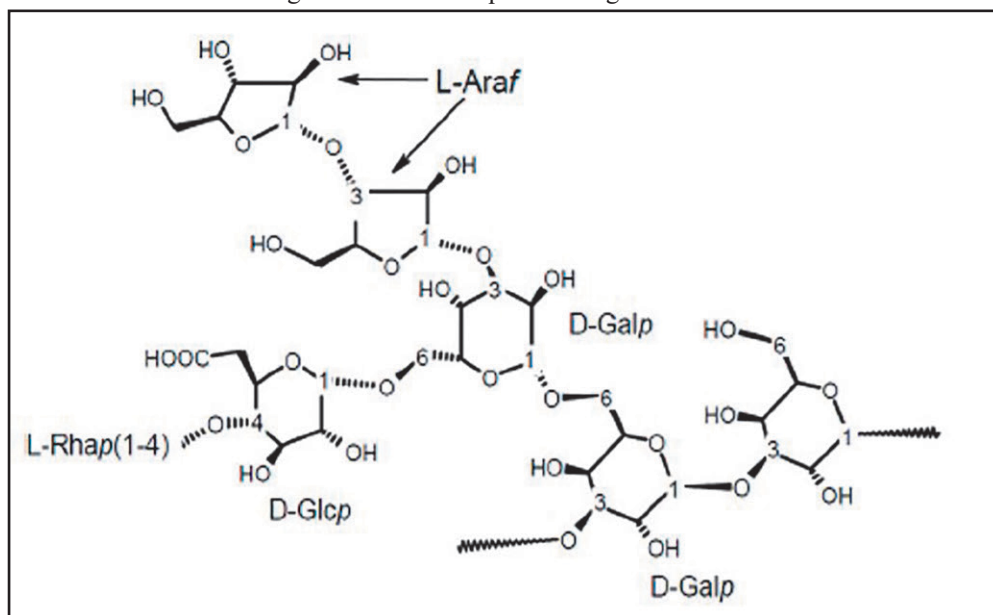
## 2.4 GOMA ARÁBICA COMO MATERIAL DE PAREDE

Conhecida também como goma acácia, a goma arábica (GA) é extraída a partir do exsudado de árvores de Acácia (*Acacia senegal* e *Acacia seyal*) das regiões subdesérticas da África e Sudão. É obtida por um processo manual no período da seca, um fator que compromete a obtenção por depender de fatores climáticos (ROCHA, 2009).

De acordo com a Figura 3, a goma arábica é um heteropolissacarídeo e sua cadeia principal é formada por unidades de D-galactose, unidas por ligações glicosídicas em  $\beta$ -1,3, e apresenta estruturas diferentes em suas cadeias laterais

como D-galactose, L-ramnose, L-arabinose e ácido D-glucurônico, que estão ligadas à cadeia principal por ligações  $\beta$ -1,6 (BEMILLER; WHISTLER, 1996; MCNAMEE; O'RIORDAN; O'SULLIVAN, 1998; RANDALL; PHILLIPS; WILLIAMS, 1988).

Figura 3 - Estrutura química da goma arábica



Fonte: Böger (2016).

A goma arábica é um polissacarídeo complexo solúvel em água com baixa viscosidade, que possibilita emulsões estáveis com propriedade emulsificante e estabilizante. Assim, é considerada um excelente material encapsulante para compostos voláteis, podendo ser utilizadas soluções com a concentração de até 50%, pois acima disto pode apresentar propriedades de gel. A GA é muito utilizada na área alimentícia, por suas propriedades funcionais como a boa propriedade emulsificante (JAFARI et al., 2008; ROCHA, 2009).

A proposta de usar a goma arábica como material de parede em processos de microencapsulação é devido à boa atividade emulsificante, estabilizador de emulsões do tipo óleo em água, e por produzir micropartículas com boas propriedades de proteção dos compostos bioativos (GHARSALLAOUI et al., 2007). Diversos estudos sobre a microencapsulação de compostos lipossolúveis já foram realizados utilizando a goma arábica, tais como, microencapsulação de

óleo de laranja (ASCHERI; MARQUEZ; MARTUCCI, 2003), azeite de oliva (CALVO et al., 2010), óleo de linhaça (CARNEIRO, 2011), óleo de semente de uva (BÖGER; GEORGETTI; KUROZAWA, 2018), entre outros.

### 3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Este projeto teve caráter experimental com obtenção de dados quantitativos em laboratório. O experimento foi desenvolvido nos laboratórios do curso de Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina, no período de agosto de 2017 a maio de 2018.

Para a produção das micropartículas foi utilizado o óleo de semente de uva (Pazze Indústria de Alimentos Ltda., Panambi, RS) e goma arábica doada pela Nexira Brasil Comercial Ltda.

#### 3.1 MÉTODOS

Neste item estão descritos os métodos de obtenção das micropartículas de óleo de semente de uva e as técnicas de caracterização.

##### Preparo da emulsão

Inicialmente, foi preparada uma emulsão de óleo de semente de uva e goma arábica. A concentração de sólidos (goma arábica + óleo) foi fixada em 30% (m/m) e o teor de óleo de semente de uva foi de 10% (m/m) em relação à massa de sólidos conforme descrito por Carneiro (2011). A goma arábica foi adicionada em água destilada e a mistura ficou em agitação por 10 minutos até sua completa dissolução. Em seguida, adicionou-se o óleo e homogeneizou-se em Ultra-turrax (Ika, modelo T18, EUA) a 12.000 rpm durante 3 minutos. Uma formulação controle foi preparada contendo 30% (m/m) de goma arábica.

##### Microencapsulação por spray drying

Após o preparo das emulsões (com óleo e controle), foi realizada a secagem e microencapsulação do óleo de semente de uva por atomização em um *spray drying* laboratorial (Labmaq, modelo MSDi 1.0, Brasil) (Figura 4). As condições



do processo foram: diâmetro do bico de 0,7 mm; temperatura do ar de entrada  $120 \pm 2$  °C; temperatura do ar de saída de  $88 \pm 3$  °C; vazão de alimentação de 600 mL/min; fluxo de ar de 1,65 m<sup>3</sup>/min e pressão do ar comprimido de 35 L/min.

Figura 4 – *Spray dryer* utilizado neste trabalho



Fonte: Autoria própria.

As micropartículas obtidas foram avaliadas quanto ao teor de óleo superficial, óleo total, eficiência de encapsulação, retenção de óleo, atividade de água, densidade aparente, distribuição de tamanho, higroscopicidade e morfologia.

## Extração do óleo das micropartículas

A extração do óleo das micropartículas foi realizada em triplicata conforme descrito por Böger, Georgetti e Kurozawa (2016). Pesou-se 0,5 g de amostra de pó, dissolveu-se em 4 mL de água destilada a 50 °C e agitou-se a mistura por 10 min em agitador magnético. Em seguida foram adicionados 20 mL de hexano:i-isopropanol (3:1) e agitados no agitador magnético por mais 15 minutos. Após a separação de fases, coletou-se a fase sobrenadante e colocou-se em placas de

Petri. As placas ficaram na capela para evaporar os solventes e em seguida na estufa a 30 °C até o peso constante.

## Teor de óleo, eficiência de encapsulação e retenção de óleo

Após a extração do óleo das micropartículas (item 4.2.3.1), o conteúdo de óleo total nas microesferas (TO, %) foi determinado como sendo a razão entre a massa do óleo extraído e a massa do pó.

Para a determinação do óleo superficial (SO, %) seguiu-se metodologia descrita por Bae e Lee (2008), com modificações. O volume de 15 mL de hexano foi adicionado a 1 g de pó e agitado manualmente para a extração de óleo livre, durante 10 min, à temperatura ambiente. A mistura de solvente foi filtrada e o pó retido no filtro foi lavado três vezes com 10 mL de hexano. Em seguida, o solvente foi evaporado em capela, à temperatura ambiente, e depois em estufa a 60 °C até peso constante. O óleo superficial foi determinado como sendo a relação entre a massa do óleo superficial e a do pó. Assim, a eficiência de encapsulação (EE) foi calculada a partir da Equação 1.

$$EE = \left( \frac{TO - SO}{TO} \right) \times 100 \quad (1)$$

Onde:

TO = conteúdo total de óleo (%)

SO = teor de óleo superficial (%)

A retenção de óleo (RO) foi calculada, com a Equação 2, como sendo a relação entre o óleo total obtido analiticamente nas micropartículas (TO) e a concentração inicial de óleo adicionada à emulsão antes da secagem em relação à quantidade de sólidos totais, que corresponde a 10% (TO<sub>0</sub>) (BÖGER; GEORGETTI; KUROZAWA, 2018).

$$RO = \frac{TO}{TO_0} \quad (2)$$

## Atividade de água

A atividade de água foi realizada em triplicata e medida em um higrômetro digital Aqualab, modelo 3TE, a 25 °C.

## Distribuição de tamanhos da partícula

O diâmetro médio e a distribuição de tamanho das micropartículas foram determinados no laboratório do Centro de Tecnologia de Cereais e Chocolates do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas – SP, através de um aparelho determinador de distribuição de tamanho de partículas, baseado no espalhamento de luz (Horiba, modelo LV950, Japão). O diâmetro médio da partícula foi expresso em termos de volume médio ( $D_{4,3}$ ) e a polidispersidade foi dada pelo índice span, calculado com a Equação 3:

$$Span = \frac{D_{90} - D_{10}}{D_{50}} \quad (3)$$

Onde:

$D_{10}$  = diâmetros de 10% da distribuição acumulada.

$D_{50}$  = diâmetros de 50% da distribuição acumulada.

$D_{90}$  = diâmetros de 90% da distribuição acumulada.

## Densidade aparente

A densidade das micropartículas foi determinada por pesagem de 2 g da amostra em pó em uma proveta graduada de 25 mL, em duplicata. Uma vibração constante foi realizada durante três minutos. O volume ocupado foi utilizado para calcular a densidade (CAI; CORKE, 2000), o qual foi expresso em g/mL.

## Higroscopicidade

Foram pesados 2 g de micropartícula e armazenou-se em um dessecador com uma solução saturada de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (81% UR). A higroscopicidade foi expressa como a umidade adsorvida em 100 g de sólidos secos (CAI; CORKE, 2000).

## Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das micropartículas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (EVO MA 15, Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha), com potência de aceleração de 10 KV. Previamente à análise, as amostras foram recobertas com ouro em um *sputter coater* (Q150R ES rotary-pumped *sputter coater*; Quorum Technologies Ltd, Lewes, Inglaterra).

### 3.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram avaliados por teste t-Student ao nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ), utilizando o software Statistica 7.0.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de óleo total e superficial, retenção de óleo e eficiência de encapsulação de micropartículas contendo óleo de semente de uva são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Óleo total e superficial, retenção de óleo e eficiência de encapsulação de óleo de semente de uva microencapsulado

<b>Parâmetros</b>	<b>Controle</b>	<b>Óleo de semente de uva</b>
Óleo total (%)	-	9,24 ± 0,22
Óleo superficial (%)	-	0,36 ± 0,09
Retenção de óleo (%)	-	92,40 ± 2,2
Eficiência de encapsulação (%)	-	96,17 ± 0,87

Fonte: Autoria própria.

O teor de óleo superficial está relacionado ao óleo que não foi microencapsulado e que está presente na superfície das micropartículas. Para que um processo de microencapsulação seja bem-sucedido, as micropartículas devem ter uma mínima quantidade de óleo na superfície, ou seja, apresentar a máxima retenção de óleo dentro da matriz (TAN; CHAN; HENG, 2005). Neste trabalho o teor de óleo superficial foi de 0,36%, valor abaixo do relatado por Böger, Georgetti e Kurozawa (2018) em óleo de semente de uva microencapsulado

com goma arábica e maltodextrina. A retenção de óleo foi de 92,40%, sendo próximo do relatado por estes mesmos autores.

A quantidade de óleo total foi de 9,24%, o que resultou em uma eficiência de encapsulação de 96,17%. A eficiência de encapsulação indica a porcentagem de óleo que está efetivamente encapsulada, no interior da matriz de goma arábica (OGRODOWSKA; TAŃSKA; BRANDT, 2017). Comparado a outros trabalhos que realizaram a microencapsulação de óleos por *spray drying* utilizando a goma arábica como material de parede (BÖGER; GEORGETTI; KUROZAWA, 2018; CARNEIRO et al., 2013; GARCIA, 2013), os valores obtidos no presente estudo foram superiores.

Ao preparar a emulsão é preferível que as gotículas de óleo fiquem menor possível, pois assim serão retidas de forma mais eficiente dentro da matriz de goma arábica. Quanto maiores forem as gotas de óleo, maior será o rompimento da emulsão durante a atomização, alterando a distribuição de tamanho. Este rompimento da emulsão favorece o aumento do óleo de superfície, diminuindo a eficiência de encapsulamento (JAFARI et al., 2008; MUNOZ-IBANEZ et al., 2015). Assim, pode-se concluir que a alta eficiência de encapsulação e a retenção de óleo obtidas neste trabalho estão diretamente relacionadas com as adequadas condições de preparo da emulsão como: tempo e velocidade de rotação do Ultra-turrax, quantidade de goma arábica e óleo de semente de uva.

De acordo com a Tabela 2, observa-se que a amostra com óleo de semente de uva teve maior valor de atividade de água ( $a_w$ ) em comparação à amostra controle. É possível que durante a pulverização e secagem, a presença do óleo tenha dificultado a difusão de água. Valores semelhantes de  $a_w$  foram reportados por Böger, Georgetti e Kurozawa (2018) em óleo de semente de uva microencapsulado com goma arábica. O valor da  $a_w$  está relacionado à conservação dos alimentos, podendo indicar a possibilidade de reações químicas e enzimáticas.

Tabela 2 – Atividade de água, densidade aparente e higroscopicidade de micropartículas controle e de óleo de semente de uva

Parâmetros	Controle	Óleo de semente de uva
Atividade de água	0,1740 <sup>a</sup> ± 0,009	0,2080 <sup>b</sup> ± 0,0163
Densidade aparente (g/mL)	0,500 <sup>a</sup> ± 0,001	0,500 <sup>a</sup> ± 0,001
Higroscopicidade (g/100g)	28,75 <sup>b</sup> ± 0,35	25,04 <sup>a</sup> ± 0,06

<sup>a,b</sup> Letras diferentes na linha apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo Teste t-Student.

Fonte: Autoria própria.

A densidade é um parâmetro importante de se avaliar para o processamento, embalagem, transporte e estocagem de produtos em pó, pois com esse resultado verifica-se a quantidade de material, por peso, que pode caber em uma embalagem com um determinado volume. A densidade mais utilizada é a densidade aparente que considera o volume de material e o volume de ar entre partículas. Tanto a amostra controle como a amostra encapsulada apresentaram valor de 0,500 g/mL. As densidades encontradas foram maiores que as descritas por Böger, Georgetti e Kurozawa (2018) e Bae e Lee (2008) para microcápsulas de óleo de semente de uva e óleo de abacate, respectivamente, mas foram semelhantes à descrita por Garcia (2013) em microcápsulas de óleo essencial de manjerição. Materiais com baixa densidade não são desejáveis, pois necessitam de espaço maior para armazenamento, gerando custos. Além disso, partículas com baixa densidade podem ser resultantes da presença de ar em seu interior e isso pode estar relacionado com maiores chances de degradação oxidativa e menor estabilidade na estocagem (CAI; CORKE, 2000).

Com relação à higroscopicidade, foi observada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras e as microcápsulas com óleo de semente de uva que apresentaram menor valor (25,04 g/100 g), possivelmente pela presença de óleo na formulação. Os dados da higroscopicidade encontrados foram maiores que o descrito por Garcia (2013) para microcápsulas de óleo essencial de manjerição (9,13 a 10,43 g/100 g de material) e menores que os reportados por Cai e Corke em micropartículas de betacianinas de amaranto (44,6 a 49,5 g/100 g de material), todas obtidas por *spray drying*.

É esperado que as partículas apresentem higroscopicidade baixa, pois o ganho de umidade pode originar mudanças nas propriedades de escoamento das micropartículas, além das mudanças visuais e alterações de cor. A alta higroscopicidade também pode levar a uma maior degradação do material encapsulado (CAI; CORKE, 2000; GARCIA, 2013).

Na Tabela 3 estão apresentados os valores de diâmetro médio ( $D_{4,3}$ ), distribuição de tamanho e índice span das micropartículas obtidas por *spray drying*.

Tabela 3 – Diâmetro médio, distribuição de tamanho e span de micropartículas controle e de óleo de semente de uva

	<b>D<sub>4,3</sub> (µm)</b>	<b>D<sub>10</sub> (µm)</b>	<b>D<sub>50</sub> (µm)</b>	<b>D<sub>90</sub> (µm)</b>	<b>Span</b>
Controle	16,0 <sup>b</sup> ±0,3	3,0 <sup>b</sup> ±0,1	15,4 <sup>b</sup> ±0,3	28,6 <sup>b</sup> ±0,4	1,7 <sup>b</sup> ±0,1
Óleo de semente uva	12,5 <sup>a</sup> ±0,4	2,5 <sup>a</sup> ±0,1	13,1 <sup>a</sup> ±0,3	19,0 <sup>a</sup> ±0,3	1,3 <sup>a</sup> ±0,1

<sup>a,b</sup> Letras diferentes na coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo Teste t-Student.

Fonte: Autoria própria.

O diâmetro médio foi de 16,0 µm e 12,5 µm para a amostra controle e com óleo de semente de uva, respectivamente, e apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ). De acordo com Gong et al. (2007), os pós obtidos por *spray drying* apresentam diâmetro menor que 50 µm, estando condizente com os valores obtidos neste estudo. O tamanho da gota atomizada varia com a viscosidade do líquido, a uma velocidade de atomização constante. Quanto maior a viscosidade do líquido, maiores são as gotas geradas através da atomização e, conseqüentemente, maiores as partículas de pó obtidas (MASTERS, 1991).

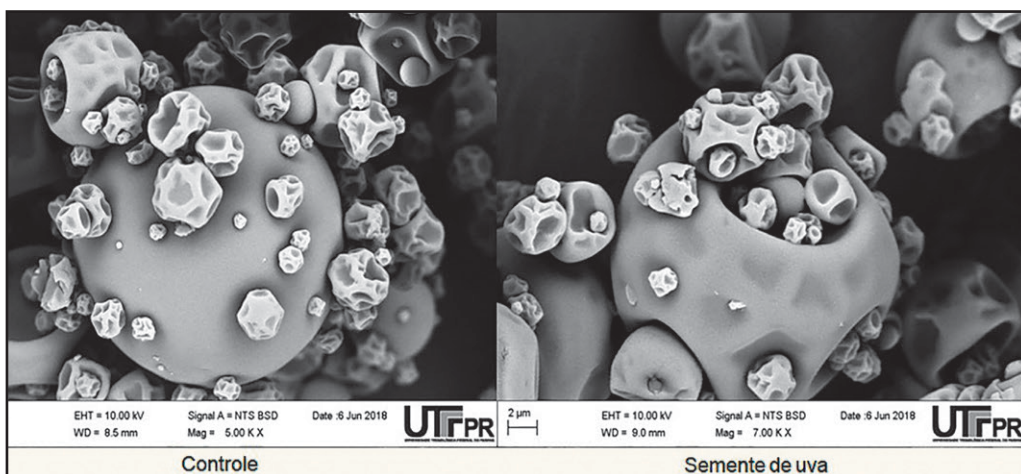
O tamanho da partícula afeta diretamente a textura dos alimentos e quando estas são muito grandes, pode ter um impacto prejudicial nas propriedades sensoriais. Assim, é importante obter partículas menores que 100 µm como as apresentadas neste estudo (PAUCAR et al., 2016). Somado a este fato, a distribuição do tamanho das microcápsulas significa um importante parâmetro físico, pois pode influenciar na mistura de elementos diferentes, na compactação e separação da mistura. As partículas menores tendem a localizar-se na parte inferior, enquanto as partículas maiores tendem a ficar na parte superior da embalagem.

Os valores de polidispersão ou *span* representam o equilíbrio e a distribuição do tamanho das partículas, ou seja, quanto maior o valor do *span*, mais heterogênea ou polidispersa é a sua distribuição (BÖGER, 2016). Observando a Tabela 3, verifica-se que houve diferença nos valores de *span* das amostras ( $p > 0,05$ ). O *span* encontrado neste estudo variou de 1,3 a 1,7, sendo considerado um valor elevado, indicando que não houve homogeneidade quanto ao tamanho das amostras. Valor superior de *span* foi encontrado por Böger, Georgetti e Kurozawa (2018) ao estudar microencapsulação de óleo de semente de uva utilizando goma arábica como material de parede e valor inferior foi encontrado por Carneiro (2011) ao microencapsular óleo de linhaça com diferentes combinações de materiais de parede. A diferença nos valores encontrados pode estar relacionada com as diferentes condições de processo empregada.

A morfologia das micropartículas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A Figura 5 mostra a estrutura externa das micropartículas controle e as que contêm óleo de semente de uva. De um modo geral, verifica-se partículas de diferentes tamanhos, o que corrobora com os valores elevados de span discutidos anteriormente.

Observando as imagens da estrutura externa, pode-se dizer que as micropartículas tiveram formato esférico, característico de micropartículas produzidas por *spray-dryer*, e superfície enrugada, resultante da redução das gotas durante as etapas iniciais da secagem. De acordo com Ré (1998), é desejável que partículas esféricas sejam geradas por mostrarem maior fluidez, menor razão superfície/volume, e por isso beneficiar a retenção de aroma, e maior densidade aparente, resultado de um melhor “empacotamento” do material de recheio.

Figura 5 – Morfologia das micropartículas



Fonte: Autoria própria.

## 5. CONCLUSÃO

No presente trabalho foi possível microencapsular o óleo de semente de uva comercial com sucesso pela técnica de *spray drying*, conseguindo obter resultados satisfatórios de eficiência de encapsulação e retenção de óleo. A partir desses dados conclui-se que as microcápsulas de óleo de semente de uva podem ser uma alternativa de ingrediente, pois conforme a literatura possui propriedades benéficas à saúde devido a sua composição de ácidos graxos e ser rico em antioxidante natural. Além disso, agregaria valor a subprodutos.



Por fim, diante dos resultados obtidos, sugere-se a continuidade deste trabalho realizando a microencapsulação do óleo de semente de uva com diferentes materiais de parede e utilizando outras técnicas de microencapsulação.

## REFERÊNCIAS

AMERI, M.; MAA, Y. Spray-drying of biopharmaceuticals: stability and process considerations. **Drying Technology**, v. 24, n. 6, p. 763-768, 2006.

AQUARONE, E. et al. **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Blucher, v. 4, 2001.

ASCHERI, D. P. R.; MARQUEZ, M. O. M.; MARTUCCI, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja: Seleção de material de parede. **Ciência e tecnologia de Alimentos**, v. 23, p.1-6, 2003.

BAE, E. K.; LEE, S. J. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. **Journal of Microencapsulation**, v. 25, n. 8, p. 549-560, 2008.

BEMILLER, J. N.; WHISTLER, R. L. Carbohydrates. In: FENNEMA, O.R. **Food Chemistry**, 3 ed. Cap.4, p.157-224. 1996.

BÖGER, B. R. **Extração de óleo de semente de uva por ultrassom e microencapsulação por *spray drying***. 2016. 129 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2016.

BÖGER, B. R.; GEORGETTI, S. R.; KUROZAWA, L. E. Microencapsulation of grape seed oil by spray drying. **Food Science and Technology**, 2018.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, p. 1248-1252, 2000.

CALVO, P. et al. Microencapsulation of extra-virgin olive oil by spray drying: Influence of wall material and olive quality. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 112, p. 852–858, 2010.

CAMARGO, U. A.; NACHTIGAL, J. C. Recomendações para produção de videiras em sistemas de base ecológica. **Embrapa Uva e Vinho**, 2007. Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/documentos/doc065.pdf>. Acesso em: 19 maio 2018.

CARNEIRO, H. C. F. **Microencapsulação de óleo de linhaça por *spray drying*: influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede**. 2011. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2011.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005.

DZIEZAK, J. D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. **Food Technology**, v. 42, n. 4, p. 136-148, 1988.

FERNANDES, L. P. et al. Volatile retention and antifungal properties of spray-dried microparticles of *Lippia sidoides* essential oil. **Drying Technology**, v. 26, p.1534-1542, 2008.

FREITAS, L. S. **Desenvolvimento de procedimentos de extração do óleo de semente de uva e caracterização química dos compostos extraídos**. 2007. 227 f. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2007.

GARCIA, L. C. **Microencapsulação por *spray-drying* de Óleo essencial de manjeriço**. 2013. 217f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2013.

GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray drying in Microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

GONG, Z. et al. Spray drying and agglomeration of instant bayberry powder. **Drying Technology**, v. 26, n. 1, p. 116-121, 2007.

IBRAVIN – Instituto Brasileiro do Vinho. **Exportações de vinhos e espumantes brasileiros crescem 44% em valor no primeiro trimestre de 2018**. 21 de Maio de 2018. Disponível em: <http://www.ibravin.org.br/Noticia/exportacoes-de-vinhos-e-espumantes-brasileiros-crescem-44-em-valor-no-primeiro-trimestre-de-2018/354>. Acesso em: 24 maio 2018.

IORA, S. R. F. et al. Evaluation of the bioactive compounds and the antioxidant capacity of grape pomace. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 62-69, 2015.

JAFARI, S. M. et al. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. **Drying Technology**, v. 26, n. 7, p. 816-835, 2008.

MASTERS, K. **Spray drying handbook**. 5th ed., London: Longman Scientific & Technical, 725p. 1991.

MCNAMEE, B. F.; O'RIORDAN, E. D.; O'SULLIVAN, M. Emulsification and microencapsulation properties of gum Arabic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4551-4555, 1998.

MELLO, L. M. R. Vitivinicultura mundial: Principais países e posição do Brasil. Comunicado técnico 121. **Embrapa uva e vinho**. Agosto, 2012. Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/cot121.pdf>. Acesso em: 20 maio 2018.

MUNOZ-IBANEZ, M. et al. Changes in oil-in-water emulsion size distribution during the atomization step in spray-drying encapsulation. **Journal of Food Engineering**, v. 167, p. 122-132, 2015.

OGRODOWSKA, D.; TAŃSKA, M.; BRANDT, W. The influence of drying process conditions on the physical properties, bioactive compounds and stability of encapsulated pumpkin seed oil. **Food and Bioprocess Technology**, v. 10, n. 7, p. 1265-1280, 2017.

OLIVEIRA, G. P.; ECHEVENHUÁ, M. M.; MESSIAS, R. S. **Processo de extração e caracterização do óleo de semente de uva**, UFSC, Santa Catarina, 2003.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p.641-650, 2009.

PAUCAR, O. C. et al. Production by spray chilling and characterization of solid lipid microparticles loaded with vitamin D<sub>3</sub>. **Food and Bioproducts Processing**, v. 1000, p. 344-350, 2016.

PEREIRA, G. G. **Obtenção de nanoemulsões O/A à base de óleo de semente de uva e oliva aditivadas de metoxicinamato de octila e estudo do potencial antioxidante e fotoprotetor das emulsões**. 2008. 118 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Ribeirão Preto, 2008.

PÖTTER, G. H. et al. Desfolha parcial em videiras e seus efeitos em uvas e vinhos Cabernet Sauvignon da região da Campanha do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 40, n. 9, p. 2011-2016, 2010.

RAMOS, M. F. S. **Desenvolvimento de microcápsulas contendo a fração volátil de copaína por *spray-drying*: estudo de estabilidade e avaliação farmacológica**. 2006. 132 f. Tese (Doutorado em Farmácia, Fármacos e Medicamentos), Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2006.

RANDALL, R. C.; PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. The role of the proteinaceous component on the emulsifying properties of gum arabic. **Food Hydrocolloids**, v. 2, n. 2, p. 131-140, 1988.

RÉ, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v. 16, n. 6, p. 1195-1236, 1998.

RITSCHER; QUECINI, V. Suco de Uva In: REIFSCHNEIDER, F. J. B. et al. **Uma pitada de biodiversidade na mesa dos brasileiros**. Brasília, DF, 2015. p. 107-123.

ROCHA, G. A. **Produção, caracterização, estabilidade e aplicação de microesferas de Licopeno**. 2009. 80 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2009.

ROCKENBACH, I. I. et al. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**: v. 28, n. 1, p. 238-244, 2008.

SUAVE, J. et al. Microencapsulação: inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 7, n. 2, p. 12-20, 2006.

TAN, L. H.; CHAN, L. W.; HENG, P. W. Effect of oil loading on microspheres produced by spray drying. **Journal of Microencapsulation**, v. 22, p. 253-259, 2005.

VITALI, L. et al. Microencapsulação do agente quelante sulfoxina em microesferas de quitosana preparadas por spray drying como novo adsorvente para íons metálicos. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p.1400-1404, 2008.

## **ACOMPANHAMENTO MICROBIOLÓGICO E FÍSICO-QUÍMICO DE PRODUTOS À BASE DE BANANA-VERDE: ATUAÇÃO DO TECNÓLOGO EM ALIMENTOS NO CONTROLE DE QUALIDADE**

*Carina Moro Benis  
Paulo de Tarso Carvalho  
Luciana Furlaneto Maia*

### **1. INTRODUÇÃO**

A banana (*Musa acuminata* e *Musa paradisiaca*) é uma fruta mundialmente popular e produzida na maioria dos países tropicais. Possui minerais e sabor característico, além da presença de compostos fenólicos solúveis, principalmente os taninos, quando a fruta ainda está verde. A biomassa ou polpa de banana verde (BBV) é a obtenção da polpa de banana verde cozida e processada que não apresenta sabor característico e pode ser adicionada na formulação de alimentos para incorporar vitaminas, minerais e fibras. Um dos componentes essenciais presentes na biomassa é o amido resistente (AR), ele está presente em grandes quantidades e é o responsável pelas propriedades funcionais que esta apresenta (CARMO, 2015).

Este produto tem sido um atrativo como fonte de renda para pequenos produtores, associações e/ou pequenos grupos de pessoas que trabalham com alimentos, pois a biomassa, além de apresentar propriedades e atribuições funcionais, tem baixo custo de produção.

Porém, muitas dessas microempresas iniciam suas atividades sem conhecimento de Boas Práticas de Fabricação, ou qualquer outra orientação. Como exemplo pode-se citar a produção de BBV por mulheres pertencentes ao programa "Super Sabor Funcional" da Economia Solidária na cidade de Apucarana/PR, sendo este produto destinado para complementação do lanche das escolas municipais da região da referida cidade.

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo realizar análises microbiológicas e físico-químicas de biomassa de banana verde produzida por um grupo de mulheres vinculadas à economia solidária. Os resultados deste trabalho poderão servir de base para fazer um levantamento das inconformidades na produção deste produto, e orientar as mulheres na tomada de ações corretivas.

## **2. BIOMASSA DE BANANA VERDE (BBV)**

A banana (*Musa spp.*) é uma fruta muito popular e cultivada no Brasil devido sua facilidade de armazenamento, cultivo e colheita, custo-benefício de aquisição, possui alto valor nutritivo e tem disponibilidade em todas as estações do ano, por todos estes motivos, o Brasil está sendo considerado um dos maiores produtores vindo atrás de países como Índia, China e Filipinas. O Brasil é responsável por cerca de 6% da produção mundial. No Brasil os dados coletados pelo IBGE mostram que a banana ocupou em 2016 uma área de aproximadamente 465 mil hectares e produziu perto de 6,8 milhões de toneladas, entre os principais estados produtores está a Bahia, em seguida São Paulo e Minas Gerais. O Paraná ficou em quarto lugar sendo responsável por 4% de toda produção nacional (DOSSA; FUCHS, 2017).

Assim, por ser uma fruta com alta aceitação pelos consumidores, o mercado possui grande variedade de subprodutos como a polpa ou biomassa de banana verde, que permite a elaboração de qualquer produto com sua mistura sem ocasionar alteração do sabor, além disso, melhora a qualidade nutricional destes alimentos por incluir uma boa quantidade de fibras, proteínas, nutrientes e sobretudo aumenta o rendimento do produto (VALLE; CAMARGO, 2004). Mesmo que a fruta verde possui muito tanino, fator responsável pela adstringência no paladar, quando é submetida ao tratamento térmico de cozimento, acaba degradando boa parte destes compostos tornando-a mais palatável.

A banana verde quando cozida possui atividades funcionais como prebiótico, por possuir em sua composição fibras solúveis e insolúveis apresentando

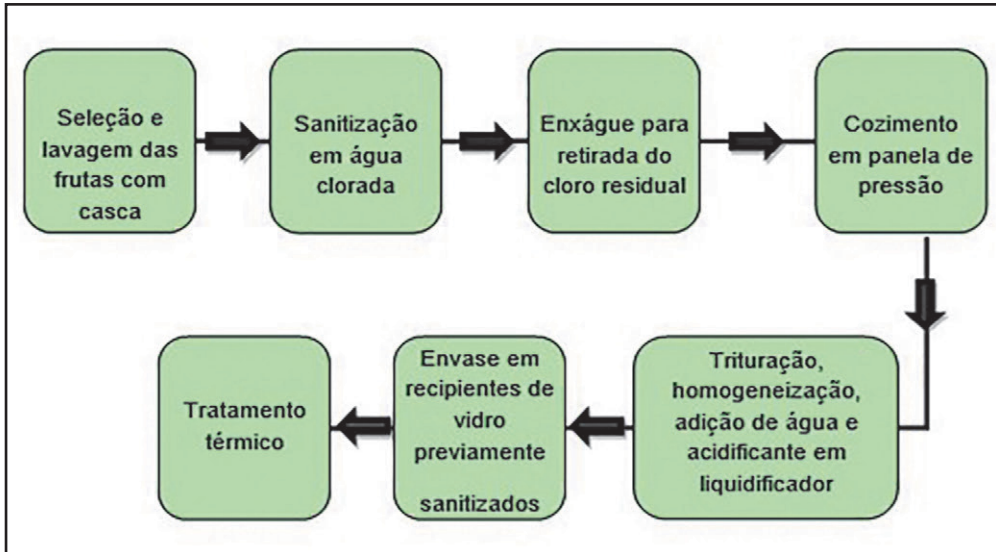
funções benéficas em nosso organismo, sendo considerado um alimento funcional (LEON, 2010). Alimentos prebióticos são definidos como componentes alimentares que resistem ao processo de digestão sendo fermentados pelas bactérias do trato gastrointestinal estimulando o seu desenvolvimento (GARDENETTE, 2006). Um dos principais causadores dessa funcionalidade é o amido resistente (AR) onde sua ingestão pode ainda, minimizar as concentrações de glicose e insulina pós-prandial, favorece o aumento da sensação de saciedade, o que seria uma ferramenta útil em dietas de emagrecimento ou de manutenção de peso (VALLE; CAMARGOS, 2004).

Segundo Ranieri e Delani (2014), pode se concluir que a BBV não modifica as características sensoriais do alimento, atua como um poderoso espessante conferindo consistência, além disso, é fonte de vitaminas, minerais, carboidratos e fibras solúveis e insolúveis. Por possuir carboidratos complexos de lenta digestão, auxilia na prevenção de 12 diversos tipos de enfermidade, dentre elas doenças cardiovasculares, diabetes principalmente a do tipo 2, além de promover maior saciedade e auxiliar na redução de peso.

Outro fator positivo da BBV apontado na revisão bibliográfica realizada por Ranieri e Delani (2014), consiste no fato, de conter grande quantidade de amido resistente que pode ser fermentado pelas bifidobactérias. Estas bactérias secretam vitaminas, ácidos graxos de cadeia curta, essenciais para estimular seu próprio desenvolvimento e inibir a ação de outros micro-organismos patogênicos, prevenindo infecções intestinais e o desenvolvimento de doenças inflamatória do cólon, como a diverticulite e até mesmo o câncer intestinal. A Figura 1 apresenta a produção caseira de BBV seguindo uma produção caseira.



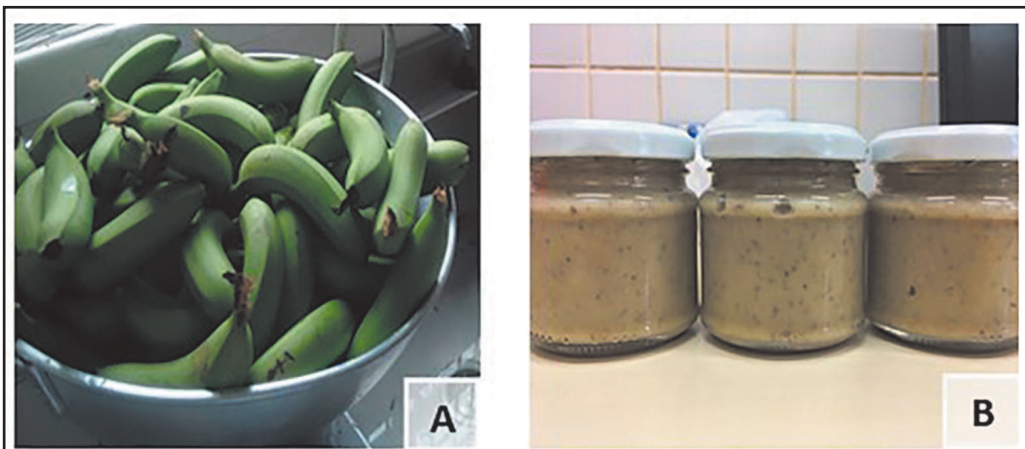
Figura 1: Fluxograma de produção caseira de Biomassa de Banana Verde



Fonte: Autoria própria (2019).

Na Figura 2 tem-se fotos de bananas verdes com casca (A) e da BBV pronta para consumo, produzida e comercializada pela Economia Solidária de Apucarana-PR (B).

Figura 2: Banana verde (A) utilizada na preparação de biomassa de banana verde (B).



Fonte: Autoria própria (2019).

## 2.1 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA

Com o objetivo de garantir segurança microbiológica dos alimentos a ANVISA dispõe a RDC N° 12/2001 que estabelece os padrões microbiológicos sanitários dos alimentos, assim, dentre os grupos colocados neste regulamento, a biomassa não possui normativas específicas, porém se enquadrado no grupo retratado pela Figura 3, sendo que os parâmetros microbiológicos seguidos obrigatoriamente são *Salmonella* sp. e Coliformes a 45 °C.

Figura 3: Parâmetro microbiológico segundo RDC N° 12/2001

1- FRUTAS, PRODUTOS DE FRUTAS e SIMILARES						
GRUPO DE ALIMENTOS	MICROORGANISMO	Tolerância para Amostra INDICATIVA	Tolerância para Amostra Representativa			
			n	c	m	M
c) branqueadas ou cozidas, inteiras ou picadas, estáveis a temperatura ambiente, refrigeradas ou congeladas, consumidas diretamente; passa, com ou sem adição de açúcar ou mel; desidratadas, secas (excluídas as passas), liofilizadas, com ou sem adição de açúcar ou mel, incluindo as cristalizadas ou glaceadas e similares); polpa de frutas concentradas ou não, com ou sem tratamento térmico, refrigeradas ou congeladas.	Coliformes a 45°C/g	10 <sup>2</sup>	5	2	10	10 <sup>2</sup>
	<i>Salmonella</i> sp /25g	Aus	5	0	Aus	-

Fonte: Brasil (2001).

Toda fabricação de alimentos deve seguir a correta manipulação de alimentos conforme a Resolução RDC n° 216, de 15 de setembro de 2004 (BRASIL,2004), que se trata de boas práticas em serviço de alimentação que impõe como devem ser realizadas a manipulação, preparação, fracionamento, armazenamento, distribuição, transporte, exposição à venda e entrega de alimentos preparados ao consumo. Além disso, também traz como deve ser a edificação, instalações, utensílios e equipamentos e sua correta higienização/sanitização. E a RDC n° 275 de 21 de outubro de 2002, que dispõe do Regulamento Técnico

de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos (BRASIL, 2002).

A qualidade microbiológica dos alimentos está condicionada, primeiro, à quantidade e ao tipo de micro-organismos inicialmente presentes (contaminação inicial) e depois à multiplicação destes micro-organismos no alimento. A qualidade das matérias-primas e a higiene (de ambientes, manipuladores e superfícies) representam a contaminação inicial já que o tipo de alimento e as condições ambientais afetam a multiplicação de micro-organismos. Os fatores inerentes ao alimento podem ser também chamados de parâmetros intrínsecos, como por exemplo, o pH e a atividade de água (Aa) e aqueles inerentes ao ambiente de parâmetros extrínsecos, como a temperatura, a umidade relativa (UR) e a presença de gases (HOFFMANN, 2001).

Assim, na fabricação de um produto é necessário garantir sua qualidade e padronização, por isto se realizam análises físico-químicas como umidade, acidez, pH e atividade de água cujo objetivo geral é verificar padrões de identidade e qualidade em alimentos, além de auxiliar na tomada de decisão em várias etapas do processamento, como escolha da embalagem, modo de estocagem do produto, entre outros (FURTADO; FERRAZ, 2007).

### **3. METODOLOGIA**

Este trabalho caracteriza-se como experimental com dados quantitativos. As análises microbiológicas e físico-químicas foram realizadas no período de 6 meses com acompanhamento a cada 2 meses. O material de estudo (biomassa de banana verde) foi fornecido por doação pelo projeto Super Sabor funcional da Economia Solidária de Apucarana/PR, que foram submetidas a análises nos laboratórios da UTFPR- Londrina. Foram analisadas 5 amostras de BBV, sendo 3 amostras coletadas em abril de 2019; 1 amostra contaminada por fungo e 1 amostra preparada em outubro de 2018. As amostras receberam nomenclaturas de acordo com suas características de coleta (Quadro 1).

Quadro 1 – Designação das nomenclaturas amostras

<b>Nomenclatura</b>	<b>Descrição</b>
A1	Amostra 1 pertencente ao lote padrão, análise realizada após 1 semana de fabricação (abril, 2019)
A2	Amostra 2 pertencente ao lote padrão, análise realizada após 3 meses de fabricação (julho, 2019)
A3	Amostra 3 pertencente ao lote padrão, análise realizada após 6 meses de fabricação (outubro, 2019)
AM	Amostra extra, cujo um lote obteve incidência de bolores (julho, 2019)
1A	Amostra extra completando 1 ano em outubro de 2019 conforme prazo de validade determinado pelo fabricante

Fonte: Autoria própria (2019).

### 3.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

#### Preparo da amostra

Foram pesadas 25 gramas da amostra e adicionadas em 225 mL de água Peptonada 0,1%, obtendo assim a diluição  $10^{-1}$ . Posteriormente foi realizada diluição seriada até  $10^{-3}$ .

Todos os métodos utilizados seguiram o preconizado pela American Public Health Association (APHA, 2001a) e Método ISO 6579 para *Salmonella* sp.

#### Análise de aeróbios mesófilos totais

A partir das diluições obtidas, 0,1 mL de cada diluição foi semeada na superfície de Ágar Padrão para Contagem (PCA). As placas foram incubadas invertidas a 35 °C por 48 h. Para a contagem das colônias e cálculo dos resultados foram selecionadas as placas com 25 a 250 colônias, sendo o número de unidades formadoras de colônia (UFC/g) calculado de acordo com a diluição utilizada (APHA, 2001b).

#### Análise de coliformes totais e termotolerantes

Para a inoculação foram selecionadas as diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  da amostra e inoculou-se uma série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST),

que foram adicionados 1 mL de cada diluição por tubo de LST com tubos de Durham invertidos. Em seguida, os tubos foram incubados a 35 °C por 24 h e observou-se a formação de gás (APHA, 2001c).

### **Análise de *Staphylococcus coagulase positiva***

Foi pipetado 0,1 mL das diluições no centro da superfície do Ágar Baird-Parker (PB) com gema de ovo com telurito 0,1%, espalhou-se o inóculo, com auxílio de alça de Drigalski, até absorção completa do inóculo. Em seguida, as placas foram invertidas e incubadas a 37 °C/45-48 h. Então foram selecionadas para a contagem as placas com 20 a 300 colônias, que apresentaram como características principais de serem pretas circulares com ou sem halo transparente. Por fim, foi calculado o número de unidades formadoras de colônia (UFC/g) (APHA, 2001d).

### **Análise da presença de *Salmonella* sp.**

Inicialmente, 25 g do produto foi adicionado em 225 mL de água peptonada e incubado a 37 °C por 18 horas; em seguida, 1 mL dessa solução foi depositada em tubos contendo 10 mL do Caldo Rappaport-Vassiliadis, e incubados a 37 °C por 24 horas e 0,1 mL para tubos com 10 mL do Caldo Tetrionato a 41,4 °C por 24 horas. Após esta etapa, a cultura foi transferida para placas contendo Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Ágar *Salmonella-Shigela* (SSA), sendo incubadas a 37 °C por 24 horas.

### **Análise de bolores e leveduras**

Foram inoculados 0,1 mL de cada diluição na superfície de Ágar Sabouraud com auxílio de uma alça de Drigalski. As placas foram incubadas a 25 °C por 120 h. Para a contagem das colônias e cálculo dos resultados foram selecionadas as placas com 25 a 250 colônias. Por fim, foi calculado o número de unidades formadoras de colônia (UFC/g).

## 3.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas dos produtos prontos foram realizadas em triplicata e consistiram na determinação da umidade, atividade de água, pH e acidez segundo os procedimentos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

### Determinação de pH

O pH da BBV foi realizado por meio direto utilizando-se de um medidor de potencial hidrogeniônico (Hanna, modelo HI 1131), calibrado a 20 °C em soluções tampão de 4,0 e 7,0.

### Determinação de umidade

A determinação foi realizada através do aquecimento direto do alimento com peso conhecido em estufa a 45 °C por 24 horas e elevado a 105 °C durante 24 horas devido o produto apresentar alto teor de amido e umidade, em seguida as amostras foram pesadas até obter seu peso constante (IAL 2008).

### Determinação de acidez

Foi pesado num béquer de 100 mL, 10 g de amostra, utilizando balança analítica adicionando 50 mL de água destilada fervida e esfriada (CECCHI, 2003). Após a titulação foi realizado o cálculo em porcentagem de ácido málico (predominante em banana verde).

### Determinação de atividade de água

A determinação da atividade de água foi realizada em equipamento de medição de atividade de água (Aqualab), de maneira direta a 25 °C.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo a RDC N° 12/2001 da ANVISA, não existe um grupo específico para BBV, então o grupo a qual mais se enquadrava solicitava as seguintes análises: *Salmonella* sp. e Coliformes a 45 °C.

Porém, ao verificar a situação local do empreendimento, a conduta dos manipuladores durante e pós-processamento e as características finais do produto, se fez necessário realizar análises microbiológicas complementares a fim de verificar possíveis pontos de contaminação e risco ao grupo predominante de consumo deste produto que são crianças das escolas municipais da região. Tais análises foram: bolores e leveduras, contagem total de bactérias aeróbias e mesófilas e *Staphylococcus aureus*.

Por se saber que o principal alvo consumidor deste empreendimento são crianças e pessoas que buscam complementação de fibras no organismo deve-se levar em consideração que estes se encontram no grupo de risco devido às suas vulnerabilidades, dependendo da idade possuem o sistema imunológico em desenvolvimento, ou debilitados, e dessa forma, podem apresentar maiores dificuldades em combater infecções causadas por alimentos, e também é maior o risco dessa doença se tornar mais grave, com necessidade de internações e até mesmo de levar à morte (GOUVEIA, 2014).

Em 6 meses de acompanhamento de um lote fabricado anteriormente à intervenção do tecnólogo em alimentos no controle de qualidade, foram recolhidos 3 potes de 200 gramas aproximadamente, escolhidos aleatoriamente para as análises, onde foi possível detectar níveis de contaminação de alguns micro-organismos conforme apresentados na Tabela 1. Como o empreendimento determinou através de comparação com outros produtos o prazo de validade de 1 ano, foi analisado um vidro que se encontrava armazenado desde outubro de 2018 a fim de se verificar a sua qualidade microbiológica também.

Tabela 1 – Resultados das análises microbiológicas

Análises	Resultados (UFC/g)				
	A1	A2	A3	AM	1A
Bolores e leveduras	-	1,5x10 <sup>3</sup>	<10	TNTC	<10
Coliformes totais e a 45°C	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	<10	<10	9,87x10 <sup>4</sup>	9,3x10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella</i> sp.	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g
Contagem total bactérias aeróbias e mesófilas	-	1,3x10 <sup>4</sup>	TNTC	6,67x10 <sup>3</sup>	TNTC

A1= Lote padrão, análise após 1 semana de fabricação; A2= Lote padrão, análise após 3 meses de fabricação; A3= Lote padrão, análise após 6 semanas de fabricação; AM= Amostra extra, de um lote com aparecimento de bolores; 1A= Amostra que completa 1 ano conforme prazo de validade determinado pelo fabricante; TNTC= Too Numerous To Count; (-) Ausência de micro-organismos em 25 gramas.

Fonte: Autoria própria (2019).

Diante dos resultados obtidos foi possível verificar que em uma semana após o produto ser elaborado não houve presença de micro-organismos, porém, após 3 meses de fabricação pode-se observar o crescimento de alguns micro-organismos que não foram eliminados durante a cocção sob pressão. Ao fim dos 6 meses o nível de contaminação foi menor do que o esperado, porém, ao se analisar os motivos deste acontecimento a principal justificativa se deve a que dentro de um lote de fabricação não há a padronização do processo e não há a capacidade de fabricação de uma quantia grande de vidros de BBV, assim existem pequenos lotes dentro de um dia de fabricação o que favorece a contaminação cruzada e pós-processamento, dificultando o rastreamento do principal fator contaminante.

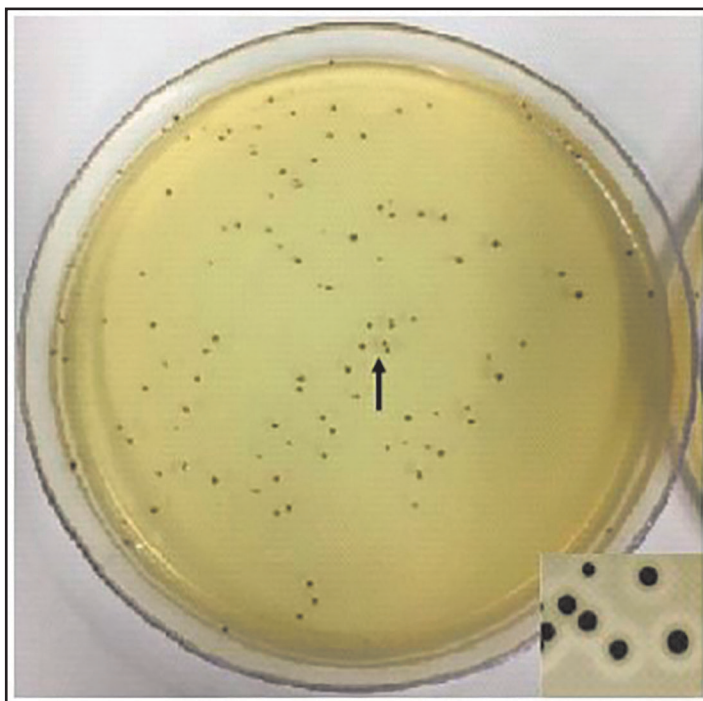
Ao longo do acompanhamento das BBV, um lote obteve reclamação após serem encontrados bolores após a sua abertura, então o empreendimento realizou o recolhimento de amostras que foram fabricadas naquele dia. As análises se mostraram com contaminação elevadas de bolores e leveduras, *Staphylococcus coagulase* positivo, bolores e leveduras e contagem total das bactérias aeróbias e mesófilas.



Segundo Bernardo *et al.* (2005), *S. aureus* é um micro-organismo oportunista encontrado na microbiota membrana mucosa (bucal, nasal e oral) em seres humanos. Esse patógeno causa 20 sérias infecções quando em contato com o organismo humano. Este micro-organismo é facilmente eliminado com o tratamento térmico, porém a maior parte da contaminação como no caso deste empreendimento ocorreu após este processo, devido ocorrer frequentemente casos de tosses, conversas e espirros sobre o envase da matéria-prima. Por serem micro-organismos comuns, cerca 50 % das pessoas saudáveis são portadoras de *S. aureus* nas fossas nasais e garganta (SILVA; GANDRA, 2004).

Quando um número elevado de *S. aureus* é encontrado em alimentos processados, pode-se considerar também que a sanitização e o controle da temperatura, ou ambos, foram inadequados. Em alimentos crus, principalmente de origem animal, a presença de *S. aureus* é comum, uma vez que a fonte de estafilococos pode ser a pele, o pelo ou a pena de animais.

Figura 4: Colônias negras típicas de *Staphylococcus* em placa de ágar Baird Parker. Destaque para a formação de um halo esbranquiçado ao redor das colônias (seta)



Fonte: Autoria própria (2019).

Ao realizar a análise de bactérias aeróbias e mesófila, selecionou-se colônias predominantes e realizou a coloração de Gram em uma das colônias, e após observação ao microscópio óptico comum, observamos a presença de bactérias com morfologia de bastonetes e com formação de esporos, típicas de células do gênero *Bacillus* sp (Figura 4). Segundo Bennett (2001. p. 311-316), conforme citado por Coelho *et al.* (2006), dentre as bactérias mais comuns que podem levar à ocorrência de doenças de origem alimentar, encontra-se *Bacillus cereus*, micro-organismo presente em locais diversificados, como solo, vegetação, água e pelos de animais. As intoxicações alimentares causadas por esse patógeno, capaz de formar esporos, são favorecidas quando há abuso de tempo-temperatura, propiciando a multiplicação do micro-organismo e contagens maiores que 105 UFC/g.

Figura 5: Análise morfotintorial de colônia predominante no ágar PCA mostrando presença de esporos (seta)

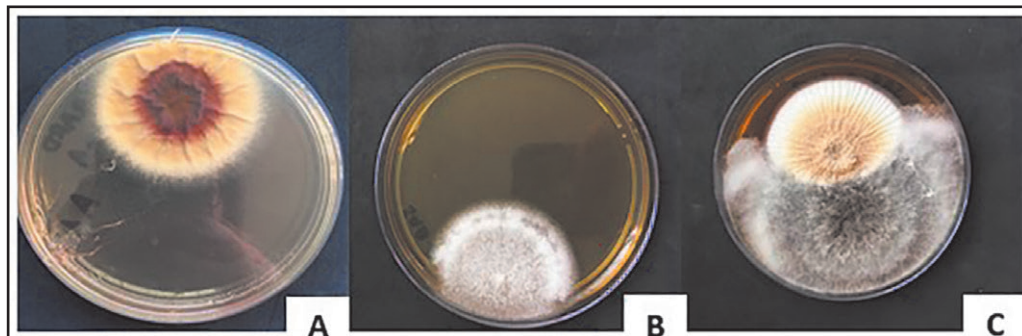


Fonte: Autoria própria (2019).

Nas análises de bolores e leveduras, observou-se a contaminação por diversas espécies de fungos (Figura 5 A, B e C). A presença de fungos indica vedação comprometida da embalagem, uma vez que fungos filamentosos necessitam de oxigênio para seu desenvolvimento. Uma possibilidade de contaminação, é a

fervura das tampas dos frascos, por longo período, comprometendo a borracha de vedação da mesma.

Figura 6: Fotografias de colônias típicas de fungos filamentosos



Fonte: Autoria própria (2019).

Estes possíveis micro-organismos encontrados podem ser decorrentes das condições de preparo deste produto como destacado nos tópicos e ilustrados na Figura 7, os principais pontos de contaminação cruzada são:

- Utilização dos mesmos utensílios a produção toda, sem prática de higienização deles;
- Não há controle de zona limpa e zona suja;
- Falta de organização nas bancadas de produção;
- Casos de tosse, fala contínua entre os manipuladores durante o processamento;
- Uso de celular e outros objetos durante o preparo e em cima da mesa de manipulação;
- Não higienização de mãos em trocas de atividades;
- Excesso de tempo de tratamento térmico para embalagens, tampas e produto finalizado;
- Envase improvisado e utilização de panos para limpeza do bocal do vidro;
- Excesso de tempo da BBV exposta aberta no ambiente após envase.

Figura 7: Possíveis pontos de contaminação do local e processamento



A= Ambiente de produção; B= Armazenamento de ingredientes e produtos prontos; C= Estoque de matéria-prima; D= Sanitização da matéria-prima; E= Pós-coção sob pressão; F= Retirada de injúrias e corte em cubos; G= Processamento em liquidificador industrial; H= Envase improvisado; I= Pesagem do produto; J= Limpeza do bocal do vidro; K= Fechamento do vidro; L= Tratamento térmico com os vidros totalmente fechados.

Fonte: Autoria própria (2019).

Os resultados físico-químicos estão expostos na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados das análises físico-químicas

Análise	Resultado das análises físico-químicas				
	A1	A2	A3	AM	1A
Acidez (%)	0,429 ± 0,035 <sup>b</sup>	0,532 ± 0,060 <sup>b</sup>	0,9250 ± 0,013 <sup>c</sup>	0,197 ± 0,054 <sup>a</sup>	0,201 ± 0,013 <sup>a</sup>
Umidade (%)	85,115 ± 0,153 <sup>a</sup>	85,231 ± 0,061 <sup>a</sup>	87,088 ± 0,106 <sup>c</sup>	87,485 ± 0,073 <sup>b</sup>	85,087 ± 0,171 <sup>a</sup>
pH	4,333 ± 0,015 <sup>a</sup>	4,147 ± 0,100 <sup>c</sup>	4,410 ± 0,070 <sup>a</sup>	5,847 ± 0,021 <sup>b</sup>	5,963 ± 0,021 <sup>b</sup>
Aa	0,995 ± 0,001 <sup>c,d</sup>	0,994 ± 0,001 <sup>b,c</sup>	0,992 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,996 ± 0,001 <sup>d</sup>	0,992 ± 0,001 <sup>a,b</sup>

\*A1= Lote padrão, análise após 1 semana de fabricação; A2= Lote padrão, análise após 3 meses de fabricação; A3= Lote padrão, análise após 6 semanas de fabricação; AM= Amostra extra, de um lote com aparecimento de bolores; 1A= Amostra que completa 1 ano conforme prazo de validade determinado pelo fabricante. \*\*Valores representam a média das triplicatas ± desvio-padrão; médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Fonte: Autoria própria (2019).

De acordo com os resultados obtidos, foi possível constatar uma instabilidade em suas propriedades físico-químicas ao longo do período de armazenamento (pH, umidade, AW e acidez) nas condições estudadas. A variação que foi constatada ocorreu devido aos produtos não possuírem padronização ao longo de sua fabricação.

Os dados obtidos não indicaram nenhuma correlação com os dados microbiológicos e por haver a quebra de um lote em vários “sub-lotes” durante o estudo não houve surgimento de micro-organismos padrão, enfatizando a necessidade da padronização dos lotes e ingredientes acrescentados no produto, por exemplo o limão e água.

## 5. CONCLUSÃO

Devido à falta de conhecimento técnico, rotatividade destas mulheres e não haver um responsável pelo controle de qualidade no local, foram encontrados pontos de contaminação das biomassas produzidas. Segundo a legislação vigente, a BBV produzida por esta associação é considerada apta e segura para o consumo humano, pois não há um padrão microbiológico específico para esta classe de produtos mesmo havendo elevada contaminação de outros patógenos.

Ao se ter conhecimento que escolas municipais adquirem predominantemente o produto deste empreendimento visando complementar nutritivamente a refeição das crianças, deve-se adotar as práticas corretivas na gestão da qualidade e considerar que os micro-organismos encontrados podem ocasionar Doenças Vinculadas por Alimentos (DTAs), se houver vulnerabilidade no sistema imunológico do público infantil.

Caberá à empresa realizar a padronização do produto visto que houve diferenças físico-químicas significativas entre as amostras. Outro ponto a ser considerado é a realização de um estudo de vida útil, devido ao prazo de validade ser determinado sem estudo comprobatório de análise microbiológica. Este acompanhamento deve ser preconizado conforme a legislação vigente a fim de verificar se os padrões higiênico-sanitários estão sendo seguidos corretamente.

Assim, se faz necessário o acompanhamento de um responsável capacitado na área, como tecnólogos em alimentos, devido ao conhecimento e à aptidão para realizar otimização de processo e atuação no controle de qualidade.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4° ed., Washington, D.C, 2001a. Chapter 7, p. 63- 67.

\_\_\_\_\_. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4° ed., Washington, D.C, 2001b. Chapter 8, p. 69- 82.

\_\_\_\_\_. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4° ed., Washington, D.C, 2001c. Chapter 9, p. 209-215.

\_\_\_\_\_. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4° ed., Washington, D.C, 2001d. Chapter 39, p. 387-403.

BERNARDO, W. L. C. et al. Staphylococcus aureus ampicillin resistant from the odontological clinic environment. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v.1, p.19-24, 2005.

BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, janeiro de 2001.

\_\_\_\_\_. Resolução RDC Nº 275, de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 06 novembro de 2002.

\_\_\_\_\_. Resolução RDC Nº 216, de 15 de setembro de 2004. Estabelece procedimentos de boas Práticas para serviço de alimentação, garantindo as condições higiênico-sanitárias do alimento preparado. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 17 setembro de 2004.

CARMO, A. F. S. **Propriedades funcionais da biomassa e farinha de banana verde**. 2015. 58 p. Monografia (Graduação do curso de Engenharia Bioquímica) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2. ed. Campinas: Unicamp, 2003.

COELHO, A. Í. M. et al. Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, p. 1597-1606, 2010.

DOSSA, D.; FUCHS, F. **BANANA: Produção, mercado e preços na CEASA-PR. BANANA: Produção, mercado e preços na CEASA-PR**. Paraná. 2017. Disponível em: [http://www.ceasa.pr.gov.br/arquivos/File/BOLETIM/Boletim\\_Tecnico\\_Banana.pdf](http://www.ceasa.pr.gov.br/arquivos/File/BOLETIM/Boletim_Tecnico_Banana.pdf). Acesso em: 14 abr. 2019.

GARDENETTE, G. H. L. **Produto derivado da banana verde (*Musa spp*) e a sua influência na tolerância à glicose e na fermentação colônia**. Programa pós-graduação em ciências do alimento-universidade de São Paulo. 2006.

GOUVEIA, N. **Detalhes sobre o grupo de risco para doenças transmitidas por alimentos**. Disponível em: <https://foodsafetybrazil.org/quem-e-o-grupo-de-risco-para-doencas-transmitidas-por-alimentos/>. Acesso em: 12 nov. 2019.

ISO 6579. **Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of Salmonella spp.** 4<sup>o</sup> ed., 2002. The International Organization for Standardization, amendment 1:15 / 07 / 2007.

FURTADO, M. A. M.; FERRAZ, F. O. **Determinação de umidade em alimentos por intermédio de secagem em estufa convencional e radiação infravermelha – estudo comparativo em alimentos com diferentes teores de umidade**. Faculdade de Farmácia e Bioquímica – Departamento de Alimentos e Toxicologia– UFJF. Juiz de Fora. 2007.

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de microrganismos em alimentos. **Revista Brasil Alimentos**, São Paulo, n. 9, p. 23-30. 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Procedimentos e determinações gerais**. In: Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

LEON, T. M. **Elaboração e aceitabilidade de receitas com biomassa da banana verde**. Trabalho de conclusão de curso - Universidade do extremo Sul Catarinense, 2010.

SILVA, W. P.; GANDRA, E. A. Estafilococos coagulase positiva: patógenos de importância em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.18, n.122, p.32-40, 2004.

RANIERI, L. M.; DELANI, T. C. O. Banana verde (*Musa spp*): obtenção da biomassa e ações fisiológicas do amido resistente. **Revista Uningá review**, [S.l.], v. 20, n. 3, dez. 2014.

VALLE, H. F.; CAMARGOS, M. **Yes, nós temos banana**. São Paulo: Senac, 2004.





## **ELABORAÇÃO DE CONSERVA FERMENTADA (NUKAZUKE) DE PEPINO AMARGO (MOMORDICA CHARANTIA) EM FARELO DE ARROZ (NUKA) E FOLHAS DE REPOLHO**

*Bruna Kaori Fujii  
Lyssa Setsuko Sakanaka  
Claudio Takeo Ueno*

### **1. INTRODUÇÃO**

Muitos dos legumes e vegetais são alimentos perecíveis e devido a excessos de produção podem ocorrer perdas, sendo muitas vezes impossíveis de consumi-los, trazendo prejuízos para o produtor agrícola e o consumidor final (ACRÍTICA, 2018). Uma das formas de evitar o desperdício de excessos de produção e produtos que não atendem padrões de mercado (tamanho, cor etc.) e evitar perdas, é a transformação desses em conservas, aumentando assim sua vida útil e agregando valor à matéria-prima (VASCONCELLOS; MELO FILHO, 2010).

Dentre os diversos tipos de conserva de vegetais existentes destacam-se principalmente as conservas salgadas (em salmoura), em meio acidificado (picles), e as conservas fermentadas (PEDROCCO, 1998). No Japão, registros históricos mostram que o *tsukemono* (conserva), surgiu entre os séculos VIII a XII. O *tsukemono* mais conhecido pela comunidade oriental no Brasil é uma conserva feita à base de nabo branco (*Raphanus sativus L.*), melão japonês

(*Cucumis melo L*) e pepino (*Cucumis sativus*) que são submetidos ao tratamento com fermentado de soja (*missô*) (NIPPOBRASIL, 2005).

Tradicionalmente, descendentes de orientais têm o hábito de consumir *tsuke-monos*, sendo os tipos de conservas mais consumidos à base de sal (*shiozuke*) e os acidificados com vinagres (*suzuke*), cujo princípio de conservação está relacionado com a perda de água e acidificação devido ao excesso de sal, açúcar ou vinagre respectivamente, que evitam o crescimento de micro-organismos (JAPAN-GUIDE, 2011).

Entre as diversas formas tradicionais orientais de conservação de vegetais temos a fermentação à base de soja (*missozuke*) e fermentação à base de saquê (*kasazuke*) (JAPAN-GUIDE, 2011). Outra forma de conserva japonesa fermentada é a utilização do farelo de arroz a partir da fermentação natural, cujo princípio é umedecer o farelo com solução salina e introduzir folhas de repolho que possuem uma microbiota natural para a fermentação originando o *nukazuke* (KENSHOSAKE, 2015). O farelo de arroz é utilizado como suplementação de alimentos para crianças desnutridas e lactantes e mais utilizado para produção de rações animais, mas, pode ser utilizado para substrato de uma fermentação (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2004).

O *nigauri* (*Momordica charantia*) ou Melão de São Caetano visualmente é similar a um pepino e apresenta protuberâncias em toda sua superfície, possui sabor característico amargo, sendo seu consumo limitado como saladas ou refogados com carne de porco (JAPÃO-ONLINE, 2018). Segundo Assubaie e El-Garawany (2004), este vegetal possui várias aplicações na área medicinal devido aos seus compostos fitoquímicos.

O objetivo geral deste trabalho foi desenvolver um processo de fermentação natural utilizando o farelo de arroz para obtenção de conserva à base de *nigauri*. Para o desenvolvimento desta pesquisa foi selecionado, dentre os três métodos de fermentação citados por Evangelista (2008), a fermentação láctica utilizando-se o farelo de arroz, em razão deste ser acessível e de baixo custo.

## 2. NIGAURI / MELÃO DE SÃO CAETANO

Popularmente conhecido como *Nigauri* (derivado de *nigai* = amargo e *uri* = pepino) (Figura 1), *Goya* ou *Reishi* (no Japão), e também como melão de São Caetano, melãozinho, fruto de cobra, *bitter melon* ou melão amargo, *bitter gourd*, *Balsam pear*, do gênero *Momordica charantia*, é um vegetal pertencente

à família *Cucurbitaceae*. O *nigauri* é uma planta nativa da Ásia tropical e um dos ingredientes representantes da região de Okinawa (Japão). Espalhou-se por todo o território japonês e atualmente tem sido cultivado nas demais regiões tropicais e subtropicais do mundo.

O *nigauri* foi trazido ao Brasil pelos escravos vindos da África, que o plantaram para ornamentar a capela de São Caetano. O fruto aparentemente se assemelha ao de um melão. Assim, no Brasil, ele é conhecido como Melão de São Caetano (NIPPO BRASÍLIA, 2017) (Figura 2). Esta planta se desenvolve bem em temperaturas mínimas de 18° C (LARKCOM, 1991), atingindo um estágio ótimo entre 24-27° C (DESAI; MUSMADE, 1998). Apresenta o crescimento máximo em temperaturas dia/noite próximas de 28-35/20-25° C e redução severa no crescimento em temperaturas da noite 16° C, requer mais calor do que as outras espécies de cucurbitáceas para atingir o máximo rendimento (LARKCOM, 1991) e é também mais resistente às temperaturas baixas. (DESAI; MUSMADE, 1998). O pH do fruto *in natura* é próximo de 6,0-6,7 (DESAI; MUSMADE, 1998).

O *nigauri* é um vegetal tropical, visualmente muito similar a um pepino exceto pela textura da casca e sabor. Possui as suas extremidades afinadas, apresenta protuberâncias em toda a sua superfície, dando-lhe uma aparência exótica. De sabor característico amargo, pode ser consumido desde o início da maturação (de coloração verde-escuro) (Figura 3), até o ponto máximo de maturação, quando apresentam coloração amarelada (Figura 4), diferente do popular Melão de São Caetano que é pequeno, possuindo sementes vermelhas comestíveis de sabor característico suave quando maduras (NIPPO BRASÍLIA, 2017).

Figura 1 – *Nigauri*



Fonte: Japão-Online (2017).

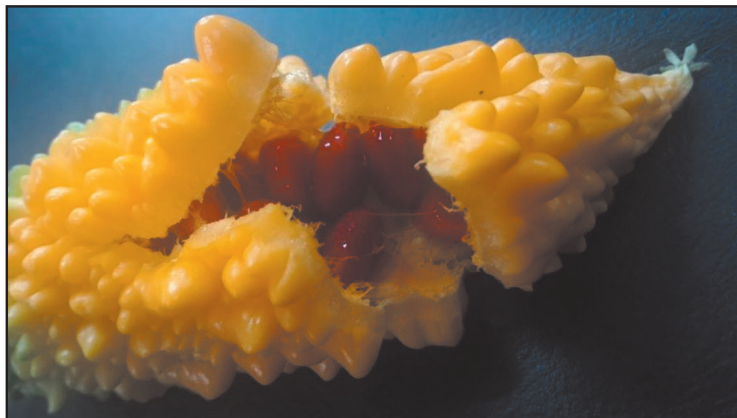
Figura 2 – Melão de São Caetano



Fonte: Meio Ambiente (2013).

Figura 3 - *Nigauri* na trepadeira

Fonte: Aatoria Própria.

Figura 4 - *Nigauri* maduro

Fonte: Autoria própria.

O *nigauri* é caracterizado pelo sabor amargo, muito utilizado na culinária da província de Okinawana, em pratos como o *goya chanppuru*, prato típico da ilha consistido do vegetal refogado com carne de porco, tofu e ovos (JAPÃO-ONLINE, 2017). Apesar de seu sabor característico, segundo Nagarani, Abirami e Siddhuraju (2014) e United States Department of Agriculture (2018) a fruta verde possui uma boa fonte de vitaminas, minerais, proteínas e carboidratos (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores aproximados da composição do *nigauri*

<b>Valores aproximados da composição do <i>Nigauri</i></b>	
	%
Água	94
Proteína	1
Lipídio	0,17
Carboidrato	3,70
Cálcio	1,9
Ferro	0,43
Magnésio	1,7
Fósforo	3,1
Potássio	2,96
Sódio	5
Zinco	0,8
Vitamina C	84
Tiamina	0,04
Vitamina B-6	0,04

Fonte: United States Department of Agriculture (2018).

Recentemente, muitos fitoquímicos foram identificados e demonstrados clinicamente, apresentando várias propriedades medicinais tais como antibiótico, antimutagênico, antioxidante, antileucêmico, antiviral, antidiabético, antitumor, adstringente, carminativo, citotóxico, depurativo, hipotensivo, hipoglicêmico, imunomodulador, inseticida, lactagogo (auxilia na produção de leite), laxativo, purgativo, estomáquico, tônico, vermífugo (ASSUBAIE; EL-GARAWANY, 2004).

O uso popular como erva medicinal para o tratamento da diabetes foi confirmado experimentalmente por observações recentes do fruto ou frações extraídas com água deste vegetal, que exibe uma potente atividade hipoglicêmica em normoglicêmicos e também em pessoas com diabetes mellitus do tipo II e em ratos com diabetes induzidas com streptozocina (RIGOTTI, 2017).

## 2.1 FERMENTAÇÃO

O processo de fermentação é um dos vários métodos de conservação e preservação do alimento e pode ser dividido em três grupos, de acordo com o agente de fermentação sendo: as provocadas por bactérias (fermentação láctica, acética), por leveduras (fermentações alcoólicas) ou por bolores e ou mofos (ácido láctico) (EVANGELISTA, 2008).

Os produtos de origem vegetal, como a azeitona, o chucrute e o picles são os principais tipos de conserva em que a fermentação láctica é predominante (AQUARRONE et al., 2001), onde estes são considerados como uma boa fonte de carboidratos que serão convertidos em ácido láctico (SAWAIN; RAY, 2015). Segundo Aquarrone et al. (2001), Ji et al. (2013) e Sawain e Ray (2015), devido à produção do ácido láctico, nesse tipo de fermentação as bactérias ácido lácticas possuem um importante papel garantindo inocuidade, prevalecendo no ambiente e aumentando o *shelf life* desses produtos. De acordo com Sawain e Ray (2015), a maioria dos micro-organismos presentes nas fermentações ácido lácticas produzem compostos orgânicos como acetato, ácido láctico, acetaldeídos, ácido acético, etanol, bacteriocinas, compostos aromáticos, amilases e pectinases, vitaminas e minerais.

A adição de sal nas hortaliças e na forma de salmoura no fermentado, servem para a redução do conteúdo celular, facilitando o desenvolvimento de bactérias ácido lácticas e inibindo a multiplicação de micro-organismos nocivos e também para melhorar a consistência do produto (AQUARRONE et al., 2001; Ji et al., 2013; IMAI; SATO; ISHII, 1991).

As características sensoriais de hortaliças fermentadas dependem muito da natureza das quais são obtidas, como também das reações resultantes das atividades enzimáticas microbianas, do alimento e das interações que ocorrem durante a fermentação (AQUARRONE et al., 2001).

A fermentação láctica à base de farelo de arroz (*nukadoko*) tradicionalmente de origem japonesa, são muito utilizadas para a produção de conserva de vegetais que agrega sabor e valores nutricionais, além de serem empregadas também como fertilizantes orgânicos e na produção de rações para aquicultura (DOI et al., 2013; ONO et al., 2014). A média do pH do fermentado é de aproximadamente 5,96, conforme Tabela 2 (IMAI; SATO; ISHII, 1991).

Tabela 2 - General Constituents (%) in 130 year “Nukadoko” and in Freshly Prepared

	Moisture	Fat	Reducing sugar	Sucrose	Protein	Ash	NaCl	Acid as Lactic	pH	VB (mg%)
130 Years “Nukadoko”	74,6	7,2	0,01	0,1	3,2	3,81	2,3	2,48	4,43	0,208
	(70,0) <sup>a</sup>	(7,6)	(0,01)	(0,11)	(3,39)	(4,03)	(2,44)	(2,62)		(0,221)
Freshly prepared “Nukadoko”	70,0	6,50	2,05	0,27	4,18	6,51	5,05	1,29	5,96	2,70

(<sup>a</sup>): Values converted into the same moisture % as that of freshly prepared “Nukadoko”

Fonte: Imai, Sato e Ishii (1991).

## 2.2 NUKA (FARELO DE ARROZ)

O farelo de arroz (*nuka* em japonês) é um subproduto do arroz, obtido por meio do processo de beneficiamento do grão em casca, possui altos teores de vitaminas e minerais, apresenta aproximadamente 20% de lipídeos e 14% de proteína, além de ser rico em fibras. Segundo Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2004), o farelo de arroz:

“É rico em nutrientes e minerais: vitamina E, vitamina B6, Niacina, ácido pantotênico, Riboflavina, Tiamina, Folato, Magnésio, Manganês, Zinco, Cobre, Potássio e Ferro. Além disso, é rico em fibras, importantes para o bom funcionamento intestinal e para a prevenção do câncer de intestino.” (EMBRAPA, 2004).



Segundo Bargantini e Eifert (2013), o *nuka* é utilizado para produção de rações animais, na fabricação de cervejas, como espessantes na produção de pães, bolos, biscoitos, para a extração de óleos comestíveis, como substratos para fermentações na produção de etanol e utilizado para cuidados de pele. Além destas aplicações, por ser um subproduto de baixo valor agregado e rico em nutrientes, nas regiões do Brasil, através de trabalhos sociais, onde a população é carente, o *nuka* vem sendo muito utilizado como complemento para lactantes e, principalmente como suplementação na alimentação de crianças desnutridas (EMBRAPA, 2004).

### 3. METODOLOGIA

A conserva japonesa (*tsukemono*) foi preparada por fermentação láctica, sendo o *nuka* o substrato a ser fermentado e o *nigauri* o vegetal a ser conservado nessa pasta fermentada. Foram avaliadas as características físico-químicas do *nuka* (seco), *nukadoko*, *nigauri* e do produto final *nigauri* sob a forma de *tsukemono*.

O *nigauri* (*Momordica charantia* Lin), utilizado para o processo de conserva e para as análises foi adquirido de pequenos produtores feirantes do município de Arapongas, norte do Paraná e, o *nuka* obtido da beneficiadora de arroz Veronez, também deste município, adquiridas no mês de fevereiro de 2019.

#### 3.1 MÉTODOS

O experimento foi realizado em escala laboratorial para verificar a possibilidade de utilizar também em outros vegetais ou raízes que não são destinados ao mercado por apresentarem defeitos como má formação, tamanho fora do padrão exigido entre outros, com o objetivo de reaproveitar estes vegetais que seriam descartados, gerando resíduos, e prejuízos para o consumidor final e para o agricultor.

Foram utilizados como base nesta pesquisa, o método e as técnicas de conservação do *nukadoko* e preparo segundo Imai, Sato e Ishii (1991) com modificações e fazendo o controle do tempo de submersão do vegetal.

### 3.2 PRODUÇÃO DO *NUKADOKO* (FARELO DE ARROZ FERMENTADO EM PASTA)

O processo de fermentação do *nukadoko* (pasta de farelo de arroz fermentado) consiste no preparo de uma pasta no qual utilizou-se o farelo de arroz (49,67%), água (49,67%), sal (0,65%) – ou seja, para cada kg de farelo de arroz, utilizou-se 1 litro de água e 13 g de sal.

O farelo de arroz (2 kg) foi aquecido em fogo médio em uma panela grande de inox (capacidade de 9,6 litros) em constante mistura com o auxílio de uma colher para que não ocorra a torra excessiva principalmente no fundo da panela. O aquecimento foi mantido até a visualização de uma leve mudança de coloração para mais escura do farelo e um leve aroma de farelo torrado e, em seguida foi transferido para outro recipiente de aço inox. Após resfriamento, foi adicionado ao farelo uma solução salina (2 litros de água + 26g de sal, devidamente fervido com dissolução do sal e resfriado), e misturado até a obtenção de uma massa homogênea. Esta massa homogênea foi distribuída igualmente em 2 potes de vidro (3 litros cada), previamente sanitizados com solução de hipoclorito (5 mL de água sanitária 2% diluída em 1000 mL de água destilada) (ANDRADE, 2008).

As conservas 1 (fermentação natural – com folha de repolho e *nigauri*) e 2 (fermentação natural com folha de repolho e outros vegetais) foram preparadas, distribuindo-se no pote: uma camada de pasta obtida, posteriormente uma camada de *nuka* envolto por folhas de repolho (que foram confeccionados manualmente 4 bolinhas de *nuka* envoltas por cinco gramas de folhas de repolho) (Figura 5) previamente lavadas somente com água corrente para remoção de sujidades e por fim cobertas com uma camada de *nuka* (Figura 6). A conserva 3 foi preparada utilizando-se somente a pasta de farelo de arroz sem as folhas de repolho, e adicionado uma grande quantidade de leveduras (5 mL de cultura previamente isolada em laboratório a partir da folha de repolho) na solução salina (0,65%).

Figura 5 - *Nuka* envoltos por folha de repolho

Fonte: Autoria própria.

Figura 6 - Preparo do fermentado com folhas de repolho



Fonte: Autoria própria.

Os potes preparados foram devidamente tampados e armazenados em ambiente escuro à temperatura ambiente (25~28°C). Estes foram abertos todos os dias regularmente para homogeneização da pasta, troca das folhas de repolho a cada 2 dias e verificando o estado de fermentação da pasta no período de 1 semana.

### Preparo do *Nigauri*

O *nigauri* (*Momordica charantia*) foi lavado em água corrente para remoção de sujidades, retiradas as suas extremidades e cortadas ao meio para remoção da polpa e sementes a fim de sobrar somente a parte de interesse, que é a polpa juntamente da casca (Figura 7). Antes de ser inserida no fermentado, segundo Kimura (2018), fez-se um leve esfregão com sal na parte externa do vegetal para auxiliar na remoção de água.

Figura 7 - Vegetal separado em polpa e semente (esquerda) e parte externa utilizada (direita)



Fonte: Autoria própria.

### *Nukazuke* (Vegetal “Curtido” no *Nukadoko*)

No preparo do *nukazuke* (vegetal “curtido” na pasta de farelo de arroz fermentado), após a fermentação do *nukadoko* (Figura 9), o vegetal de aproximadamente 15 cm a 20 cm de comprimento foi introduzido no meio do *nukadoko* durante o período de 48 horas e verificado todos os dias durante esse período de fermentação. Foram realizados testes com outros vegetais como o nabo e a cenoura (descascados, fatiados a 0,5 cm de espessura e feito o esfregão com sal em sua superfície previamente).

Figura 8 - *Nigauri* introduzido no fermentado

Fonte: Autoria própria.

### 3.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

O *nuka*, *nukadoko*, *nukazuke* e *nigauri* foram avaliados quanto à acidez total titulável, o pH, o teor de cinzas, proteínas, lipídeos, sólidos solúveis, umidade conforme as metodologias descritas nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008), segundo as metodologias oficiais de análises da AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1990), *Food Analysis* (2010). Para o *nukazuke* de *nigauri* também foram determinados a textura de vegetais segundo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2018) além da análise do conteúdo de minerais do *nigauri*. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

Estas análises foram realizadas em triplicata, no laboratório da Universidade Tecnológica Federal, câmpus Londrina e a determinação de minerais foi realizada no Instituto Federal do Paraná da cidade de Londrina.

#### Acidez Total Titulável

Para a análise de acidez total titulável foi-se pesado 5 gramas de amostra e diluídas em 50 mL de água destilada, homogeneizadas por três minutos e filtradas em funil com papel de filtração. A fração sólida foi descartada e a líquida colocada em um Erlenmeyer para a titulação, onde, no Erlenmeyer foi-se

adicionado três gotas de fenolftaleína e titulado com NaOH 0,1N até a viragem da coloração.

Os resultados obtidos foram expressos em mL de solução molar por gramas do componente ácido principal. (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

## Cinzas

Para a análise de cinzas foram pesados 5 gramas de amostra nos cadinhos de porcelana (previamente desmineralizadas e taradas) que foram carbonizadas em bico de Bunsen até obtenção de cinzas. Após, os cadinhos foram colocados em mufla e incinerados a 550-570 °C por seis horas e depois de resfriadas, foram pesadas e realizado o cálculo.

O resultado foi obtido através do aquecimento de uma fração do produto à temperatura de 550 °C em mufla (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

## Proteína

Foram pesadas 0,5 g de amostras no papel de pesagem e adicionadas em tubos para digestão, onde, juntamente com a amostra adicionou-se 25 mL de ácido sulfúrico e 6 g de mistura catalítica. Levou-se ao aquecimento no bloco digestor (dentro da capela com o exaustor ligado) inicialmente a uma temperatura de 50 °C por uma hora e em seguida, elevou-se a temperatura gradativamente a cada uma hora até que atingiu os 400 °C. Assim que o líquido apresentou aspecto transparente, foram resfriados e submetidos à etapa de destilação em equipamento Kjeldhal. Nesta etapa, adicionou-se 10 mL de água destilada nos tubos com as amostras digeridas e acoplados no equipamento de destilação e adicionou-se a solução de NaOH a 50% até que a amostra se tornasse negra ou azul. Em um Erlenmeyer que também foi acoplado no equipamento, adicionou-se 20 mL da solução de ácido bórico a 3% e mais três gotas de solução de indicador misto (vermelho de metila e verde bromocresol). Após a destilação, a fração do Erlenmeyer foi titulada com HCl 0,1N até a viragem do indicador de verde para rósea, e realizado os cálculos.

A concentração de nitrogênio total foi convertida em teor de proteínas utilizando-se o fator de conversão segundo a Tabela de Composição de Alimentos do IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 1999).

## Lipídios

O teor de lipídios foi determinado segundo a metodologia descrita na AOAC (1990), utilizando-se o equipamento *Soxtec<sup>TM</sup> 2055 Fat Extraction System* onde 5 gramas de amostra foram embalados em cartuchos de papel de pesagem e inseridas nos casulos que são acoplados no equipamento, e adicionados 60 mL de hexano nas cápsulas previamente pesadas e acopladas no equipamento.

## pH

Foram pesadas 5 gramas de amostras em um bécker, adicionado 50 mL de água destilada e em seguida foram homogeneizadas com o auxílio de agitador magnético que acoplado com o pHmetro (composto de dois eletrodos um de medida e outro de referência, e um galvanômetro ligado em uma escala de unidades de pH). Inseriu-se o eletrodo de vidro na amostra e realizou-se uma leitura direta do pH das amostras (IAL, 2005).

## Textura

Para a determinação da dureza do vegetal, realizado segundo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2018) foi utilizado o penetrômetro manual analítico modelo PTR- 10 onde foram realizados furos com o equipamento na posição vertical, em pontos aleatórios da amostra de *nigauri in natura* e no *nigauri* fermentado utilizando-se o êmbolo/pistão de 8 mm, adequados para frutos mais macios.

## Sólidos Solúveis

Para a análise de sólidos solúveis realizados segundo *Food Analysis* (2010) utilizando o método refratométrico. Onde 5 gramas de amostras foram adicionadas em 50 mL de água destilada por uma hora e então, uma alíquota dessa solução foi colocada no refratômetro com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e realizada a leitura no equipamento.

## Umidade

A umidade foi determinada segundo Adolfo Lutz (2005) utilizando-se 5 gramas das amostras que foram submetidos à secagem em estufa a 105°C com circulação de ar, por 24 horas até a obtenção do peso constante.

## Minerais

As cinzas obtidas da análise de cinzas foram armazenadas em microtubos Eppendorf e levadas para o IFPR de Londrina onde foi realizada a determinação de minerais no equipamento EDX 7000. A amostra foi compactada e posta no equipamento para a leitura dos componentes.

## 3.4 CÁLCULO DE RENDIMENTO

Para o cálculo de rendimento da conserva, fez-se um cálculo da matéria-prima bruta utilizada, o quanto de parte foi descartada e ao final, a quantidade de conserva do pepino amargo obtido no produto final.

## 3.5 ANÁLISE DE CUSTOS

Para a análise de custo, fez-se uma relação proximal dos custos dos materiais utilizados, da mão de obra aplicada, custos de água, energia elétrica e gás utilizados, além do custo para se manter um funcionário registrado em uma empresa.

Segundo Tocantins (2019), para se calcular o preço de venda na prestação de serviços deve-se verificar os custos e da despesa dos ingredientes, sendo a venda ideal, a que cubra todos esses gastos e que ainda se tenha um lucro.

Para o cálculo da mão de obra, considerando que um salário médio no Brasil é de aproximadamente R\$2000,00 (O ESTADO ACRE, 2018), e dividiu-se pelo tempo médio que uma pessoa trabalha (200h/mês/dia), chegando ao custo médio de R\$10,00/h.

Adicionando-se o custo da mão de obra, o custo da receita (água, energia, gás) e o custo dos ingredientes teremos então o custo total da receita e com base neste custo, se vender o produto a um valor X e subtrair o total da produção, teremos então o valor Y que será o lucro da produção. Agora, para se descobrir a margem de lucro, pega-se o valor do lucro e divide-se pelo valor que se quer ganhar com a receita e multiplica-se por 100 (ARCURI, 2018).



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nas conservas 1 e 2 onde foi realizada a fermentação natural e lenta, o *nukadoko* apresentou condições ideais de fermentação de vegetais. Já na conserva 3 onde no lugar de se utilizar folhas de repolho foi adicionado cultura isolada de levedura proveniente das folhas de repolho, esse não apresentou fermentação similar como na fermentação natural, apresentando-se uma pasta seca e com forte aroma de acetaldeído, não sendo adequada para a fermentação de vegetais.

Após 2 dias de fermentação no *nukadoko*, nos potes em geral, os *nigauris* apresentaram alteração da coloração, mudando da coloração esverdeada (Figura 3) para uma coloração levemente amarronzada (Figura 10). Houve redução no peso do pepino de 13,4% devido à perda de umidade para o farelo fermentado e apresentando um aroma característico de farelo fermentado.

Figura 9 - comparação de coloração do *nigauri* antes da fermentação (à esquerda) e após fermentação (à direita)



Fonte: Autoria própria.

Não foi realizada a análise sensorial da conserva devido ao sabor bem amargo, para tal a análise sensorial seria necessário selecionar provadores a partir de um público que já possui o hábito de consumir esse tipo de vegetal para que o resultado do teste não apresentasse valores discrepantes e/ou baixos.

Comparando os resultados obtidos nas análises de composição proximal do pepino com os dados encontrados na literatura do IBGE (1999) e U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE (2018), as porcentagens de umidade e cinzas apresentaram valores aproximados. Já na análise de minerais realizadas no pepino *in natura* (Tabela 3) em comparação com a Tabela 1, o *nigauri* em estudo apresentou valores maiores de potássio (76,3%), fósforo (9,4%), cálcio (4%), ferro (0,53) em relação aos encontrados na literatura (Tabela 1).

Tabela 3 – Concentração de minerais presentes no *nigauri* em base seca

<b>Minerais <i>nigauri</i> EDX-7000</b>		
		%
Potássio	(K)	76,3
Fósforo	(P)	9,4
Cloro	(Cl)	7,5
Cálcio	(Ca)	4
Silício	(Si)	1,1
Enxofre	(S)	0,884
Ferro	(Fe)	0,531
Rubídio	(Rb)	0,071
Zinco	(Zn)	0,059
Titânio	(Ti)	0,046
Cobre	(Cu)	0,045
Manganês	(Mn)	0,045
Estrôncio	(Sr)	0,015
Bromo	(Br)	0,014
Cromo	(Cr)	0,013
Prata	(Ag)	0,004

Fonte: Autoria própria.

Tabela 4 - Composição proximal das amostras em estudo em comparação com dados da Tabela Nutricional de Alimentos do IBGE

<b>Composição Proximal do Nuka e Nigauri</b>				
Amostras	Parâmetros (%)			
	UMIDADE*	CINZAS*	LIPÍDIOS*	PROTEÍNAS*
<i>Nigauri</i>	94 ± 0,01	0,95 ± 0,02	0,27 ± 0,28	12,38 ± 0,05
<i>Nigauri</i> Fermentado	86 ± 0,01	6,45 ± 0,01	0,47 ± 0,62	11,78 ± 0,21
<i>Nuka</i> (seco)	10,7 ± 0,08	11,82 ± 0,28	16,32 ± 0,26	7,29 ± 0,07
<i>Nukadoko</i>	16,5 ± 0,04	6,45 ± 0,01	17,18 ± 1,88	4,26 ± 0,21
IBGE (Arroz/Farinha)**	11,6	0,6	1,6	6,4
IBGE ( <i>Nigauri</i> )**	94	0,6	0,1	0,6

\*Média da triplicata ± desvio padrão. \*\*Base úmida

Fonte: Autoria própria.

Tabela 5 - Valores de acidez, pH e sólidos solúveis totais do nigauri (seco e fermentado) e nuka (seco e fermentado)

<b>Análises Físico-Químicas</b>			
Amostras	Parâmetros		
	ACIDEZ*	pH*	SÓLIDOS SOLÚVEIS* (°Brix)
<i>Nigauri</i> **	1,76 ± 0,01	6,57 ± 0,15	5,25 ± 0,00
<i>Nigauri</i> Fermentado**	1,55 ± 0,03	4,57 ± 0,04	10,75 ± 0,00
<i>Nuka</i> (torrado)**	0,20 ± 0,02	6,63 ± 0,04	3,00 ± 0,00
<i>Nukadoko</i> **	2,17 ± 0,02	4,37 ± 0,01	5,00 ± 0,00

\*Média da triplicata ± desvio padrão. \*\* Base seca

Fonte: Autoria própria.

Os dados de acidez, pH, lipídios e proteínas do *nukadoko* (Tabela 5) quando comparados com os valores expostos na Tabela 2, de Imai, Sato e Ishii (1991), é possível verificar que os valores de pH estão próximos do fermentado de 130 anos e o pH similar com o fermentado fresco. Quando homogeneizados periodicamente, percebeu-se um aroma de acetaldeído saindo do fermentado, podendo-se deduzir sensorialmente o estado de fermentação do *nukadoko*. A quantidade de açúcares e sal controlam a quantidade de ácido produzidos pelas bactérias ácido lácticas e como resultado, o pH influencia nos compostos voláteis do fermentado segundo Aquarrone et al. (2001).

O pH do *nigauri in natura* ( $6,57 \pm 0,15$ ) está entre os valores estabelecidos por Desai e Musmade (1998) que indica o pH ao redor de 6,0-6,7. Já o produto fermentado apresenta os valores de pH de acordo com os valores dos fermentados por bactérias ácido lácticas, sendo o pH abaixo de 4 (AQUARRONE. 2001).

Tabela 6 - Dureza do *nigauri* antes e depois da fermentação

<b>Textura</b>		
	<i>Nigauri in natura</i>	<i>Nigauri fermentado</i>
<b>Extremidade*</b>	0,20 Pa $\pm$ 0,01	0,09 Pa $\pm$ 0,00
<b>Meio*</b>	1,14 Pa $\pm$ 0,01	0,08 Pa $\pm$ 0,01

\*Média da triplicata  $\pm$  desvio padrão.

Fonte: Autoria própria.

Segundo dados da Tabela 6, pode-se perceber que, a porção da extremidade do vegetal é mais firme que o centro e, concluindo que o processo de fermentação auxiliou na redução da dureza do produto inicial devido à perda de umidade (tanto pelo esfregação de sal), a presença de enzimas no fermentado e pelas reações bioquímicas das bactérias ácido lácticas.

Durante o período de preparo experimental, desde o preparo do material até o processo final da pasta de farelo de arroz foram necessários 5 horas e 38 minutos, e para o preparo do vegetal foram necessários 3 horas e 13 minutos, segundo o Tabela 7:

Tabela 7 - Tempo gasto para o preparo da conserva

<b>Tempo gasto para o preparo da conserva</b>	
30 minutos	para a preparação do material
15 minutos	para a torra do farelo de arroz na temperatura média do fogão
23 minutos	para a preparação da salmoura em temperatura alta do fogão residencial
45 minutos	para o resfriamento da salmoura e do farelo
25 minutos	para preparar a mistura homogênea da pasta
30 minutos	para o fracionamento nos potes
20 minutos	para a organização dos materiais e ambiente que foi utilizado
2 horas	preparo e inserção do vegetal no fermentado (lavagem, remoção das partes não desejáveis, o corte, restando 415 g do <i>nigauri</i> antes de curtir)
30 minutos	diários para a mistura do fermentado nos potes por 7 dias.

Fonte: Autoria própria.

Calculando em média o tempo de uso dos equipamentos e mão de obra gastos, obteve-se um gasto de R\$105,75 para 348 gramas de conserva provenientes do fermentado de farelo de arroz, logo, o kg do produto final apresentaria um custo de aproximadamente R\$303,88. Se, elevarmos a produção para 3 kg de conserva final, teríamos um custo total R\$155,83, ou seja, R\$51,94 para cada quilo. Este produto poderia ser vendido no mercado pelo valor próximo de R\$18,00 em embalagens a vácuo ou o pote de 200g, assim como outros tipos de conservas como o *takuan* (conserva de nabo curtido) que é vendido no mercado a R\$31,67 o pacote de 500g em mercados da região.

As partes utilizadas do *nigauri* antes da fermentação totalizaram aproximadamente 69,33% e 30,67% as partes descartadas (polpas internas, extremidades, sementes), podendo este percentual aumentar, dependendo da variedade e se existirem partes danificadas do vegetal.

No experimento, foram fermentados 415 gramas (somente a parte desejada) iniciais e, após a fermentação pelo período de 2 dias, houve uma perda de peso para 348 gramas devido à perda de água.

Na pasta de farelo de arroz com salmoura ao qual foi adicionada a levedura isolada, foi possível perceber uma rápida fermentação em comparação com o controle (fermentação natural), porém, a adição dessa cultura starter não foi favorável para a obtenção da conserva devido à alta produção de composto volátil similar ao acetaldeído, ao qual não é agradável.

Houve um rendimento da conserva de *nigauri* de 58,13% e verificou-se a possibilidade da produção de conserva de pepino amargo curtido no farelo de arroz fermentado.

## 5. CONCLUSÃO

É possível fazer este tipo de conserva (*nukazuke*) a partir do *nigauri* e também utilizando outros vegetais como cenoura ou nabo. O rendimento e o custo apresentariam vantagens, uma vez que estes produtos são muito mais baratos em comparação com o *nigauri* e não haveria tanta perda de massa no produto final, além de não serem sazonais.

Para se manter no mercado, não seria viável somente produzir conservas à base de *nigauri* em pasta de farelo de arroz fermentado, uma vez que esta conserva se destinaria principalmente a consumidores que possuem gostos peculiares e exóticos. Assim, seria interessante produzir outras variedades de

vegetais curtidos neste farelo fermentado ou outras formas de conservas como o *suzuke*, *missozuke*.

O farelo de arroz fermentado por sua vez pode ser utilizado como adubo orgânico ou para a fabricação de rações para aquicultura. Produtos fermentados a partir de farelo de arroz são possíveis de produção desde que tomados os devidos cuidados de higiene e controle de temperatura e acidez. A possibilidade de produzir outros vegetais fermentados com farelo de arroz e que apresentem um sabor agradável para consumo possibilita oportunidades de ampliar ainda mais a diversidade de produtos fermentados lácticos, principalmente com um viés de produto oriental.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Laboratório Multiusuário do Câmpus Londrina da Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelas análises realizadas.

## REFERÊNCIAS

ACRÍTICA. **Cerca de 55% das hortaliças são desperdiçadas da produção ao pós-colheita no Brasil.** 9 ago. 2018. Disponível em: <http://www.acritica.net/editorias/geral/cerca-de-55-das-hortalicas-sao-desperdicadas-da-producao-ao-pos-colhei/315939/>. Acesso em: 08 jun. 2019.

AOAC. 1990. **Official Methods Of Analysis Of The Association Of Official Analytical Chemists.** Washington, Association of Official Analytical Chemists, 15. ed. Arlington, Virginia. 1990.

AQUARRONE, E. et al. **Biotechnologia Industrial.** São Paulo: Edgar Blücher, 2001.

ARCURI, N. **Como fazer um ovo de páscoa dourado e por quanto vender? Baixo custo e lucro alto! Feat Receitas de Minuto.** 2018. Disponível em: <https://mepoupenaweb.uol.com.br/>. Acesso em: 10 jun. 2019.

ASSUBAIE, N. F.; EL-GARAWANY, M. M. Evaluation of Some Important Chemical Constituents of *Momordica charantia* Cultivated in Hofuf. **Saudi Arabia Journal of Biological Sciences**, v. 4, n.1, p. 628-630. 2004.

BARGANTINI, C.; EIFERT, E. C. Secagem e Beneficiamento. In: SANTIAGO, Caros Martins; BRESEGHELLO, Heloisa Célis de Paiva; FERREIRA, Carlos Magri. **Arroz: o produtor pergunta, a EMBRAPA responde**. 2. ed. Brasília, DF: EMBRAPA, 2013. p.227-236.

DESAI, U. T.; MUSMADE, A. M. Pumpkins, squashes and gourds. In: SALUNKHE, D. K.; KADAM, S. S. **Handbook of vegetable science and technology: production, composition, storage and processing**. New York: Marcel Dekker, 1998. p. 273-298.

DOI, K. et al. Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Rice Bran Products. **Advances in Microbiology**., v. 3, p. 265-272, 2013.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. EMBRAPA. **A Embrapa, o arroz e você, juntos, por um Brasil melhor! Utilização do farelo de arroz**. 2004. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/216830/a-embrapa-o-arroz-e-voce-juntos-por-um-brasil-melhor-utilizacao-do-farelo-de-arroz>. Acesso em: 04 fev. 2019.

EVANGELISTA, J. Conservação de alimentos: conservação por fermentação. In: **Tecnologia de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. p. 285- 432.

FOOD ANALYSIS. Compositional Analysis of Foods. In: JR. Robert L. Bradley. **Moisture and Total Solids Analysis**. 2010.4<sup>o</sup> ed. USA: Springer, 2010. p. 85-104.

IMAI, M.; SATO, A.; ISHII, H. Study on the Volatile Components of 130-Year-aged “Nukadoko” for Pickling. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 9, p. 2209-2220, 1991.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Procedimentos e determinações gerais. In: **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. **Tabelas de composição de alimentos**. 5ed. Rio de Janeiro: IBGE, 1999. 137p.

JAPAN-GUIDE. **Japanese Pickles (Tsukemono)**, 2011. Disponível em: <https://www.japan-guide.com/>. Acesso em: 5 abr. 2019.

JAPÃO-ONLINE. **Receita de Goya Chanpuru – Um prato amargo de Okinawa**. Disponível em: <https://japao-online.com/>. Acesso em: 06 jul. 2019.

JI, X. et al. Effects of Lactic Acid Bacteria Inoculated Fermentation on Pickled Cucumbers. **Advance Journal of Food Science and Technology**, v. 5, n. 12, p. 1610-1617, 2013.

KENSHOSAKE. **Nukazuke: El Fermentado de salvado de arroz que jamas muere**, 2015. Disponível em: <http://www.kenshosake.com/en/nukazuke-el-fermentado-de-salvado-de-arroz-que-jamas-muere/>. Acesso em: 07 jul. 2019.

KIMURA, H.; **Preparation of Nuka-Zuke of Cucumber and Carrot by Using Hiroshi's Nukka-Doko**. Jul. 2018. Disponível em: <http://www.nukaken.jp/pdf/world.pdf>. Acesso em: 9 jun. 2019.

LARKCOM, J. **Oriental vegetables: the complete guide for the gardening cook**. Rev. ed. London: Kodansha International, 1991.

MEIO AMBIENTE. **Momordica charantia – Melão de São Caetano**. Set. 2013. Disponível em: <http://professoralucianekawa.blogspot.com/2013/09/momordica-charantia-melao-de-sao-caetano.html>. Acesso em: 23 jun. 2019.

NAGARANI, G.; ABIRAMI, A.; SIDDHURAJU, P. Food prospects and nutraceutical attributes of *Momordica* species: A potential tropical bioresources



– A review Gunasekaran. **Food Science and Human Wellness**. v.3, p. 117-126. 2014.

NIPPOBRASIL. **Tsukemono**, 2005. Disponível em: [http://www.nippo.com.br/historia\\_culinaria](http://www.nippo.com.br/historia_culinaria). Acesso em: 03 mar. 2019.

NIPPO BRASÍLIA. **Nigauri – Melão-de-são-caetano**, 2017. Disponível em: <http://nippobrasilia.com.br/culinaria/>. Acesso em: 6 jul. 2019.

O ESTADO ACRE. **IBGE: Salário médio do Brasileiro: R\$2,2 mil (600 dólares)**. 2018. Disponível em: <https://oestadoacre.com/blog/2018/10/31/salario-medio/>. Acesso em: 10 jun. 2019.

PEDROCCO, G. A indústria alimentar e as novas técnicas de conservação. In: FLANDRIN, Jean-Louis; MONTANARI, Massimo. **A história da Alimentação**. 6ª edição. São Paulo: Estação Liberdade, 1998. p. 763-778.

RIGOTTI, M. **Melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.), uma planta com potencial para a economia agrária e saúde alternativa**. Disponível em: [http://www.ppmac.org/sites/default/files/melaosaocaetano\\_rigotti.pdf](http://www.ppmac.org/sites/default/files/melaosaocaetano_rigotti.pdf). Acesso em: 06 jul. 2019.

SAWAIN, M. R.; RAY, R. C. Nutritional Values and Bioactive Compounds in Lactic Acid Fermented Vegetables and Fruits. In: \_\_. **Lactic acid fermented vegetables and fruits**. Spiros Parmethiotis. Apr. 2015. p. 36-52.

TOCANTINS, S. **Controle Financeiro: Custos e preço de venda na prestação de serviços**. 2019. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ufs/ap/artigos/custos-e-preco-de-venda-na-prestacao-de-servicos,b6c-6164ce51b9410VgnVCM1000003b74010aRCRD>. Acesso em: 10 jun. 2019.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Full Report (All Nutrients): 11024, Balsam-pear (bitter gourd), pods, raw**. National Nutrient Database for Standard Reference 2008. Disponível em <https://ndb.nal.usda>.

[gov/ndb/foods/show/301725?manu=&fgcd=&ds=SR&q=Balsam-pear%20\(bitter%20gourd\),%20pods,%20raw](http://gov.ndb/foods/show/301725?manu=&fgcd=&ds=SR&q=Balsam-pear%20(bitter%20gourd),%20pods,%20raw). Acesso em: 10 jun. 2019.

VASCONCELLOS, M. A. S.; MELO FILHO, A. B. **Conservação de Alimentos**. E-Tec Brasil. Recife: EDUFRPE, 2010.



## **DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E ANÁLISE ANTIOXIDANTE DA POLPA DE PITAIA (*HYLOCEREUS POLYRHIZUS*)**

*Anna Carolina Turman Silva  
Camila Fernanda Piva  
Amanda Martins Coutinho  
Sumaya Hellu El Kadri  
Lúcia Felicidade Dias  
Isabel Craveiro Moreira Andrei*

### **1. INTRODUÇÃO**

A busca por uma alimentação saudável leva a população a consumir cada vez mais alimentos que contribuam para a sua nutrição e saúde. Devido a essa conscientização e interesse da população, a fruticultura vem crescendo cada vez mais (COSTA, 2012). Além das frutas tropicais, que são consumidas diariamente, algumas frutas exóticas têm sido mais consumidas pelo brasileiro. Por outro lado, as indústrias, buscando um novo nicho de mercado, têm se interessado na produção de polpa de frutas com sabores e características diferentes. As frutas exóticas têm alto valor agregado por não apresentarem a mesma disponibilidade de mercado que as frutas tradicionais, como por exemplo, a Pitaia (SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS, 2017).

A Pitaia pode ser considerada uma fruta exótica e de pouco consumo nacional. Ela pertencente à família Cactaceae e por sua aparência é conhecida mundialmente como “Fruta-do-Dragão”. Segundo Abreu et al. (2012) e Jeronimo

(2016), existem várias espécies de pitaias, dentre elas destacam-se a *Hylocereus polyrhizus* (pitaia vermelha de polpa vermelha) e a *Hylocereus undatus* (pitaia vermelha de polpa branca).

As pitaias possuem alto poder antioxidante devido à presença de pigmentos como betacianinas e betaxantinas, além de serem fonte de polifenóis, ácido ascórbico, potássio, magnésio e carboidratos. A tabela de composição química dos alimentos disponíveis no Brasil não relata a composição da pitaia, o que não contribui para o conhecimento sobre os benefícios funcionais desse fruto (ABREU et al., 2012).

Dessa forma o presente trabalho visa analisar a atividade antioxidante da pitaia e sua composição físico-química, obtendo deste modo conhecimentos sobre a fruta e seus benefícios nutricionais, servindo de estímulo o consumo de frutas exóticas muitas vezes desconhecidas pela população.

## 2. PITAIA

No Brasil as frutas tropicais são marcadas por sua diversidade, devido ao país apresentar várias condições ecológicas, o que possibilita o cultivo de diferentes árvores frutíferas com o objetivo de diversificar sua produção. Com isso seu consumo é cada vez mais procurado devido ao seu valor nutritivo (RUFINO, 2008).

Compreendendo de 75 a 95%, a água é o principal componente das frutas. Além disso, há a presença de carboidratos, geralmente na forma de sacarose, glicose e frutose, com teores variando de 5 a 25% (PRADO, 2009).

Alguns estudos mostram que as frutas são ricas em nutrientes e compostos antioxidantes, principalmente em suas cascas e sementes, além de ter quantidade significativa de vitamina C o que traz benefícios para a saúde (VASCONCELOS; SILVA; GOULART, 2006).

A procura pela diversificação de culturas proporcionou um aumento pelo interesse de cultivo e consumo de frutas exóticas. O aproveitamento de espécies frutíferas exóticas reflete na oferta de novas alternativas de frutas frescas para consumo e matéria-prima para agroindústria, constituindo uma preciosa fonte de alimentos (NASCIMENTO, 2008).

A palavra pitaia significa fruta escamosa (SALINAS, 2000). Devido a suas características é conhecida como fruta-do-dragão, e apesar de ser uma planta rústica e que não exige muito do solo, requer alguns cuidados como adubação e

reposição de matéria orgânica e macronutrientes (NUNES et al., 2014). A planta consiste em um cacto rastejante com raízes aéreas, sua floração ocorre nos meses de novembro a março e costuma ter abertura floral noturna (MELLO, 2014).

A parte comestível da fruta (polpa) possui pequenas sementes distribuídas e representa de 60 a 80% do fruto maduro. A polpa apresenta um sabor doce e suave compreendendo um rendimento em torno 55% do fruto dependendo da espécie utilizada (LIMA et al., 2013; MARQUES et al., 2011).

Os frutos da pitáia não são climatéricos, sendo necessário que estejam no estágio ótimo de maturação na época da colheita, para que apresentem maior qualidade, devem ser deixados na planta até atingirem a composição desejável (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O consumo da fruta pode ser *in natura*, porém também é utilizado na produção de sorvetes, iogurtes, geleias, conservas, compotas, sucos, doces e bolos (COSTA, 2012).

A pitáia tem a presença de diversas substâncias antioxidantes como ácido ascórbico, carotenoides e polifenóis, o que tem levantado interesse nesse fruto devido aos benefícios dessas substâncias para a saúde humana (ABREU et al., 2012).

O fruto contém muita umidade, poucos lipídios e proteínas, maior quantidade de carboidratos, e quantidades de minerais e de vitaminas que não se destacam em relação a outras frutas. O que chama a atenção em alguns estudos relacionados à pitáia são os seus compostos bioativos principalmente seus pigmentos e metabólitos fenólicos. Esses compostos em vegetais estão relacionados com mecanismos de defesa da planta contra agentes externos, porém em seres humanos, desempenham papel importante de proteção como agentes antioxidantes, capazes de retardar ou inibir a oxidação de diversos substratos (LOPES et al., 2009; NUNES et al., 2014).

Entre os pigmentos presentes na pitáia, destacam-se as betalainas que é um pigmento presente na casca e na polpa da pitáia, é solúvel em água e contém ácido betalâmico em sua estrutura, é conhecido por suas propriedades antioxidante, anti-inflamatória e quimiopreventiva (GARCIA-CRUZ et al., 2013).

As betalainas se dividem em dois grupos distintos, as betacianinas e betaxantinas (WYBRANIEC et al., 2007; CAI et al., 2005). As betacianinas geralmente apresentam cor vermelho-púrpura e as betaxantinas cor amarelo-alaranjado, e compõem diferentes cores em flores e frutos. Dentre suas propriedades funcionais, as betalainas são identificadas como um forte antioxidante natural (NETZEL et al., 2005).

Na Figura 1 pode-se observar o fruto de pitáia vermelha madura aberta.

Figura 1- Fruta pitaia



Fonte: Autoria própria.

## 2.1 POLPA INDUSTRIALIZADA

Muitas empresas têm investido em novos produtos que trazem benefícios à saúde do consumidor. O creme de pitaia é produzido no Brasil somente por uma empresa. Segundo essa empresa esse creme é rico em ferro, vitamina A (betacaroteno), vitamina C e antioxidantes, além de não possuir corante utilizando somente os pigmentos presentes na fruta (FOODSERVICE NEWS, 2016).

Figura 2- Pitaia industrializada



Fonte: Autoria própria.

## 2.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

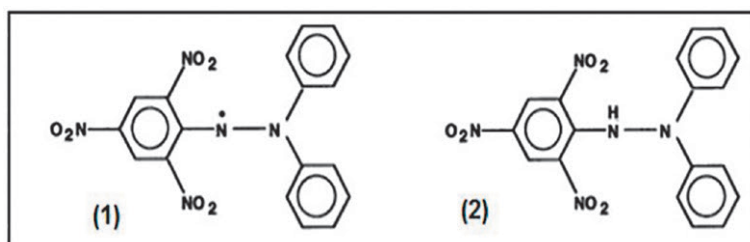
Segundo Sies e Stahl (1995), antioxidante é qualquer substância que, presente em baixas concentrações, quando comparada ao do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação desse substrato de maneira eficaz, ou seja, é um conjunto de substâncias formadas por vitaminas, minerais entre outros compostos vegetais que tem como finalidade bloquear o efeito danoso dos radicais livres. São obtidos nos alimentos como frutas, legumes e verduras.

Substâncias com núcleo fenólico, como tocoferol, flavonoides e ácidos fenólicos, apresentam destaque especial como antioxidante, por atuarem como eficientes captadores de espécies reativas de oxigênio (AL-MAMARY et al., 2002).

Acredita-se que os antioxidantes ajudam a prevenir doenças como câncer, doenças cardíacas, derrame, mal de Alzheimer, artrite entre outras. Os radicais livres são átomos ou moléculas que apresentam número ímpar de elétrons em sua órbita externa, com isso eles ficam mais estáveis e tendem a doar elétron, destruindo as moléculas de DNA, assim a função dos antioxidantes é fazer com que esse processo não ocorra (DOSSIÊ ANTIOXIDANTES, 2009).

A metodologia mais comum para se determinar a atividade antioxidante é a que envolve um radical livre, simulando as espécies reativas de oxigênio. O método mais utilizado é a avaliação da atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila – DPPH, que possui coloração violeta e absorve na faixa de 515-517 nm em espectrofotômetro (KOLEVA et al., 2002). O DPPH é um radical livre estável e quando está na presença de um antioxidante doador de hidrogênio, pode ser reduzido em meio alcoólico, formando difenil picrilhidrazina. Esta redução pode ser verificada pela diminuição da absorbância, com simultânea mudança de coloração violeta escura para amarela clara. Ou seja, quanto mais DPPH for reduzido, menor a coloração violácea, consequentemente maior a atividade antioxidante da solução testada (KOLEVA et al., 2002).

Figura 3 – (1) Difenilpicrilhidrazila (DPPH radical livre) e (2) Difenilpicrilhidrazina (não radical)



Fonte: Molyneux, 2004.



A ingestão de substâncias antioxidantes auxilia o mecanismo de defesa no controle dos danos causados nas células pelos radicais livres (ARAÚJO, 2004).

A capacidade antioxidante da pitaita está relacionada com a presença de ácido ascórbico, carotenoides, betalaínas e compostos fenólicos contidos na fruta, fazendo com que ela tenha um potencial para ser considerada como alimento funcional (TENORE; NOVELLINO; BASILE, 2012).

## 2.3 VITAMINAS

Vitaminas são moléculas que servem como catalisadores dentro do corpo humano. Mesmo não sendo fonte de energia são essenciais na transformação de energia. A classificação das vitaminas é devido a sua solubilidade em água ou gordura. As solúveis em gordura podem ser lembradas pela sigla ADEK. Essas vitaminas se acumulam nas gorduras e no fígado, já as solúveis em água incluem as vitaminas C e B e também são armazenadas no fígado. (DOSSIÊ VITAMINAS, 2014).

As vitaminas são responsáveis por regular as reações que ocorrem no metabolismo, em contraste com os macronutrientes (gorduras, carboidratos, proteínas), que são, justamente, os compostos utilizados nas reações reguladas pelas vitaminas. A ausência de uma vitamina bloqueia uma ou mais reações metabólicas específicas na célula, e pode eventualmente causar um distúrbio no balanço metabólico do organismo inteiro (QMCWEB, 2013).

As vitaminas mesmo em quantidades pequenas apresentam grande potencial na manutenção do organismo, sendo que cada uma delas tem função diferente.

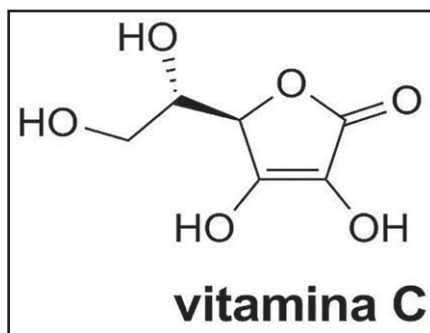
Uma das mais importantes é a vitamina C ou ácido ascórbico que está presente em frutas. Quando a vitamina C é consumida em excesso é excretada na urina na forma de ácido oxálico, trêônico e didroascórbico essas substâncias facilitam o aparecimento de cálculos renais. Uma de suas funções é reciclar a vitamina E, age também na produção e manutenção do colágeno além de melhorar a absorção do ferro (GEREMIAS, 2004).

Essa vitamina proporciona proteção contra a oxidação descontrolada no meio aquoso da célula, devido ao seu alto poder redutor, também contém substâncias com grande poder de neutralizar as moléculas de radicais livres (KLIMCZAK, 2007; JAYAPRAKASHA; PATIL, 2007).

A vitamina C auxilia na absorção do ferro no intestino, porém além dos seus benefícios para o organismo, age de diferentes formas proporcionando efeitos

benéficos em tratamentos estéticos para o combate de sinais do envelhecimento cutâneo por isso vem sendo realizadas pesquisas para utilização deste ácido na área de produtos cosméticos (CAYE et al., 2013). Na Figura 4 podemos ver a estrutura química da vitamina C.

Figura 4- Estrutura química da vitamina C



Fonte: Souza (2020).

### 3. METODOLOGIA

Os frutos de pitáia e a polpa industrializada foram adquiridos em comércio, na região de Londrina, o qual foram analisados no laboratório de Análise de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Londrina.

Foi utilizado fruta *in natura*, fruta congelada e polpa industrializada; a fruta *in natura* foi armazenada em baixa temperatura para conservação e a fruta congelada e a polpa industrializada foram armazenadas em *freezer*.

#### 3.1 MÉTODOS

As análises foram realizadas com a polpa da pitáia *in natura*, polpa congelada e polpa industrializada congelada para a determinação de antioxidante, seguindo o método de Rufino et al. (2007). As avaliações quanto ao teor de umidade, teor de cinzas, vitamina C e proteínas estão de acordo com a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008), sendo todas elas realizadas em triplicata.

## Análise de umidade

A análise de umidade foi realizada em triplicata e foi pesado 10,01 gramas de polpa *in natura* de pitaita, 10,06 gramas de polpa congelada, e 10,05 gramas de polpa congelada industrializada, em cadinho previamente aquecido em mufla a uma temperatura de 550 °C e posteriormente resfriado em dessecador; depois, esses cadinhos de porcelana foram levados à estufa, por aproximadamente 3 horas e resfriados em dessecador, foi repetido a operação até peso constante.

## Análise do Teor de Cinzas

Nesta análise, as amostras sofrem aquecimento em temperatura próxima a 550 °C, fundamentando-se na perda de peso que ocorre quando o produto é incinerado a 550 °C, com destruição da matéria orgânica sem apreciável decomposição dos constituintes do resíduo mineral ou perdas por volatilização.

A análise procedeu-se em triplicata com a pesagem de 10,01 gramas de polpa *in natura* de pitaita, 10,06 gramas de polpa congelada, e 10,05 gramas de polpa congelada industrializada, em cadinho previamente aquecido em mufla a uma temperatura de 550 °C e posteriormente resfriado em dessecador. A amostra foi carbonizada em bico de Bunsen e, em seguida, em mufla a 550 °C durante um período de doze horas. Passado o tempo, os cadinhos foram colocados em dessecador e pesados.

## Quantificação de Vitamina C

Este método é aplicado para a determinação de vitamina C, em alimentos *in natura* ou enriquecidos, quando a quantidade da referida vitamina for maior que 5 mg e baseia-se na oxidação do ácido ascórbico pelo iodato de potássio (ADOLFO LUTZ, 2008).

Foram pesados 5 g de cada amostra em balança analítica em erlermeyer de 250 mL, contendo 50 mL de água destilada, foi adicionado 10 mL de ácido sulfúrico 20%. Após a homogeneização, adicionou-se 1 mL da solução de iodeto de potássio a 10% e 1 mL da solução de amido a 1%. Após, foi feita a titulação com iodato de potássio 0,002 M até coloração azul. A análise foi realizada em triplicata.

## Análise quantitativa da atividade antioxidante

O método mais utilizado para determinação da ação antioxidante é o método DPPH, que se baseia na redução de um agente oxidante de coloração roxa (DPPH) em virtude da ação antioxidante da amostra.

A atividade antioxidante da polpa de pitaiá foi analisada pela capacidade dos antioxidantes, presentes na amostra, captarem o radical livre DPPH, conforme a metodologia descrita na literatura de Rufino et al. (2007).

O reagente DPPH foi feito em uma concentração de 0,06 mM, diluído em 100 mL de álcool metílico. Para fazer a determinação da ação antioxidante foram feitas diluições com diferentes concentrações, de 0 a 60  $\mu\text{M/mL}$ . As análises com as polpas *in natura*, congelada e industrializada foram realizadas em triplicata, com três diluições 20 diferentes (10%, 20% e 30% de polpa). Feito isso, foi transferido uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição para os tubos de ensaio com 3,9 mL do radical DPPH, deixando-as ao abrigo da luz ambiente por 30 minutos para posterior leitura em espectrofotômetro a 515 nm (RUFINO et al., 2007).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi determinado os teores de umidade da polpa *in natura*, congelada e industrializada.

Os resultados dos teores de umidade são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Determinação do teor de umidade da pitaiá

	<b>Polpa <i>in natura</i></b>	<b>Polpa congelada</b>	<b>Polpa industrializada</b>
Média	84,04%	86,68%	76,60%
Desvio padrão	$\pm 0,5421$	$\pm 0,2524$	$\pm 0,2460\%$

Fonte: Autoria própria.

Com base nos resultados obtidos na análise de umidade da pitaiá *in natura*, obteve-se uma média de 84,04%, este valor condiz com os valores encontrados na literatura, que apresenta uma umidade média de 84,83% de acordo com Fernandes et al. (2017).

A polpa da fruta foi congelada e armazenada para ser utilizada posteriormente. Esta polpa congelada foi submetida ao descongelamento lento e gradual para análise de umidade.

De acordo com os resultados obtidos, observa-se que o teor de umidade teve um pequeno aumento quando comparado com a polpa *in natura*, passando de 84,04% para 86,68%, resultando em uma diferença de 2,64%. Esse aumento na umidade deve-se ao fato da fruta estar congelada e reter mais água do que a fruta *in natura*.

A polpa industrializada foi submetida ao descongelamento lento e gradual para análise de umidade.

Observando-se os resultados, a polpa industrializada teve um percentual de umidade menor quando comprado com a polpa *in natura* e a polpa congelada, essa diminuição deve-se ao fato da adição de outros ingredientes na polpa industrializada.

Após a obtenção da análise da umidade, a polpa seca foi submetida à incineração, e foram obtidos os resultados da Tabela 2.

Tabela 2 - Teor de cinzas da pitaiia

	<b>Polpa <i>in natura</i></b>	<b>Polpa congelada</b>	<b>Polpa industrializada</b>
Média	0,5403%	0,3973%	0,1806%
Desvio padrão	±0,0355%	±0,00681%	±0,0528%

Fonte: Autoria própria.

A polpa de pitaiia *in natura* apresentou teor de cinza (0,54%), superior ao valor encontrado por Abreu (2009) que foi de 0,36%, para a polpa de pitaiia congelada e o valor obtido foi de 0,39% havendo uma pequena diferença em relação a polpa *in natura*. Supõe-se que isso possa ter ocorrido devido ao método de descongelamento, onde sais solúveis podem ter sido liberados juntamente com a água durante o processo. Na polpa industrializada o teor de cinza foi de 0,18%, havendo uma diferença considerável em relação às outras polpas, isso pode ser explicado pelo fato da polpa industrializada ter menos compostos minerais.

Os resultados obtidos de vitamina C, foram de 8,58 mg/100g para polpa *in natura*, 3,50 mg/100g para polpa congelada e 33,11mg/100g para polpa industrializada, conforme Tabela 3.

Tabela 3- Teor de vitamina C da pitaita *in natura*, congelada e industrializada

	<b>Amostra</b>	<b>Iodato de potássio (mL)</b>	<b>Resultado (mg/100 mL)</b>
	<i>Polpa in natura</i>		
Média	5,128	0,5	8,59±0,060
	<i>Polpa congelada</i>		
Média	5,035	0,2	3,50±0,01
	<i>Polpa industrializada</i>		
Média	5,053	1,9	33,11±2,800

Fonte: Autoria própria.

Quando observado o valor de vitamina C encontrado na polpa *in natura* (8,59 mg/100 mL), nota-se que foi inferior aos encontrados por Choo e Yong (2011) que encontraram teores médios de vitamina C iguais a 32,65 mg/100 mL. Pode-se observar que os teores de vitamina C podem variar de acordo com a espécie, origem e local de cultivar, pois embora a luz não seja essencial para a síntese de ácido ascórbico nos vegetais, a sua intensidade e a duração de exposição durante a estação de crescimento têm influência definida na quantidade de ácido ascórbico formado no fruto (CHITARRA; CHITARRA, 2005; OLIVEIRA et al., 2010).

A vitamina C é facilmente degradável, porém é estável na ausência de luz, oxigênio e calor, normalmente é estável com a redução da temperatura, porém há casos de perda durante o congelamento ou armazenamento. Em polpas de frutas, o teor de vitamina C pode ser diminuído como consequência do processamento inadequado (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

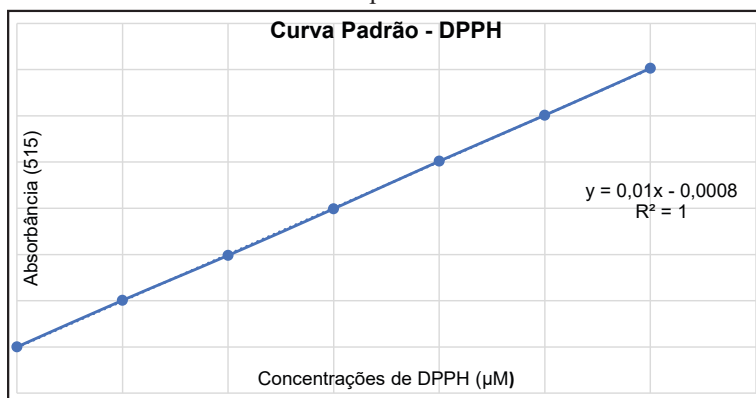
A redução do teor de vitamina C, na polpa congelada pode ser atribuída a mudanças na atmosfera ao redor dos frutos principalmente devido ao oxigênio.

A polpa industrializada apresentou índice de vitamina C maior que a polpa *in natura* e congelada, esse fato pode ser explicado devido à adição de vários aditivos em sua composição, em especial o ácido cítrico.

Para interpretar os dados do método de DPPH é utilizado o cálculo da “concentração eficiente que também é conhecido como valor EC50. Os dados de EC50 indicam a quantidade de amostra necessária para causar a perda de 50% da atividade de DPPH, ou seja, reduzindo sua cor de violeta para coloração amarelada, utilizando para leitura uma absorbância de 515 nm (MOLYNEUX, 2004).

A fórmula utilizada para o cálculo do fator de inibição obtendo os resultados descritos no Gráfico 1 foi  $AA = 100 - ((A_{am} * 100) / 60)$ , onde  $A_{am}$  = Absorbância da amostra e  $60 \mu M = DPPH$ .

Gráfico 1- Curva padrão de DPPH

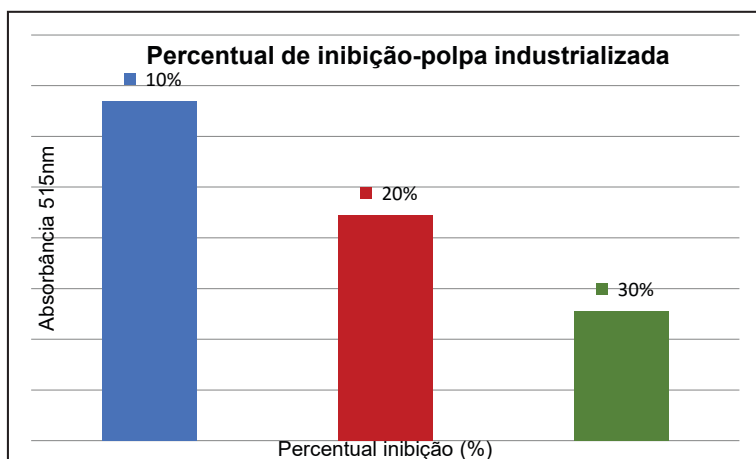


Fonte: Autoria própria.

Através da equação da reta apresentada no gráfico 1 ( $R^2 = 1$ ), pode-se obter o valor do  $EC_{50}$  de  $30 \mu M$ , contendo uma absorbância de  $0,299 \text{ nm}$ .

No Gráfico 2, com os dados obtidos após a leitura em espectrofotômetro, observa-se a atividade antioxidante com as diferentes concentrações de diluição, 10%, 20% e 30%.

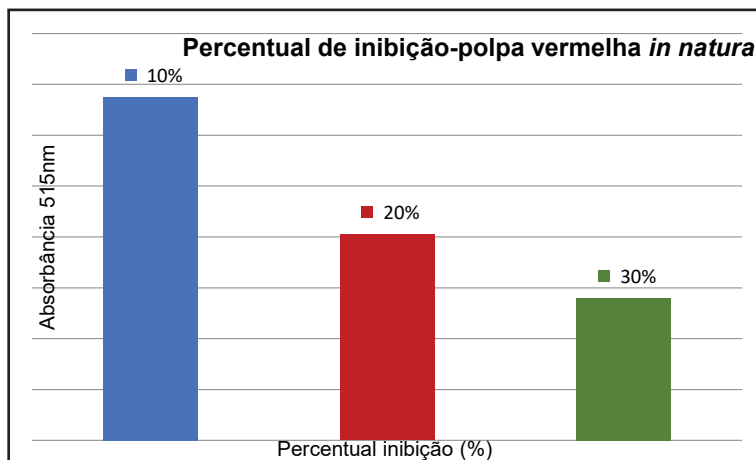
Gráfico 2- Percentual de inibição do extrato de pitáia industrializada em diferentes diluições



Fonte: Autoria própria.

Observou-se uma ação antioxidante da pitáia industrializada com inibição de 0,87% quando analisado uma solução de 10% de extrato da polpa. A solução feita com 30% de extrato mostrou uma inibição de 14,70% dos radicais livres demonstrando um crescimento proporcional ao aumento da concentração.

Gráfico 3- Percentual de inibição do extrato de pitáia vermelha *in natura* em diferentes diluições



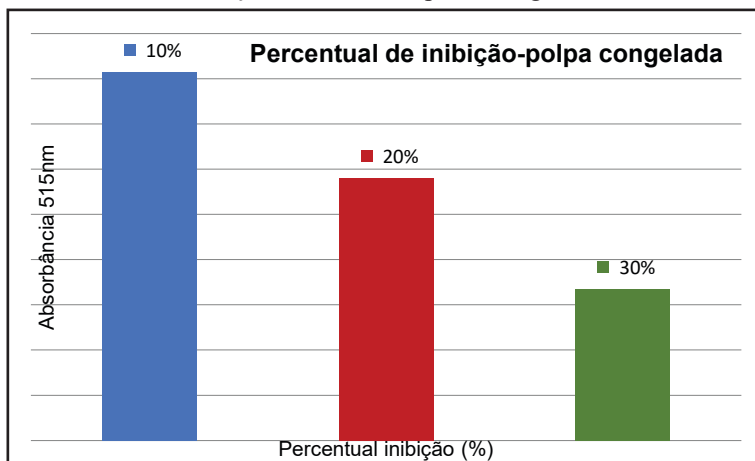
Fonte: Autoria própria.

Pode-se observar uma ação antioxidante da pitáia industrializada com inibição de 0,70% quando analisada uma solução de 10% de extrato da polpa, 9,70% na solução de 20% de extrato de polpa e 13,87% na solução de 30% de extrato de polpa.

Estudos realizados por Hanai et al. (2015), relatam um percentual de 20,99% de inibição pelo método DPPH, sendo esse valor superior ao obtido no presente estudo. Sabendo que a atividade antioxidante dos vegetais está relacionada com compostos provenientes do metabolismo secundário, que é responsável pelas relações ecológicas, adaptação e pelos mecanismos de defesa da planta (SANTOS et al., 2016), e que esses metabólitos podem ser mais produzidos em condições de estresse (SOUZA, 2013), esse resultado pode ser justificado pela época em que os frutos foram colhidos. Vizzotto et al. (2014), observaram maior atividade antioxidante na casca do que na polpa da pitáia.



Gráfico 4- Percentual de inibição do extrato de pitaita congelada em diferentes diluições



Fonte: Autoria própria.

No gráfico 4 pode-se observar uma inibição de 2,70% na solução com 10% de extrato de polpa, e 18,70 na solução com 30% de extrato de polpa.

## 5. CONCLUSÃO

Com relação ao percentual de inibição da atividade antioxidante, a pitaita quando industrializada e adicionada de demais ingredientes pode perder suas características antioxidantes. Pode-se observar que não houve variação evidente entre as amostras *in natura* e congelada nas análises de cinzas, umidade, atividade antioxidante, porém houve diferenças na amostra industrializada.

Na análise de vitamina C, houve diferença entre as amostras *in natura* e congelada, o que pode ter sido ocasionado pelo abaixamento de temperatura, presença de luminosidade e pelo processo de descongelamento. A diferença para a amostra industrializada deve-se ao fato de ser adicionado aditivos como por exemplo, o ácido cítrico.

Por meio dos resultados, pode-se observar que o consumo da polpa *in natura* é mais o recomendado por conservar suas características funcionais como atividade antioxidante e o teor de vitamina C. Além de acrescentar maiores informações sobre a pitaita para posteriores estudos, os resultados precedentes nos fornecem a ideia da sua utilização para outros fins, não só na indústria alimentícia para a elaboração de polpas, sucos e doces, devido ao seu pigmento, mas também em produtos cosméticos e nutracêuticos.

## REFERÊNCIAS

ABREU, W. C. et al. **Características físico-químicas e atividade antioxidante total de pitaias vermelha e branca**. Revista do Instituto Adolfo Lutz, Lavras, v.4, n.71, p.656-661, dez.2011/set.2012.

AL-MAMARY, M. et al. Antioxidant activities and total phenolics of different types of Honey. **Nutrition Research**, v. 22, p 1041-1047, 2002.

ARAÚJO, JÚLIO M. A. **Antioxidantes**. Química de alimentos: teoria e prática. In: \_\_\_\_\_. Antioxidantes. 3ª ed. Viçosa: UFV, 2004. p. 69-100.

CAI, Y. et al. **Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae**. Trends in Food Science & Technology, v. 16, n. 9, p.370-376, 2005.

CAYE, M. T. et al. **Utilização da Vitamina C nas alterações estéticas do envelhecimento cutâneo**. UNIVALI- Balneário Camboriú. 2013 Disponível em: <http://siaibib01.univali.br/pdf/Mariluci%20Caye%20e%20Sonia%20Rodrigues.pdf>. Acesso em: 22 maio 2017.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2 ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

CHOO W. S., YONG W. K. **Antioxidant properties of two species of Hylocereus fruits**. Advances in Applied Science Research, v. 2, n. 3, p. 418-425, 2001.

CORDEIRO, M. H. M. et al. **Caracterização física, química e nutricional da pitaiá-rosa de polpa vermelha**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v.37, n.1, p.1-2, jan./mar. 2015.

COSTA, A. C. **Adubação Orgânica e ensacamento de frutas na produção de pitaiá vermelha**. 2012. 69 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2012.

DOSSIÊ ANTIOXIDANTE. Os antioxidantes. **Food ingredients Brasil**. N 6, 2009. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf>. Acesso em: 22 maio 2017.

FOODSERVICE NEWS. **Creme de pitaya o novo “açai”?**.2016. Disponível em: <http://www.foodservicenews.com.br/creme-de-pitaya-o-novo-acai/>. Acesso em: 04 jun. 2019.

GARCIA-CRUZ, L. et al. **Physical, chemical and antioxidant activity characterization of Pitaya (Stenocereus pruinosus) Fruits**. Plant Foods for Human Nutrition, Dordrecht, v. 68, n. 4, p. 403-410, 2013.

GEREMIAS, G. **Pesquisa e desenvolvimento de produtos nutracêuticos para atletas com utilização de extratos vegetais**. 2004. 66 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Docência em Fitomedicina)- Asociación Argentina de Fitomedicina, Videira, 2004.

HANAI, L. N. et al. **Caracterização da capacidade antioxidante de duas espécies de pitaia**. In: Encontro Anual de Iniciação Científica, 24., 2015, Maringá. **Anais...** Maringá: .UEM, 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Procedimentos e determinações gerais**. In: \_\_\_\_\_. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 1. Ed. Digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008a. p. 83-670.

JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. **In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange**. Food Chemistry, v. 101, n. 1, p. 410-418, 2007.

JERONIMO, M. C. **Caracterização química, físico-química, atividade antioxidante e avaliação dos efeitos citotóxicos da pitaia-vermelha [hylocereus undatus (haw.) Britton & rose] cultivada no brasil**.2016. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

KLIMCZAK, I. et al. **Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices.** Journal of Food Composition and Analysis, v. 20, n. 3-4, p. 313-322, 2007.

KOLEVA, I. I. et al. **Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: a Comparative Study of Three Testing Methods.** Phytochemical Analysis, v. 13, n. 1, p. 8-17, 2002.

LIMA, C. A. et al. **Características físico-química, polifenóis e flavonóides amarelos em frutos de espécies de pitaias comerciais e nativas do cerrado.** Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 565-570, jun. 2013.

LOPES, T. F. F.; CORDEIRO, B. S.; MATTIETTO, R. A. **Caracterização físico-química de pitaias vermelhas cultivadas no Estado do Pará.** In: simpósio latino americano de ciência de alimentos, 8., 2009, Campinas. Ciência de alimentos no mundo globalizado: novos desafios, novas perspectivas. Campinas: Unicamp, 2009.

MARQUES, V. B. et al. **Fenologia reprodutiva de pitaias vermelhas no município de Lavras, MG.** Ciência Rural, Santa Maria, v.41, n.6, p.984-987, 2011.

MELLO, F. R. **Avaliação das características físico-químicas e atividade antioxidante da pitaya e determinação do potencial do mesocarpo como corante natural para alimentos.** 2014. 100 f. Tese (Doutorado em Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

MOLYNEUX, P. **The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.** Songklanakarin Journal of Science and Technology, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.

NASCIMENTO, V. E. **Caracterização de plantas de mamey.** 2008. 53 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2008.

NETZEL M et al. **Renal excretion of antioxidative constituents from red beet in humans.** Food Research International, v.38, p. 1051-1058, 2005.

NUNES, E. N. **Pitaia (Hylocereus sp.): Uma revisão para o Brasil.** Gaia Scientia., Paraíba, v. 8, n. 1, p. 90-98, mar. 2014.

OLIVEIRA, L. A. et al. **Composição química da pitaia vermelha (hylocereus polyrhizus) e branca (hylocereus undatus).** In: Congresso de pós-graduação da UFLA, 19., 2010, Lavras. Minas Gerais, 2010.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais.** 2009. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia em Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

QMCWEB: **Vitaminas.** Revista eletrônica do departamento de química da UFSC. Disponível em: [http://www.qmc.ufsc.br/quimica/pages/especiais/revista\\_especiais\\_vitaminas.html](http://www.qmc.ufsc.br/quimica/pages/especiais/revista_especiais_vitaminas.html). Acesso em: 22 maio 2017.

RUFINO, M. S. M. et al. **Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH.** Comunicado Técnico, Fortaleza, 2007.

RUFINO, M. S. M. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais.** 2008. 237 f. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2008.

SALINAS, A. S. **La jugosa historia de las frutas.** México: Clío, 2000.

SANTOS, M. R. V. et al. **Características físico-químicas, compostos bioativos, atividade antioxidante e enzimática de frutos da pitaia (Hylocereus undatus).** Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, Ponta Grossa, v.10, n.1, p. 2081-2095, jul/dez. 2016.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO A MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Produza e comercialize frutas que estão conquistando o mercado**, 2016. Disponível em <https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/produza-e-comercialize-frutas-que-estao-conquistando-o-mercado,ce7375d380a9e410Vgn-VCM1000003b74010aRCRD>. Acesso em: 25 abr. 2017.

SIES, H., STAHL, W. **Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants**. American Journal of Clinical Nutrition, Bethesda, v.62, n.6, p.1315-1321, 1995.

SOUZA, W. **Avaliação da atividade antioxidante e compostos fenólicos de extratos vegetais**. 2013. 37p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Tecnologia em Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013.

SOUZA, L. A. de. “Solubilidade de vitaminas”; *Brasil Escola*. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/quimica/solubilidade-vitaminas.htm>. Acesso em 25 ago. 2020.

TENORE, G. C.; NOVELLINO, E.; BASILE, A. **Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyhizus*) extracts**. Journal of Functional Foods, Napoli, v.4, n.1, p.129-136, 2012.

VASCONCELOS, S. M. L.; SILVA, A. M.; GOULART, M. O. F. **Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta: estrutura e função**. Nutrire, São Paulo, v.31, n.3, p. 95-118, 2006.

VIZZOTTO, M. et. al. **Determinação de compostos fenólicos, carotenoides 2 e atividade antioxidante em genótipos de pitaia (espécies não 3 determinadas)**. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 24., 2014, Cuiabá, 2014.

WYBRANIEC S et al. **Minor betalains in fruits of *Hylocereus* species**. Phytochemistry v. 2, n. 68, p. 251-259, 2007.



## **DESENVOLVIMENTO DE PROCESSO DE ENCAPSULAMENTO DE ANTICORPOS IGY VISANDO MANUTENÇÃO DA VIABILIDADE**

*Thaysa Amélia Bortoloti Fernandes  
Emerson José Venancio  
Lyssa Setsuko Sakanaka  
Marianne Ayumi Shirai  
Cláudio Takeo Ueno*

### **1. INTRODUÇÃO**

O conceito da microencapsulação originou-se a partir do modelo celular, pois a membrana cobre e protege o citoplasma, além de controlar a entrada e saída de nutrientes. Sendo assim, as micropartículas são compostas de um material encapsulante que isola a substância ativa a fim de preservá-la, sendo liberada apenas no local e momento adequado, estando em condições específicas de pH, temperatura, rompimento físico, dissolução e outros (SUAVE et al., 2006; OLIVEIRA, 2014).

Os primeiros registros desta técnica datam de 1930, mas a primeira aplicação comercial da tecnologia foi apenas em 1954 com a produção de papel de cópia sem carbono, composta com uma fina camada de microcápsulas de tinta que se rompia ao receber a pressão da ponta de um lápis, liberando o material encapsulado (SUAVE et al., 2006).



O desenvolvimento dessa tecnologia permitiu aplicações no meio agroindustrial, como em pesticidas, e na indústria alimentícia, que vem aumentando seu campo de aplicação desde corantes, temperos, vitaminas, minerais, embalagens, dentre outros, e se aplica também em produtos médicos, cosméticos e gráficos. Os objetivos desta técnica vão desde mascarar sabores e odores, como facilitar a manipulação do material, evitar perdas nutricionais, aumentar a vida de prateleira e preservar componentes (ROCHA, 2009; SUAVE et al., 2006; SILVA et al., 2003).

A aplicação das microcápsulas na indústria farmacêutica intensificou-se a partir da década de 50, tendo grande importância devido à possibilidade de liberação controlada de fármacos, redução do número de doses, tempo de trânsito no trato gastrointestinal e utilização em vacinas (SUAVE et al., 2006; JOSUÉ, 2002; VANDERBERG et al., 2001).

Dentre as formas de vacinação tem-se a imunização ativa, a qual o próprio organismo produz anticorpos naturalmente ou pelo contato com determinados antígenos, e a imunidade passiva, onde os anticorpos são transferidos pela placenta, aleitamento ou pela administração de anticorpos já prontos. Sendo assim, os anticorpos são essenciais para a proteção contra patógenos ao garantir a imunidade, uma vez que reconhece estruturas estranhas ao organismo (HOMMA et al., 2003).

Diferentes tipos de anticorpos estão disponíveis para pesquisa, diagnóstico e terapias. Estudos sobre a produção de anticorpos específicos da classe IgY têm sido aplicados com sucesso para fins científicos, diagnósticos, profiláticos e terapêuticos, pois é o principal anticorpo produzido nas aves, estando presente no soro sanguíneo (IgG) e na gema do ovo (IgY) (MICHAEL et al., 2010).

A utilização de anticorpos provenientes de ovos é uma tecnologia alternativa para prevenção e tratamento de doenças, tanto em humanos quanto em animais, e apresenta vantagens econômicas, quando comparada à extração de anticorpos de mamíferos, pela fácil manipulação das galinhas e por não haver sangria do animal, utilizando apenas os ovos (SOARES, 2013; FERNANDES et al., 2013).

Para administração oral de IgY em seres humanos, deve-se proteger a IgY contra a acidificação e degradação ao passar pelo estômago, chegando ao intestino e no local da infecção, intacta. Diante disto, o uso de procedimentos como microencapsulação, emulsificação, uso de lipossomas e outras técnicas de encapsulamento vêm sendo estudadas, demonstrando serem bem-sucedidas para melhorar a estabilidade destes anticorpos (KOVACS-NOLAN; MINE, 2005).

O objetivo deste trabalho foi microencapsular a imunoglobulina Y pela técnica de gelificação iônica, utilizando como agentes encapsulantes o alginato de sódio e a quitosana.

## 2. MICROENCAPSULAÇÃO

A microencapsulação é uma tecnologia que permite empacotar partículas, no qual o material empacotado é denominado de recheio ou núcleo e o material que forma a cápsula, é denominado de material encapsulante, cobertura ou parede. O tamanho das cápsulas pode ser classificado como nanocápsulas (< 0,2  $\mu\text{m}$ ), microcápsulas (0,2 a 5000  $\mu\text{m}$ ) e macrocápsulas (>5000  $\mu\text{m}$ ), podendo conter mais de um tipo de recheio e vários materiais de parede para um mesmo núcleo (AZEREDO, 2005; REBELLO, 2009).

As aplicações desta tecnologia são vastas e de modo geral é utilizada para mascarar sabores e odores, reduzir a volatilidade, conferir proteção à substância em relação aos agentes externos (umidade, luz, pH, calor e oxidação) e garantir estabilidade e viabilidade do material encapsulado (SILVA et al., 2003; NOGUEIRA, 2013).

No campo da indústria farmacêutica, esta técnica vem sendo utilizada devido à liberação precisa e controlada de fármacos, focando na melhoria da segurança e eficácia da ação do fármaco, permitindo que a substância ativa seja liberada lentamente ou pela ação de algum componente do meio, evitando a perda ou a redução da eficácia do composto ativo pela redução ou eliminação dos efeitos do suco gástrico ou redução dos efeitos secundários provocados por outro fármaco (NOGUEIRA, 2013; SILVA et al., 2003).

Diante das diversas aplicações e objetivos desta técnica, é importante analisar as características da substância ativa para definir o tipo de material de parede, as condições de processamento às quais a microcápsula deverá resistir sem liberar seu conteúdo, a concentração da substância ativa dentro da microcápsula, o mecanismo de liberação e estabilidade. Devem também atender as necessidades de sua aplicação, podendo ser alterada em relação a sua composição, tamanho, morfologia, processamento, mecanismo de liberação e custo (ROCHA, 2009).

A escolha do material de parede também é de grande importância, pois influencia na estabilidade e eficiência da microcápsula. As propriedades físico-químicas devem ser levadas em consideração, assim como a aplicação desejada, o método utilizado para formação das micropartículas, viscosidade,

higroscopicidade, capacidade de reação com o material ativo, não possuir sabor dependendo do caso da aplicabilidade em produtos alimentícios, viabilidade econômica e ser capaz de formar uma barreira entre a fase interna e externa garantindo proteção máxima ao material ativo em condições adversas (SUAVE et al., 2006; NEDOVIC et al., 2011; SILVA et al., 2014).

A escolha do método de microencapsulação varia de acordo com o material ativo e do agente encapsulante, em relação à aplicação e tamanho da micropartícula, mecanismo de liberação e de suas propriedades físico-químicas (SUAVE et al., 2006; ROCHA, 2009). Os métodos se diferem quanto ao modo de formação das micropartículas, em relação a como os agentes se interagem, portanto, podem ser divididos em:

- Métodos físicos: *spray drying*, *spray cooling*, pulverização em banho térmico, leite fluidizado, extrusão centrífuga com múltiplos orifícios, cocristalização e liofilização;
- Métodos químicos: inclusão molecular e polimerização interfacial;
- Métodos físico-químicos: coacervação, emulsificação seguida de evaporação do solvente, pulverização em agente formador de reticulação (gelificação iônica) e envolvimento lipossômico (SUAVE et al., 2006; SANTOS; FERREIRA; GROSSO, 2000).

Para ocorrer a formação das microcápsulas, é necessário basicamente três fases: a preparação da solução contendo o material de parede e o material ativo (recheio), a deposição do material de parede ao redor do recheio e a fixação ou solidificação da estrutura da parede (ROCHA, 2009).

Um das técnicas que vem sendo comumente empregada e considerada rápida, com procedimentos simples e relativamente de baixo custo é a gelificação iônica. Esse é um método de encapsulação de compostos tanto hidrofílicos quanto hidrofóbicos e utiliza a capacidade dos polieletrólitos de fazerem ligações cruzadas na presença de íons com cargas opostas para formar uma estrutura em malha tridimensional. Sendo assim, uma solução polimérica carregada negativamente forma ligações cruzadas com cátions de baixa massa molecular, formando hidrogéis (HOLKEM, et al., 2015; COSTA, 2014).

Esta técnica pode ser dividida em gelificação iônica interna, que é baseada na liberação de íons de cálcio em uma solução polimérica contendo o material de recheio, é emulsificada em uma fase oleosa contendo surfactante seguida de redução do pH, provocando então a liberação dos íons cálcio e sua complexação. E há a

gelificação iônica externa, que ocorre pela interação de diferentes polissacarídeos na presença de íons multivalentes (NOGUEIRA, 2013).

O tempo de permanência das partículas na solução reticulante, o pH e concentração do polissacarídeo e do cátion são fatores que podem influenciar na porosidade e estabilidade das micropartículas formadas, podendo determinar o tempo de liberação do material ativo (NOGUEIRA, 2013).

## 2.1 AGENTES ENCAPSULANTES

Para o método de microencapsulação há uma grande variedade de agentes encapsulantes que podem ser utilizados, dentre eles podemos citar as gomas (goma arábica, ágar, alginato de sódio, carragena), os carboidratos (amidos, pectina, dextrinas, celulose e quitosana), os lipídeos (cera, parafina, triestearina, ácido esteárico, mono e diglicerídeos, óleos e gorduras hidrogenadas), as proteínas (glúten, caseína, isolado proteico de soro de leite, gelatina e albumina) e os polímeros sintéticos (poliacrilatos, copolímeros de polietileno-*co*-propileno, poli( $\epsilon$ -caprolactona) (SUAVE et al., 2006; NOGUEIRA, 2013).

### Alginato

O alginato é um polissacarídeo que pode ser extraído de algas pardas (*Phaeophyceae*, *Laminaria hiperborea*, *Laminaria digitata*, *Laminaria japonica*, *Ascophyllum nodosum* e *Macrocystis pyrifera*) e suas características podem variar de acordo com a espécie da alga e das diferentes partes da planta utilizadas para extração, assim como pode ser também obtido por bactérias. As aplicações industriais do alginato estão ligadas às suas propriedades de estabilizante, capacidade de reter água, viscosidade, solubilidade e capacidade de formação de gel (BRESSEL, 2007; LEE; MOONEY, 2012).

Estruturalmente, o alginato é um polissacarídeo linear constituído por unidades monoméricas, o ácido  $\beta$ -D-manurônico (M) e o ácido  $\alpha$ -L-gulurônico (G), que se agrupam em blocos sequenciais MM, MG e GG, por diferentes ligações glicosídicas entre os carbonos C-1 e C-4 das unidades monoméricas. Estas ligações variam com a proporção, distribuição e número de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas destes blocos, que irão definir as configurações espaciais dos blocos M e G, determinando as propriedades químicas e físicas da molécula de alginato (BRESSEL, 2007). As unidades M e G nos alginatos podem ser

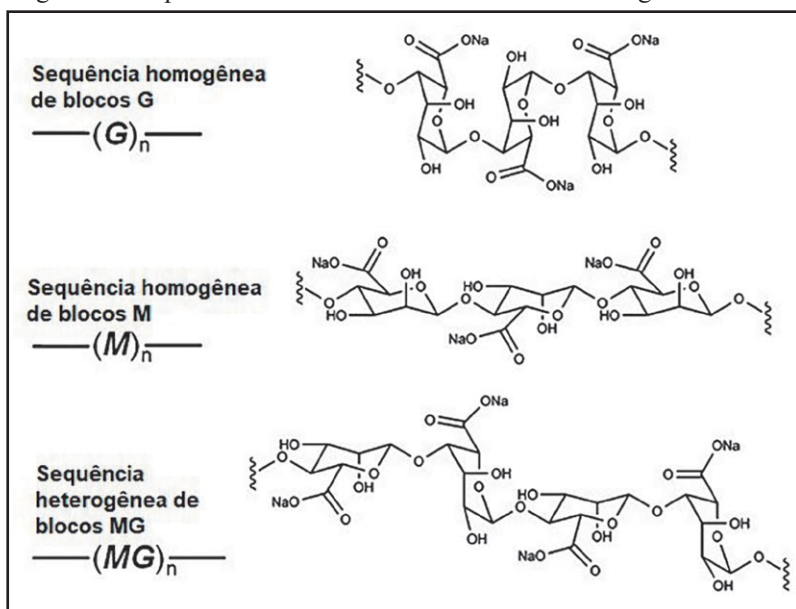
aleatoriamente ou não aleatoriamente organizadas como sequências heterogênea ou homogênea (Figura 1) (FU et al., 2011).

As propriedades como inchaço osmótico, difusão, resistência mecânica, estabilidade química, densidade de carga, transparência e atividade biológica são conduzidas principalmente pela composição e estrutura sequencial do alginato (STRAND et al., 2002; MARTINSEN; SKJBK-BRAEK; SMIDSRSD, 1987). Da mesma forma, a gelificação do alginato sofre interferência da composição e distribuição dos blocos M e G, pela concentração de alginato, presença de impurezas, concentração dos íons gelificantes e também pelo tamanho da gota (BRESSEL, 2007).

Os géis são formados na presença de cátions divalentes como o cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e para explicar as propriedades gelificantes do alginato, um modelo foi proposto por Grant et al. em 1973, conhecido como o modelo “caixa de ovo” (Figura 2). Esse modelo exemplifica como os cátions (como cálcio) interagem com os monômeros de ácidos gulurônicos gerando um emparelhamento de blocos G, sendo que o alginato modifica a sua forma linear gerando uma rede tridimensional, ampliando a possibilidade de mais íons cálcio reagirem com o alginato, formando então estruturas cada vez mais complexas (BRESSEL, 2007; FU et al., 2011).

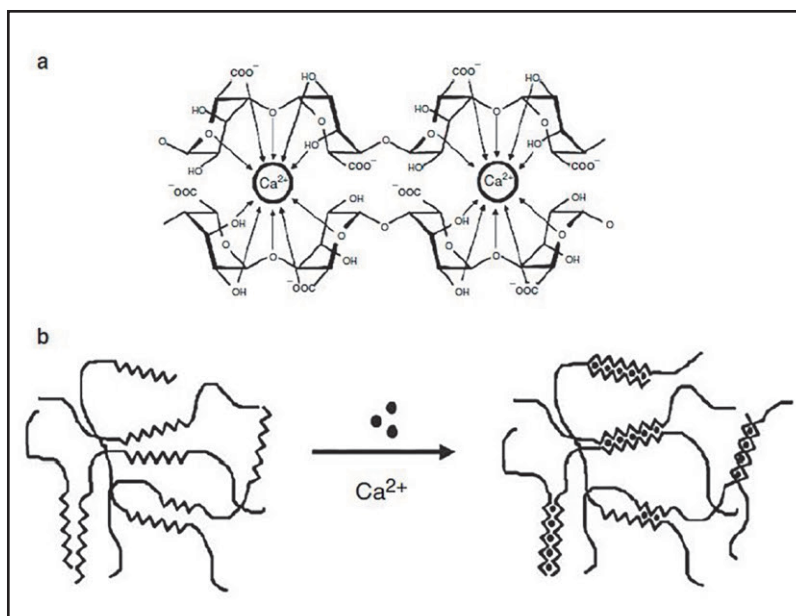
Durante a gelificação com alginato, os cátions divalentes se ligam preferencialmente aos blocos G de uma maneira altamente cooperativa, pois os resíduos G exibem uma afinidade mais forte por íons divalentes do que os resíduos M (TONNESEN; KARLSEN, 2002). As interações iônicas entre blocos G e os íons cálcio causam a formação de um gel mais resistente e termoestável cujas propriedades dependem em grande parte sobre as características do polímero e da escolha do método (REIS et al., 2006; FUNDUEANU et al., 1999).

Figura 1 – Sequências de unidade M e G na estrutura de alginato de sódio



Fonte: Adaptado de FU et al. (2011).

Figura 2 – Modelo “caixa de ovo” para a estrutura do gel de alginato de cálcio



A. O modelo “caixa de ovos”. B. Formação de junções intercadeias.

Fonte: Rehm (2009).

Na indústria alimentícia o alginato é muito utilizado por sua capacidade de estabilizar misturas, dispersões e emulsões aquosas, em conjunto com as propriedades de formação de gel e viscosidade. Pode ser encontrado na formulação de sorvetes, produtos lácteos e misturas para bolos, cervejas e sucos e, em filmes bioativos para recobrimento de alimentos (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2013).

Da mesma forma é muito utilizado nas áreas médicas e farmacêuticas, como em medicamentos para refluxo, curativos e imobilização de células, organismos microbianos vivos e animais, agente encapsulante, agente gelificante, agente de formação de filmes, dentre outras diversas aplicações. Sua semelhança estrutural a matrizes extracelulares de tecidos vivos permite também amplas aplicações na cicatrização de feridas, entrega de agentes como pequenas drogas químicas e proteínas com liberação controlada, e transplante de células (BRESSEL, 2007; MARTINSEN; SKJBK-BRAEK; SMIDSRSD, 1987; LEE; MOONEY, 2012).

Sua aplicação é bem valiosa para a indústria farmacêutica, pois pode formar um gel capaz de aprisionar e liberar drogas de forma controlada, além de possuir baixo custo, baixa toxicidade e ser hidrofílico (MURTAZA et al., 2011; LEITE, 2014). Devido a esta propriedade, vários estudos foram desenvolvidos e demonstraram que as esferas de alginato de cálcio são excelentes veículos, tornando possível realizar a encapsulação de agentes bioativos e macromoléculas como células, enzimas, proteínas e vacinas (PATIL et al., 2010).

## Quitosana

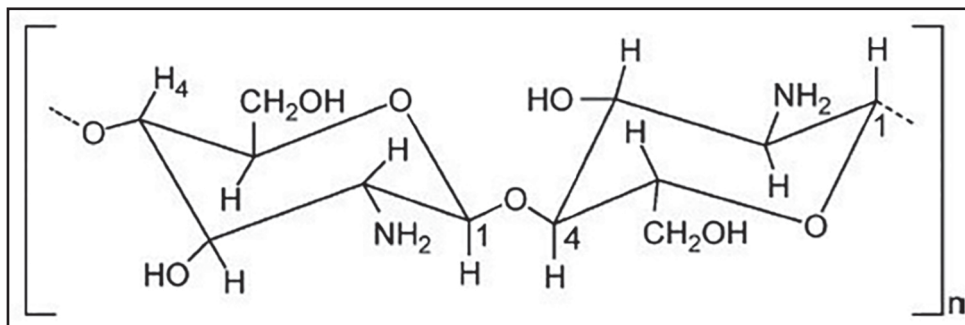
A quitosana (Figura 3) é um polissacarídeo catiônico não ramificado, composto de copolímeros de unidades de D-glucosamina e N-acetil-d-glucosamina ligadas por ligações  $\beta$ -(1-4) glicosídicas (MATEESCU; ISPAS-SZABO; ASSAAD, 2015).

É derivada da quitina, polímero natural extraído do exoesqueleto de crustáceos e insetos, e foi isolada em 1859 pelo aquecimento da quitina em solução concentrada de hidróxido de potássio, resultando na sua desacetilação (DAMIAN et al., 2005).

É um polímero biodegradável e se caracteriza por possuir grupos amínicos livres, pela solubilidade em soluções ácidas e em pH inferior a 6,5, insolubilidade em solventes orgânicos, em pH superior a 6,5 e em ácido sulfúrico. Possui capacidade de formar soluções viscosas com formação de gel com poliânions e de se solubilizar em misturas de água e álcool (JOSUÉ, 2002; DAMIAN et al., 2005).

O grau de desacetilação, distribuição de massa molar e conteúdo de impurezas da quitosana são dependentes das fontes naturais de matéria-prima e dos métodos de preparação (LARANJEIRA; FAVARE, 2009).

Figura 3 – Estrutura química da quitosana



Fonte: Van der Merwe et al. (2004).

Sua aplicação é ampla, desde a área alimentícia, nutrição, biotecnologia, agricultura, tratamento de águas, produção de cosméticos, medicamentos, membranas semipermeáveis e no desenvolvimento de biomateriais, além de possuir propriedades antimicrobianas e estimulantes do sistema imune, as quais são manifestadas na aceleração de cicatrizações de feridas (SANTOS; SOARES; DOCKAL, 2003; AZEVEDO et al., 2007; DAMIAN et al., 2005; FERRARI; GENENA; LENHARD, 2016).

A quitosana pode se complexar eletrostaticamente com grupos aniônicos como a pectina, a goma xantana e o alginato, formando complexos polieletrólitos e proporcionando propriedades físico-químicas eficientes para o desenvolvimento de formulações e sistemas de administração de fármacos (TAGLIARI, 2012).

### Complexo polieletrólito alginato-quitosana

Os complexos de polímeros são formados pela associação de dois ou mais polímeros complementares e podem se ligar através das forças eletrostáticas, interações hidrofóbicas, pontes de hidrogênio, ou pelas combinações dessas interações. Estes complexos podem ser formados entre porções de cargas opostas na mesma cadeia polimérica, ou nas mesmas unidades monoméricas. Desta forma, polieletrólitos em solução podem se ligar a íons multivalentes para formação de gel ou coacervados (DUMITRIU, 2001).



O alginato é um polieletrólito aniônico frequentemente utilizado na formação de complexos com quitosana (catiônico). Ao mesmo tempo em que o complexo formado entre estes dois polímeros é biodegradável, possui biocompatibilidade e mucoadesividade. É também mecanicamente forte em baixos valores de pH onde a quitosana é solúvel, características as quais proporcionam grande interesse para a liberação controlada de agentes ativos (TAGLIARI, 2012).

Em solução aquosa, os grupos amino da quitosana interagem com os grupos carboxílicos do alginato de sódio para formar um complexo polieletrólito de alginato-quitosana. Com este complexo, a dissolução de quitosana em pH baixo é reduzida pelo alginato e a dissolução do alginato em pH neutro é reduzida pela quitosana, e estruturalmente o complexo reduz a porosidade dos grânulos de alginato e diminui a liberação do composto encapsulado. Alguns fatores podem afetar as propriedades das cápsulas de alginato-quitosana, como a composição do alginato utilizado, bem como seu peso molecular e o grau de desacetilação da quitosana (GEORGE; ABRAHAM, 2006; MATEESCU; ISPAS-SZABO; ASSAAD, 2015).

Existem três tipos de interações nas redes de alginato-quitosana: interação eletrostática entre cargas opostas dos polos; interação eletrostática de íons de cálcio com alginato; e ligações de hidrogênio intercadeias de alginato-quitosana (LIU et al., 1997).

Dois diferentes procedimentos podem ser utilizados para preparar partículas de alginato e quitosana e, em ambos, o revestimento de quitosana é formado. O primeiro procedimento consiste em gotejar a solução de alginato em uma solução de quitosana contendo cloreto de cálcio, assim os íons de cálcio, devido ao seu baixo peso molecular, se difundem mais rapidamente que a quitosana no núcleo de alginato para formar um núcleo de gel (Li et al., 2009a; MATEESCU; ISPAS-SZABO; ASSAAD, 2015).

O segundo procedimento é um método de duas etapas, onde a solução de alginato é gotejada em uma solução de cálcio para formar as partículas de alginato-cálcio, em seguida as partículas já formadas são suspensas em uma solução de quitosana, permitindo a formação de uma camada de quitosana na superfície da partícula. O material a ser encapsulado é disperso na solução de alginato ou na solução de quitosana antes de misturar estas duas soluções (GASEROD; SMIDSROD; SKAJAK-BRAEK, 1998; MATEESCU; ISPAS-SZABO; ASSAAD, 2015).

O contato entre o alginato e o cálcio em solução induz a polimerização iônica interfacial imediata do alginato através da ligação do cálcio dentro das

cavidades dos resíduos gulurônicos, formando assim uma microcápsula polianiónica. A adição de polication ao meio de gelificação induz a formação de complexos polianiónico-policatiônicos, que estabilizam a rede de gel iônico e reduzem a permeabilidade ao alginato (VANDERBERG et al., 2001).

## 2.2 MECANISMO DE LIBERAÇÃO

Um dos principais objetivos da microencapsulação, pelo qual é muito utilizada industrialmente, é a liberação controlada. A liberação do material ativo ocorre de uma forma controlada por um período de tempo, evitando a perda do material durante o processamento e a possível interação com agentes reativos, assim como a perda de sua integridade (ROCHA, 2009).

Os mecanismos de liberação do material ativo microencapsulado variam de acordo com as características dos agentes encapsulantes e condições do meio, com a variação de temperatura, de pH, solubilidade do meio, biodegradação, ruptura mecânica, permeabilidade seletiva e gradiente de concentração existente em relação ao meio de liberação, dissolução em solventes, intumescimento, pressão osmótica, por difusão ou ação de enzimas (ROCHA, 2009; JOSUÉ, 2002; FAVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

Dentre estes mecanismos o mais comum é a difusão, onde o material ativo migra de sua posição inicial no polímero para a superfície e posteriormente para o lugar de atuação. As etapas envolvidas na liberação do recheio são: absorção de solvente pela cápsula (como a água); dissolução da parede; dissolução do recheio e permeação do recheio pela parede e difusão do recheio no solvente (ROCHA, 2009; JOSUÉ, 2002).

Se a administração das microcápsulas for via oral, deve-se levar em consideração as condições fisiológicas por onde ela percorrerá, para verificar se tais condições irão interferir na integridade da microcápsula, e então projetar o sistema de liberação controlada adequado para que o material ativo seja liberado somente no local desejado. Portanto, as condições do meio gastrointestinal devem ser avaliadas, pois fatores como pH, o esvaziamento gástrico e a atividade de enzimas digestivas podem interferir na integridade das microcápsulas (JOSUÉ, 2002).

## 2.3 OVOS DE GALINHA

O ovo de galinha (*Gallus domesticus*) é um dos alimentos mais completos para a nutrição humana, pois é rico em vitaminas, minerais, ácidos graxos e proteínas que reúnem vários aminoácidos essenciais de excelente valor biológico (RÊGO et al., 2012).

A produção industrial do setor de ovoprodutos demonstrou uma enorme capacidade de rentabilização e aproveitamento de todas as partes do ovo, ampliando os diversos tipos de produtos à base de ovos que são ofertados no mercado, possuindo versatilidade, fácil armazenamento e utilização, mantendo um nível de estabilidade, uniformidade e garantia de controle microbiológico (GOMES, 2012).

O ovo é constituído por três partes principais: casca, gema e clara. Além disso, possui outras partes em menor proporção como o disco germinativo, a calaza, a câmara de ar, a cutícula e as membranas da casca (GOMES, 2012; MINE, 2008).

A clara do ovo consiste de 88% de água, 11% de proteínas e uma pequena quantidade de lipídeos, carboidratos e minerais. Por outro lado, as proporções para gema de ovo são cerca de 48% de água, 32-35% de lipídios, 15,7-16,6% de proteínas, 0,2-1,0% de carboidratos e 1,1% de teor de cinzas (MINE, 2008).

As proteínas estão distribuídas por todo o ovo, sendo encontradas em sua grande maioria na gema e clara de ovo, e uma pequena porção na casca e membrana de casca do ovo, enquanto os lipídios são encontrados quase exclusivamente na gema, principalmente na forma de lipoproteínas, e podem estar combinadas com outras proteínas (KOVASC-NOLA; PHILLIPS; MINE, 2005; MINE, 2008).

A gema pode ser dividida em sobrenadante e precipitado. Os principais componentes dos grânulos da gema são lipoproteínas de alta densidade (HDL) ( $\alpha$ -lipovitelinas e  $\beta$ -lipovitelinas), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e fosvitinas (MINE, 2008).

O plasma é composto por proteínas solúveis em água, que são as  $\alpha$ -livetinas (80 kDa),  $\beta$ -livetinas (40-42 kDa) e  $\gamma$ -livetinas (180 kDa). As  $\gamma$ -livetinas, também denominadas imunoglobulina Y, compreendem glicoproteínas estruturalmente diferentes da IgG de um mamífero. Elas podem ser encontradas tanto no soro da ave como na gema do ovo (KOVASC-NOLA; PHILLIPS; MINE, 2008).

Atualmente, as galinhas são submetidas a processos de imunização, na qual são injetados antígenos, para estimular o sistema imune desses animais e então protegê-los contra doenças infecciosas. Da mesma forma que os anticorpos

maternos, em mamíferos, são transferidos para a prole via placenta e através do aleitamento, a imunidade adquirida de galinha é transmitida aos seus filhotes através do ovócito. A partir deste conhecimento, a coleta de ovos não embrioados é considerada como uma potencial fonte de produção de anticorpos IgY (MINE, 2008).

## 2.4 IMUNOGLOBULINAS

O sistema imunológico é constituído por diversas células e moléculas presentes em todo o organismo, sendo capaz de reconhecer especificamente determinados patógenos provocando sua destruição ou inativação. A capacidade de defesa do organismo desencadeia diferentes respostas imunológicas, como resposta imune inata e adaptativa, responsáveis por combater tais patógenos (MARTÍNEZ; ALVAREZ-MON, 1999).

A resposta imune inata está sempre disponível a combater uma variedade de patógenos, através de mecanismos de defesa celulares e bioquímicos, mas não conduz a uma imunidade duradoura e não é específica para nenhum patógeno individual. Já a resposta imune adaptativa é desenvolvida durante a vida do indivíduo como uma adaptação às infecções causadas por um ou mais patógenos (antígenos) e, é caracterizada por sua especificidade e capacidade de responder repetidas vezes ao mesmo patógeno conferindo então uma memória imunológica (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

Os componentes exclusivos da imunidade adaptativa são células denominadas linfócitos e seus produtos secretados, tais como anticorpos, a qual é dividida em imunidade humoral (mediado por linfócitos B, secretores de anticorpos) e imunidade celular (mediado por linfócitos T, reconhecem patógenos e auxiliam na ativação dos linfócitos B) (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

As imunoglobulinas (Ig), também chamadas de anticorpos, são produzidas pelos linfócitos B na medula óssea e secretadas no soro. São moléculas de natureza glicoproteica, divididas em classes e subclasses e fazem parte do sistema imune humoral, que é dirigido para infecções bacterianas, vírus extracelulares e também para proteínas estranhas. Possuem a função de reconhecer o antígeno, se ligar a estas moléculas identificadas como estranhas e neutralizá-la (NELSON; COX, 2014).

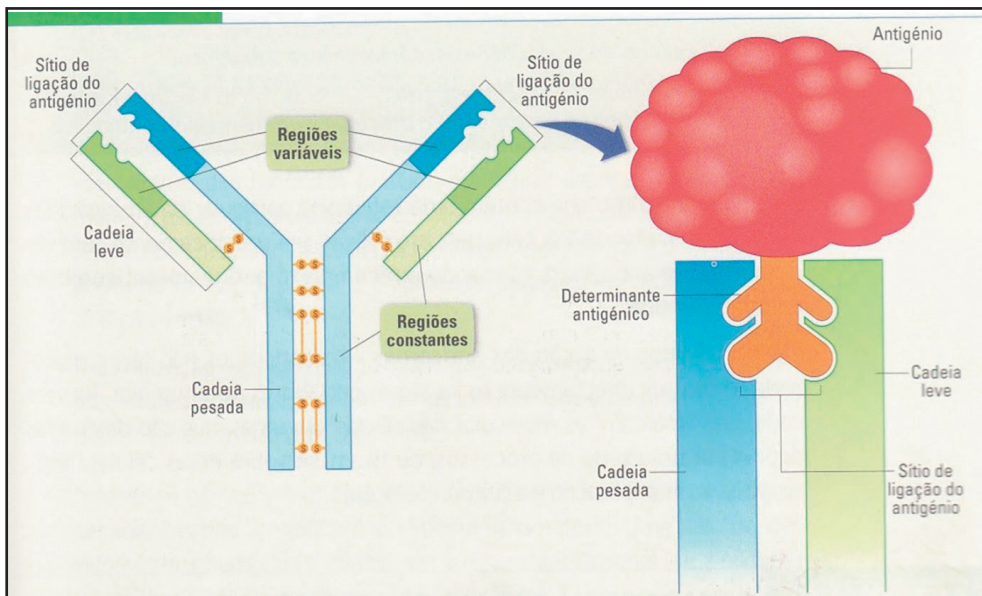
Os anticorpos têm uma estrutura composta por duas regiões distintas, sendo uma região constante e uma região variável. Cada molécula possui quatro cadeias de polipeptídios ligadas covalentemente por pontes de dissulfeto, sendo duas

cadeias pesadas idênticas e duas cadeias leves idênticas (Figura 4). As cadeias leves e pesadas possuem regiões variáveis que se combinam para formar um sítio de ligação do antígeno, então, ambas as cadeias contribuem para a especificidade de ligação do antígeno da molécula de anticorpo (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2010).

Em mamíferos existem cinco classes de imunoglobulinas, conhecidas como IgM, IgG, IgD, IgA e IgE, que podem ser distinguidas por suas regiões constantes, enquanto as diferenças na região variável são em relação a especificidade de ligação com o antígeno (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2010).

Em aves existem três classes de imunoglobulinas, IgM, IgA e IgG. Os anticorpos IgG são encontrados no soro e nos ovos, mas existem algumas características diferentes entre a IgG de mamíferos e de aves, como peso molecular, ponto isoelétrico, temperatura de desnaturação, a não interação da IgG com receptores de fragmentos Fc e nem com proteínas do sistema complemento dos mamíferos. Outrora, a IgG aviária que está presente no ovo é denominada também de anticorpo da gema de ovo e imunoglobulina Y (IgY) (MINE, 2008; FERREIRA JÚNIOR, 2012; GUIMARÃES, 2005; KOVACS-NOLAN; MINE, 2012).

Figura 4 – Estrutura da Imunoglobulina



Fonte: Blogspot (2010).

A vacinação de galinhas, coleta e processamento automatizados de ovos já são realizados em escala industrial, tornando a produção em larga escala de IgY tecnicamente viável (KOVACS-NOLAN; MINE, 2012).

A utilização de IgY possui vantagens atrativas quando comparadas ao isolamento de anticorpos de mamíferos, pois este envolve geralmente processo de imunização e sangria do animal. Em aves, o processo é mais eficiente por meio da redução do número de animais, diminuição do sofrimento causado ao animal, uma vez que se utilizam os ovos das aves, além de que as galinhas têm menor custo de manutenção e são de fácil manipulação (KARLSSON; KOLLBERG; LARSSON, 2004; SOARES, 2013).

Há diferentes métodos de isolamento, eficientes e econômicos, no entanto garantem diferentes estabilidades, atividade, pureza e rendimento do processo e do anticorpo extraído. A escolha de um método específico depende do rendimento e pureza desejados, da aplicação final do IgY, bem como custo de material, tecnologia, habilidades de trabalho e escala de extração (KARLSSON; KOLLBERG; LARSSON, 2004; MUNHOZ et al., 2014; SOARES, 2013).

Uma gema de ovo contém cerca de 100-150 mg de anticorpos IgY (KARLSSON; KOLLBERG; LARSSON, 2004) e sua atividade da IgY pode ser afetada pela temperatura e pelo tempo de exposição. Perdas de atividade foram observadas em temperaturas acima de 70 °C, enquanto permanecem estáveis em 60 °C. A IgY é relativamente estável entre pH 4 e pH 11, mas pode reduzir rapidamente sua atividade acima de pH 12. Em pH 3,5 a atividade de IgY diminui e é quase completamente perdida em pH 3, devido a mudanças conformacionais em sua estrutura. No entanto, a estabilidade do pH também pode ser melhorada pela adição de estabilizadores, tais como açúcares e carboidratos (GUIMARÃES, 2005; KOVACS-NOLAN; MINE, 2012).

Os anticorpos são suscetíveis à digestão proteolítica e a inativação de IgY durante os processos digestivos pode ser uma grande preocupação para aplicações de imunoterapia oral (KOVACS-NOLAN; MINE, 2012; SHIMIZU; FITZSIMMONS; NAKAY, 1988). Alguns estudos demonstram que a IgY é estável contra enzimas digestivas, tripsina e quimotripsina. Embora haja uma grande perda de atividade através da pepsina em condições de baixo pH em pouco tempo (MULLER et al., 2015).

Shimizu, Fitzsimmons e Nakay (1988) avaliaram que em condições de congelamento e liofilização a atividade de IgY não é afetada, a menos que repetida várias vezes. Demonstrou também que a IgY é sensível à digestibilidade da pepsina em pH 4,5 e abaixo, perdendo a atividade de anticorpo.

Atualmente, diversos estudos mostram a aplicação desses anticorpos na pesquisa básica e aplicada, assim como na indústria farmacêutica para implementação de kits diagnósticos, terapias, cosméticos e, também pode ser utilizado como aditivo de alimentos funcionais (GUIMARÃES; CORREIA; GAMA FILHO, 2008).

A administração oral de IgY provou ser um tratamento bem sucedido para diversos tipos de infecções gastrointestinais, para prevenção de infecções com *Pseudomonas aeruginosa*, formação de placas bacterianas por *Streptococcus mutans*, desenvolvimento de úlceras gástricas por *Helicobacter pylori*, enterites por *Escherichia coli*, e rotavírus humano (GUIMARÃES; CORREIA; GAMA FILHO, 2008).

### 3. METODOLOGIA

Esta pesquisa foi realizada nos Laboratórios de Análise de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) e no Laboratório de Imunologia IV da Universidade Estadual de Londrina (UEL).

Os métodos utilizados envolvem a extração e purificação da imunoglobulina Y a partir da gema de ovo, eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE para verificar a pureza da IgY extraída, a técnica de microencapsulação por gelificação iônica, caracterização das micropartículas, determinação da eficiência de encapsulação (teste de ELISA quantitativo) e avaliação da atividade de IgY (teste de ELISA indireto).

Utilizaram-se ovos de galinhas adquiridos comercialmente. Alginato de sódio puríssimo (Cinética), quitosana (Polymar, lote 01012017, com grau de desacetilação de 85%), cloreto de cálcio P.A dihidratado (Dinâmica, lote 88295) e demais reagentes comerciais PA.

#### 3.1 EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE IMUNOGLOBULINA Y

A metodologia utilizada foi proposta por Akita e Nakai (1992). Separou-se a gema da clara, lavou-se com água destilada e cuidadosamente removeu a película (calaza). O volume da gema foi diluído em 1:7 com água destilada pH 2,5 (0,1 M HCl), proporcionando pH final de 5,2, e foi mantida por 24 horas, a 4° C. Toda a solução foi filtrada com papel Whatmann nº 1 e a fração solúvel foi precipitada com solução de sulfato de amônio saturado, mantida por

30 minutos sob agitação. Esta foi centrifugada a 5000 rpm, por 15 minutos, o sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuscitado com sulfato de sódio 18% (p/v), incubado por 20 minutos e centrifugado a 4000 rpm, por 20 minutos. O precipitado foi novamente ressuscitado, utilizando sulfato de sódio 14% (p/v), incubado por 20 minutos e centrifugado a 4000 rpm, por 20 minutos. O precipitado resultante foi ressuscitado com 2 mL de PBS 1x (solução salina tamponada com fosfato) e armazenado no congelador, neste precipitado se encontra a IgY.

A amostra foi dialisada com PBS 1x em tubo de celulose para diálise 33 mm, Sigma Aldrich, (D9652-100FT), previamente tratada em água fervente por 30 minutos, seguida de lavagem com solução de bicarbonato de sódio 0,01 M, solução EDTA 0,01 M por 30 minutos e água destilada. Para avaliar a pureza da IgY extraída, fez-se análise de eletroforese (SDS-PAGE), a quantificação e atividade foram determinadas por ELISA quantitativo e indireto, respectivamente.

### 3.2 ELISA QUANTITATIVO

O teste de ELISA (ensaio de imunoabsorção enzimática) quantitativo foi realizado em placa de 96 poços de fundo chato segundo as recomendações do fabricante Bethyl (cat nº E30-104, lote nº E30-104-26).

Os dados do ELISA quantitativo são interpretados em comparação com uma curva padrão (uma diluição seriada de um antígeno conhecido) para calcular com precisão a concentração do anticorpo presente nas amostras (BOSTER, 2018).

### 3.3 ELISA INDIRETO

O teste de ELISA (ensaio de imunoabsorção enzimática) é uma técnica de dosagem de anticorpos e antígenos através de reações enzimáticas (BRACHT; ISHIII-IWAMOTO, 2003).

O ELISA indireto (Figura 5) foi realizado em placa com 96 poços de fundo chato, a qual foi sensibilizada com 50 µL/poço de antígeno BSA (albumina do soro bovino) na concentração de 50 µg/mL em tampão carbonato/bicarbonato pH 9,6, incubada overnight a 4 °C. Após a incubação, o bloqueio foi efetuado com 100 µL de PBS 1x/leite em pó desnatado 5% e incubado por 1 hora a 37 °C, seguida de uma lavagem com 200 µL/poço de PBS 1x. A amostra (anticorpo



primário) foi preparada e diluída em solução PBS 1x/leite em pó desnatado 1% e foi adicionado 50 µL/poço da amostra, incubada por 1 hora a 37 °C, seguida de três lavagens com 200 µL/poço de PBS 1x/Tween 20 0,05%. Adicionou-se 50 µL/poço de anticorpo secundário IgG de cabra anticadeia leve e pesada de IgY conjugado com peroxidase (lote nº A30-106P-28) diluído 1:40.000, incubado por 1 hora a 37 °C, seguido de três lavagens com 200 µL/poço de PBS 1x/Tween 20 0,05%. O substrato adicionado (50 µL/poço) foi confeccionado com uma parte de TMB 1x, Água oxigenada 1x e acetato de sódio 98x, e a reação foi conduzida na ausência de luz durante aproximadamente 15 minutos. Após, foi adicionado 50 µL/poço de ácido sulfúrico 2N para interromper a reação e efetuou a leitura em espectrofotômetro na absorvância de 450 nm.

Figura 5 – Etapas do teste de ELISA indireto



Fonte: adaptado de Câmara, 2018.

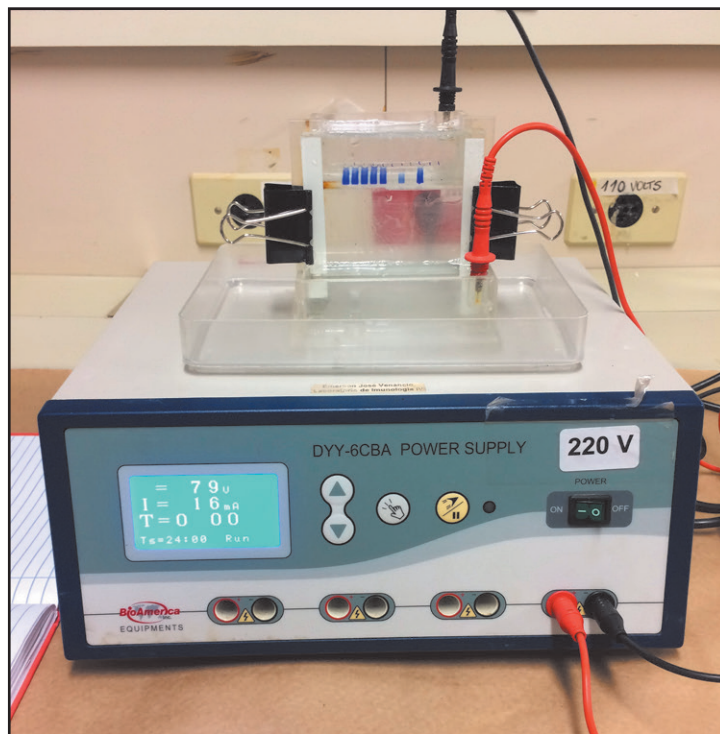
### 3.4 ELETROFORESE EM GEL SDS-PAGE

A eletroforese é uma técnica de migração de moléculas carregadas, em um determinado meio, sob a influência de um campo elétrico. A eletroforese em gel SDS-PAGE (Eletroforese em gel poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio) é aplicada para separação de proteínas com base no seu peso molecular e pode ser realizada com a proteína desnaturada (utilização do β-mercaptoetanol), assim serão separadas as subunidades da proteína (BRACHT; ISHIII-IWAMOTO, 2003).

Para a técnica de SDS-PAGE, as amostras foram diluídas para obter 5 µg de proteínas em 10 µL de solução, e nesta foi adicionado 5 µL de tampão de

amostra com 8,5% de solução A (tris 0,757%, SDS 2%, água destilada, pH 6,8), 1% de glicerol, 0,5% de  $\beta$ -mercaptoetanol, 2% de solução 1% de azul de bromofenol, em seguida foram aquecidas por 6 minutos em aproximadamente 96 °C, para que ocorresse a quebra de pontes dissulfeto. Como padrão molecular foi utilizado o BenchMark™ Proteing Ladder (lot n°. 1714702, cat. n°. 10747-012), Invitrogen™. O gel de empilhamento foi preparado a 10% de SDS poliacrilamida (gel buffer 4x pH 8,8, acrilamida 30%, persulfato de amônia 10%, TEMED e água destilada) e o gel de separação a 5% (stacking buffer, acrilamida 30%, persulfato de amônia 10%, TEMED e água destilada). O gel foi submetido a uma corrente de 80 volts para o gel de empilhamento e 120 volts no gel de separação, com 15 mA (Figura 6). Após a corrida, o gel foi corado utilizando solução de Comassie Brilliant Blue R-250 (Comassie Brilliant Blue R-250 0,2%, metanol 45%, ácido acético 10% e água destilada), em temperatura ambiente *overnight*, e descorado com solução de metanol 45%, ácido acético 10% e água, posteriormente foi realizado o registro fotográfico em fotodocumentador L-Pix (Loccus) para gel de eletroforese (e outras técnicas).

Figura 6 – Eletroforese em gel



Fonte: Autoria Própria, 2018.

### 3.5 MICROENCAPSULAÇÃO POR GELIFICAÇÃO IÔNICA

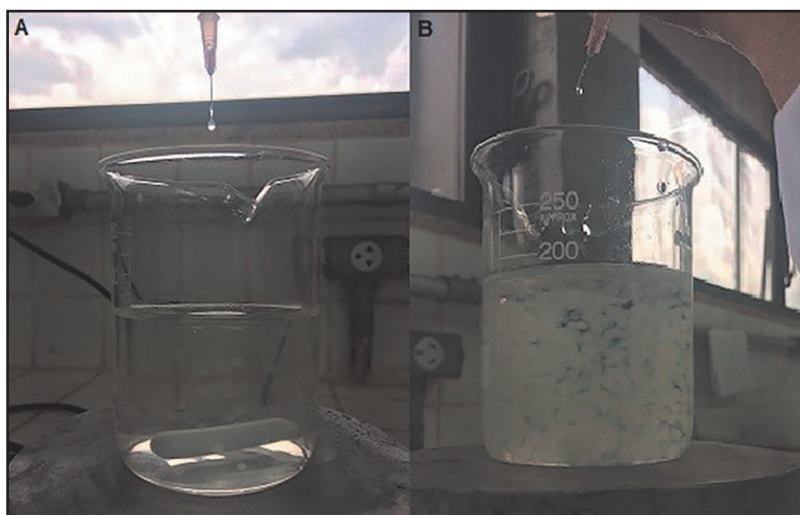
A IgY foi microencapsulada pelo método proposto por Li et al. (2009a) e Vanderberg et al. (2001). Segundo essas metodologias, foram utilizadas soluções de alginato de sódio 2% (p/v), quitosana 0,2% (v/v) e cloreto de cálcio 1,5% (p/v). Para o material de recheio, a proporção utilizada foi de 25% de IgY sob 2% de alginato, ou seja, para cada 2 g de alginato utilizou-se 0,5 g de IgY em 100 mL de solução.

A solução de quitosana foi preparada previamente a 1% (p/v) dissolvida em ácido acético 1% (v/v), utilizando aquecimento brando. Posteriormente, esta solução de quitosana 1% foi diluída na solução cloreto de cálcio para obter concentração de 0,2%.

A gelificação iônica foi realizada confeccionando dois tratamentos de micropartículas, as MPs Branco (sem material de recheio) e as MPs IgY (contém IgY como recheio).

A técnica consiste em gotejar (Figura 7), utilizando seringa acoplada de agulha (0,7x25 mm), 40 mL de solução de alginato 2% em 150 mL de solução de cloreto de cálcio 1,5% quitosana 0,2%, sob agitação. Estas permaneceram sob agitação lenta por 30 minutos para maturação (estabilizar os complexos, formando uma estrutura mais enrijecida) e em seguida foram removidas, lavadas com água destilada e armazenadas a 4 °C.

Figura 7 – Gelificação iônica



A. Início do processo. B. Formação das micropartículas.

Fonte: Autoria Própria, 2018.

### 3.6 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS

A caracterização em relação à forma e tamanho das micropartículas foi realizada por microscopia ótica de captura de imagem, utilizando o software Motic® em microscópio ótico e também em lupa acoplada à câmera digital.

### 3.7 UMIDADE

Foi avaliado o teor de umidade, com 5 g de amostra (em triplicata), secas em estufa a 50 °C até peso constante, seguindo a metodologia descrita no manual do Instituto Adolfo Lutz (2008), adaptada.

### 3.8 EFICIÊNCIA DE MICROENCAPSULAÇÃO

A eficiência da microencapsulação foi realizada dissolvendo 10 mg, em peso seco, de micropartículas em uma mistura de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) a 0,2 M e citrato de sódio dihidratado ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) a 0,06 M em pH 8,0, segundo Li et al. (2009a).

As micropartículas dissolvidas (2 mg/mL) foram analisadas por ELISA quantitativo para determinação da concentração de IgY na amostra. A eficiência de encapsulação (EE) das micropartículas é o quociente entre a razão da quantidade de IgY presente na amostra e a razão da IgY total utilizada inicialmente na formulação, de acordo com a seguinte Equação 1:

$$\text{EE (\%)} = [\text{IgY encapsulada} / \text{IgY total}] \times 100 \quad (1)$$

A EE também foi verificada de forma indireta ao analisar a solução residual de  $\text{CaCl}_2$ /Quitosana, verificando assim a possível migração de IgY para a solução, pela Equação 2 (BAKHSI et al., 2017):

$$\text{EE (\%)} = [\text{IgY total} - \text{IgY não encapsulada} / \text{IgY total}] \times 100 \quad (2)$$

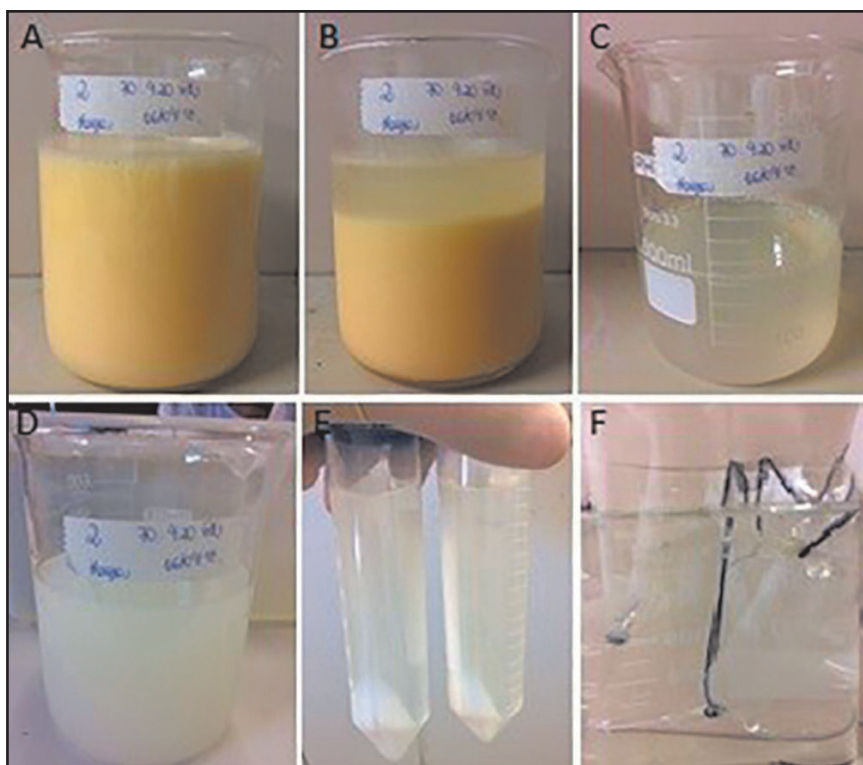
Ambas as amostras foram também analisadas por eletroforese e ELISA indireto, para verificar a reatividade da IgY após o processo de microencapsulação.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As etapas da extração e purificação da IgY estão evidenciadas na Figura 8. Foram utilizadas 50 gemas de ovos (780 mL) que resultaram em uma solução de IgY diluída em PBS 1x, com pH 7,24.

A solução de IgY foi então analisada por teste de ELISA quantitativo para determinar a concentração de IgY, que resultou em  $10,22 \pm 1,8$  mg/mL. A atividade do anticorpo extraído foi determinada por teste de ELISA indireto, avaliando a reatividade da IgY com antígeno BSA (albumina do soro bovino). Obteve-se 0,7436 nm de reatividade para a solução concentrada (10,22 mg/mL), no entanto, a amostra foi analisada também por diluição seriada para determinar a reatividade da IgY em diferentes concentrações, como apresenta o Gráfico 1.

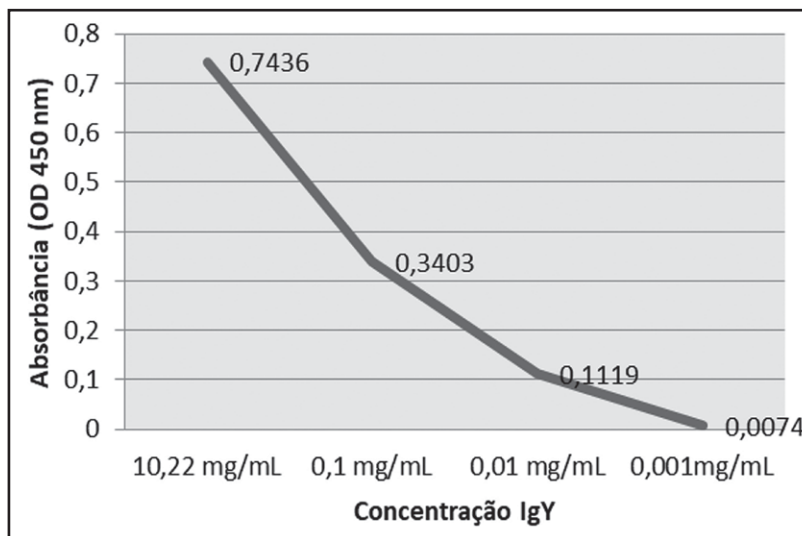
Figura 8 – Etapas de extração de IgY



A. Diluição da gema 1:7 em água destilada pH 5,2. B. Após incubação, nota-se a separação da fração solúvel e lipídica. C. Fração solúvel filtrada. D. Precipitação com Sulfato de amônia saturado. E. Precipitação com Sulfato de sódio 18% e 14%. F. Diálise da solução de IgY.

Fonte: Autoria Própria, 2018.

Figura 9 – Gráfico 1 – Atividade da IgY purificada



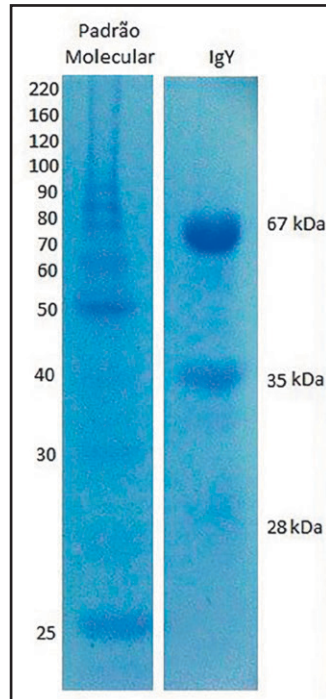
Resultados obtidos por ELISA indireto por meio da diluição seriada da amostra de IgY

Fonte: Autorial Própria, 2018.

Para avaliar a pureza da IgY extraída a amostra foi analisada por eletroforese em gel que, conforme demonstrado na Figura 10, há presença de bandas com peso molecular de 67 kDa e 28 kDa, representando a cadeia pesada e cadeia leve, respectivamente, da IgY. Os mesmos pesos moleculares foram encontrados por Tan et al. (2012), não obstante, Brum (2010) estima que as cadeias pesadas possuem 69 kDa e 26 kDa, enquanto Carlander (2002) e Chacana et al. (2004) apontam 65 kDa e 18 kDa para as cadeias pesada e leve da IgY, respectivamente.

Além das bandas correspondentes às subunidades da IgY, uma terceira banda foi encontrada com 35 kDa a qual representa uma proteína denominada de fragmento C-terminal de vitelogenina II (PAULY et al., 2011), comumente encontrada quando utilizada a técnica de extração por precipitação com sal.

Figura 10 – Eletroforese da IgY



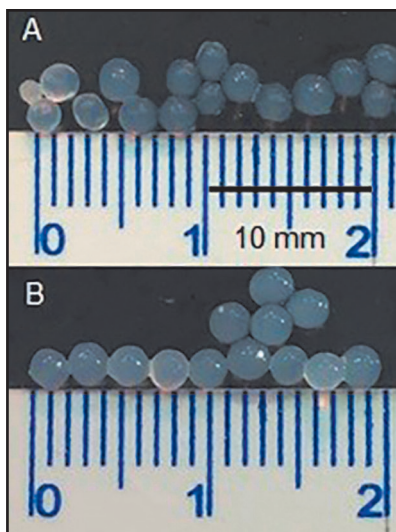
Fonte: Autoria Própria, 2018.

Dadas as características iniciais da IgY, seguiu-se com o processo de microencapsulação, que foi então realizado produzindo dois tratamentos de micropartículas, sendo as MPs Branco, que não continham nenhum material de recheio, e as MPs IgY, que continham IgY como recheio.

A técnica de gelificação iônica aplicada foi satisfatória em produzir micropartículas, bem como a utilização dos agentes encapsulantes alginato de sódio e quitosana, que proporcionaram micropartículas de formato esférico com tamanho de 1-2 mm (Figura 11).

Ao microencapsular IgY, Li et al. (2009a) obtiveram micropartículas com cerca de 1000  $\mu\text{m}$  com uma agulha de 0,7 mm de diâmetro, no entanto, utilizaram processo mecânico com vazão de amostra e de ar controlados. Já Fujiwara et al. (2010) desenvolveram uma matriz de alginato/cálcio/quitosana para microencapsular azul de metileno manualmente com seringa, gerando micropartículas de 1-2 mm.

Figura 11 – Tamanho das micropartículas

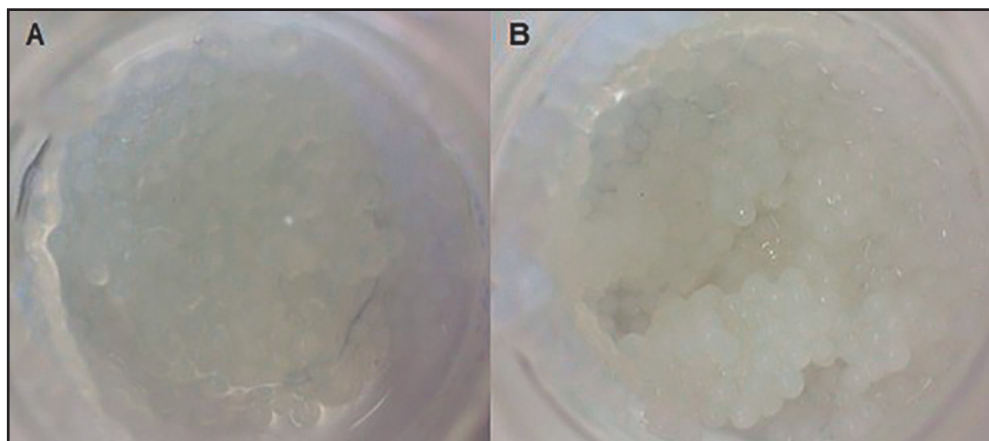


A. MPs Branco. B. MPs IgY.

Fonte: Aatoria Própria, 2018.

Observando a Figura 12 pode-se notar que as MP Branco possuem uma coloração mais transparente quando comparada com as MP IgY, que apresentam cor mais branca, provavelmente devido à incorporação da IgY na matriz de alginato-cálcio-quitosana.

Figura 12 – Micropartículas



A. MPs Branco. B. MPs IgY.

Fonte: Aatoria Própria, 2018.

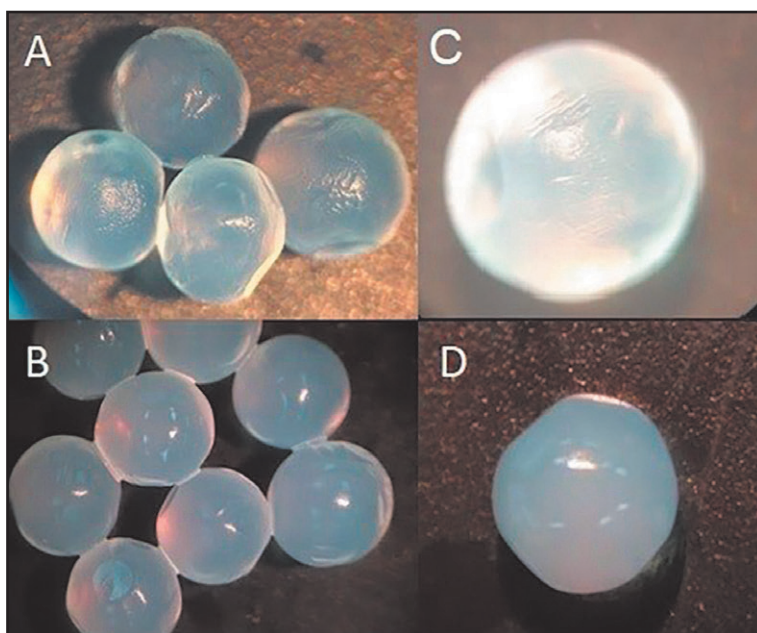


Devido à técnica ser realizada manualmente, é passível que ocorra deformações nas micropartículas, tanto pelo diâmetro e posicionamento da seringa, quanto pela altura da agulha sob a fase reticulante, originando então micropartículas com formato menor ou maior, mais alongadas e até achatadas.

As micropartículas foram observadas em lupa com aumento de 2x e 4x (Figura 13) e foi possível verificar algumas dessas deformações, podendo ser devido ao contato com outras micropartículas ou também pela própria manipulação e procedimento aplicado.

Ao observar no microscópio óptico, verificou-se que as MPs Branco apresentam uma estrutura com mais ranhuras (Figura 14) enquanto as MPs IgY aparentam possuir estruturas menos rugosa, lisa e mais densa. Após o processo de remoção da umidade, as micropartículas perderam sua estrutura esférica (Figura 15).

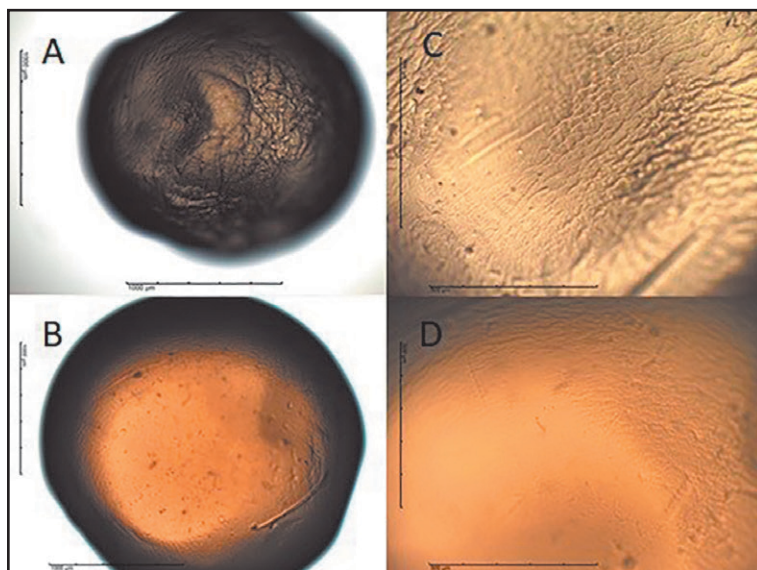
Figura 13 – Micropartículas observadas em lupa



A e B. Aumento de 2x. C e D. Aumento de 4x. Sendo A e C, MPs Branco, B e D MPs IgY.

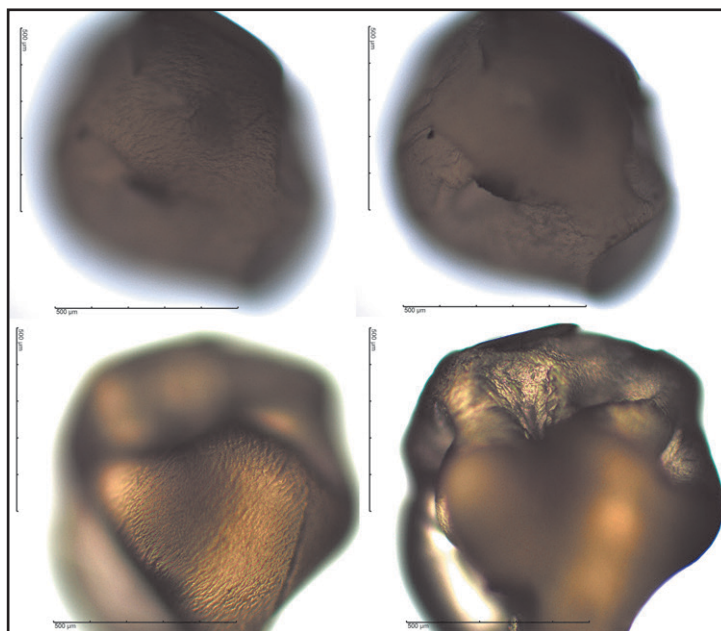
Fonte: Autoria Própria, 2018.

Figura 14 – Micropartículas observadas em microscópio óptico



A e B. Aumento de 4x. C e D. Aumento de 10x. Sendo A e C MPs Branco, B e D MPs IgY.  
Fonte: Aurtoria Própria, 2018.

Figura 15 – Micropartículas secas observadas em microscópio óptico



A, B, C e D com aumento de 10x. A e B, MPs Branco, e C e D MPs IgY.  
Fonte: Aurtoria Própria, 2018.

As micropartículas foram analisadas quanto ao teor de umidade com temperatura de secagem de 50 °C, pois a molécula de IgY se desnatura em temperaturas acima de 70 °C (MINE, 2008). As MPs Branco possuem 96% de umidade enquanto as MPs IgY, 94%, e ao determinar o peso seco total das MPs, foi possível notar um aumento de massa das MPs IgY (1240mg) quando comparada com as MPs Branco (827 mg).

XIA et al. (2011) definiram que o ponto isoelétrico (pI) da IgY é no pH 5 e determinaram que quando o pH do meio aumenta de 5 para 7 (acima do pI), o potencial zeta da IgY se torna negativo, indicando que a molécula está carregada negativamente.

Diante desses dados, podemos supor que devido à incorporação da IgY na formulação das MPs, que estava em pH 7,24, houve maior atração de moléculas de cálcio e/ou quitosana para a estrutura das micropartículas, explicando porque nas MPs IgY resulta em 240 mg de massa restante (cálcio e/ou quitosana), enquanto na MP Branco resulta em 27 mg. Para determinar com mais precisão, análises de quantificação de cálcio e até de quitosana podem ser realizadas para melhor caracterizar as MPs.

A eficiência de encapsulação (EE) foi determinada de forma direta (pela concentração de IgY presente na micropartícula) e indireta (analisando a solução residual de CaCl<sub>2</sub>/quitosana), por ELISA quantitativo.

Ao analisar diretamente a solução de MPs dissolvidas (2mg/mL), o teste de ELISA detectou 0,1369 mg/mL de IgY. Este valor foi aplicado na Equação 1 e determinou 42,8% EE.

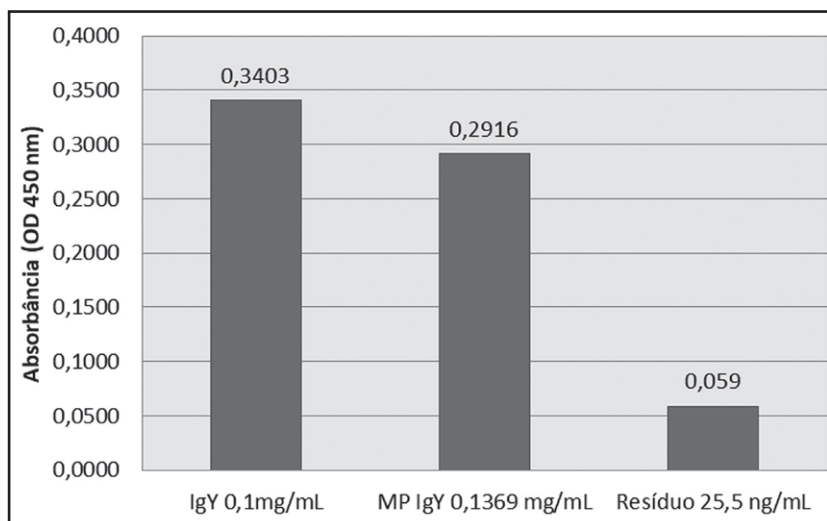
Analisando indiretamente, a solução residual de CaCl<sub>2</sub>/quitosana resultou em 25,5 ng/mL de IgY. Utilizando a Equação 2, a EE foi de 99,99%.

A atividade da IgY foi avaliada antes e após o processo de encapsulamento para verificar a possível interferência do processo aplicado na reatividade do anticorpo. Observa-se (Gráfico 2) que, as micropartículas na concentração de 2 mg/mL obtiveram reatividade contra BSA (Soro albumina bovina) de 0,29 ± 0,03 nm e a solução residual de CaCl<sub>2</sub>/Quitosana obteve 0,059 nm.

Em relação à atividade da IgY microencapsulada, pode-se afirmar que a IgY continua ativa após o processo de microencapsulação, pois a atividade está similar à da molécula não encapsulada. Houve uma pequena diferença na atividade, o que pode ser explicada pelo tempo de armazenamento e condições às quais foi submetida até que o processo de microencapsulação fosse realizado, mas no geral não houve grandes perdas. Tal resultado favorece a utilização deste método

quando se objetiva preservar a molécula, no entanto, mais estudos devem ser realizados para verificar a possível perda de atividade com o tempo e condições de armazenamento.

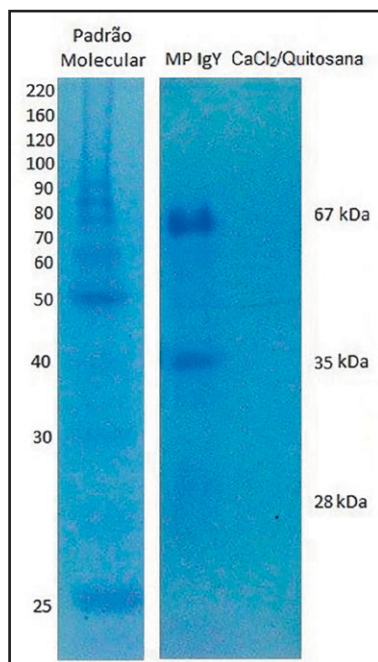
Figura 16 – Gráfico 2 – Atividade da IgY pós-microencapsulação



Fonte: Autoria Própria, 2018.

Para se obter um dado qualitativo, as MPs IgY dissolvidas e a solução residual de  $\text{CaCl}_2$ /quitosana foram analisadas por eletroforese, a fim de verificar a presença da IgY nestas amostras. Analisando a Figura 17, podemos confirmar qualitativamente que a concentração de IgY na solução residual é tão insignificante que não apresenta nenhuma banda proteica, enquanto a amostra de MPs IgY, apresentaram bandas de 67 kDa e 28 kDa, caracterizadas pela cadeia pesada e cadeia leve da IgY.

Figura 17 – Eletroforese das MPs IgY e solução Residual



Fonte: Autoria Própria, 2018.

Ao centrifugar a amostra de MPs IgY dissolvida notou-se a formação de precipitado (dados não mostrados), o que pode justificar as baixas concentrações de IgY detectadas no teste de ELISA, proporcionando baixa EE. A formação do precipitado pode indicar que as micropartículas não foram totalmente dissolvidas, assim parte da IgY pode estar ainda retida na matriz da micropartícula, sendo impossibilitada de ser detectada no teste.

Além disso, podemos comparar a baixa concentração de IgY encontrada na solução residual (25,5 ng/mL), baixa reatividade (0,059 nm) e ausência de bandas proteicas no gel de eletroforese, proporcionando 99,9% de EE. Todos estes dados em conjunto indicam que houve de fato alta EE, mesmo que a análise direta tenha gerado um valor intermediário de EE. Deste modo, mais estudos devem ser realizados para possibilitar a total dissolução das micropartículas e obter resultados precisos de EE%.

LI et al. (2009a) conseguiram EE de 68,06% utilizando a solução de CaCl<sub>2</sub>/Quitossana em pH 4, enquanto ao modificar o pH para 3,5 a EE aumentou para 73%.

Estudos realizados por Bakhshi et al. (2017) verificaram que a nanoencapsulação não teve efeitos adversos na qualidade e atividade da IgY. Ao expor essas nanopartículas em condições de sistema gastrointestinais, verificaram que a atividade de IgY foi diminuída quando incubada em pH 3,5 ou inferior, e completamente perdida a pH 3, concluindo que as nanopartículas por eles produzidas seriam uma boa escolha para proteção de IgY contra condições gastrointestinais severas e distribuição de IgY no intestino.

A administração oral de IgY provou ser bem-sucedida para o tratamento de uma variedade de infecções gastrointestinais (MINE; KOVACS-NOLAN, 2002). O mecanismo de liberação para esferas de alginato é por processo de difusão através dos poros e este fenômeno é facilitado pela degradação da matriz polimérica em pH neutro (BAKHSI et al., 2017).

A desintegração das microcápsulas de alginato/quitosana é dependente do pH, em meio ácido o material da matriz da microcápsula permanece intacto como resultado das ligações iônicas nas microcápsulas. Uma vez que as microcápsulas são expostas a pH neutro, o alginato aniônico no complexo alginato-cálcio/quitosana pode ser deslocado por íons hidroxila. Ainda mais importante, a quitosana perderá sua carga positiva. Portanto, o complexo se desintegra, a matriz é erodida e o material encapsulado é liberado no fluido circundante (Li et al., 2009a).

Desse modo, a IgY pode ser encapsulada por diferentes técnicas, as quais irão protegê-las diante das condições gastrointestinais, mantendo-as íntegras e ativas para serem liberadas no trato intestinal, onde serão absorvidas.

## 5. CONCLUSÃO

A extração da IgY ocorreu de forma aceitável diante da metodologia empregada (precipitação com sal). Verificou-se que os agentes encapsulantes selecionados foram hábeis em produzir micropartículas de alginato-cálcio/quitosana e estas se mostraram esféricas e firmes, com uma eficiência de encapsulação considerada satisfatória.

Foi possível determinar que o processo de microencapsulação não inativa a atividade da IgY, permitindo que a técnica seja utilizada para protegê-la, possibilitando que novas pesquisas sejam realizadas para verificar a continuidade desta atividade em diferentes períodos de armazenamento e em determinadas condições, bem como a aplicação das micropartículas.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Laboratório Multiusuário do Câmpus Londrina da Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelas análises realizadas.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. *Imunologia celular e molecular*. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

AKITA, E. M.; NAKAI, S. Immunoglobulins from egg yolk: isolation and purification. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 3, p. 629-634, 1992.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 1, p. 89-97, jan./mar. 2005.

AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.2, n. 3, p. 27-34, 2007.

BAKHSHI, M. et al. Nano-encapsulation of chicken immunoglobulin (IgY) in sodium alginate nanoparticles: In vitro characterization. **Biologicals**, sep; 49:69-75. 2017 doi: 0.1016/j.biologicals.2017.06.002. Epub 2017 Jul 8.

BLOGSPOT. O antivírus do sistema operativo nervoso. **Anticorpos**. 2010. Disponível em: <http://antivirussoperativohumano.blogspot.com.br/2010/05/anticorpos.html>. Acesso em: 06 jun. 2017.

BOSTER. **ELISA Handbook**. Disponível em: [https://www.bosterbio.com/media/pdf/ELISA\\_Handbook.pdf](https://www.bosterbio.com/media/pdf/ELISA_Handbook.pdf). Acesso em: 27 nov. 2018.

BRACHT, A.; ISHII-IWAMOTO, E. L. *Métodos de laboratório em bioquímica*. Barueri: Manole, 2003.

BRESSEL, T. A. B. **Sistema gerador de microcápsulas de alginato**. 2007. 70 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

BRUM, B. C. **Anticorpos aviários como reagentes para o diagnóstico da intoxicação humana por organofosforado**. 2010. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2010.

CÂMERA, B. **ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)**. Disponível em: <https://www.biomedicinapadiao.com.br/2010/05/elisa.html>. Acesso em: 27 nov. 2018.

CARLANDER, D. **Avian IgT antibody in vivo and in vitro**. 2002. 53 f. Dissertação (Doutor em Filosofia em Clínica Química) – Faculdade de Medicina, Acta Universitatis Upsaliensis, UPPSALA, 2002.

COSTA, B. S. **Microcápsulas produzidas por gelificação iônica recobertas com gelatina de peixe e isolado proteico de soja**. 2014. 143f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

CHACANA, P. A. et al. Tecnología IgY o aplicaciones de los anticuerpos de yema de huevo de gallina. **Revista de Medicina veterinária**, v. 85, n. 5, 2004.

DAMIAN, C. et al. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 16, n. 2, p. 195-205, abr./jun. 2005.

DUMITRIU, S. **Polymeric Biomaterials**, Revised and Expanded. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2001.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A.; Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal Food Technol.**, v. 11, n. 2, p. 103-112, abr./jun. 2008.



FERNANDES, D. C. et al. Biologia do sistema imune das aves. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, agrárias e da Saúde**, v. 17, n. 5, p. 131-140, 2013.

FERRARI, C. T. R. R.; GENENA, A. K.; LENHARD, D. C.; Use of natural coagulants in the treatment of food industry effluent replacing ferric chloride: a review. **Científica**, Jaboticabal, v. 44, n. 3, p. 310-317, 2016.

FERREIRA JÚNIOR, A. **Anticorpos IgY policlonais: Ferramentas auxiliares para o estudo *in vitro* de *toxoplasma gondii***. 2012. 117f. Tese (Doutorado em Imunologia e Parasitologia Aplicada) – Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicada, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

FOOD INGREDIENTS BRASIL Os Alginatos e suas múltiplas aplicações. **Food Ingredients Brasil**, n. 26, 2013. Disponível em: [http://revista-fi.com.br/upload\\_arquivos/201606/2016060847415001464961683.pdf](http://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060847415001464961683.pdf). Acesso em: 24 set. 2018.

FU, S. et al. Relevance of rheological properties of sodium alginate in solution to calcium alginate gel properties. **AAPS Pharm Sci Tech**, v. 12, n. 2, p. 453-460, jun. 2011.

FUJIWARA, G. M. Comparação entre os perfis de liberação de azul de metileno a partir de micropartículas de alginato-quitosana em pH ácido. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.11, n.2, 2010.

FUNDUEANU, G. et al. Physico-chemical characterization of Ca-alginate micro-particles produced with different methods. **Biomaterials**, v.20, p. 1427-1435 1999.

GASEROD, O.; SMIDSRD, O.; SKJASK-BRAEK, G. Microcapsules of alginate-chitosan – I A quantitative study of the interaction between alginate and chitosan. **Biomaterials**, v. 19, p. 1815-1825, 19998.

GEORGE, M.; ABRAHAM, T. E.; Poluionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan – a review. **Journal of Controlled Release**, v. 114, p. 1-14, 2006.

GOMES, P. E. B.; **Desenvolvimento de ovoproduto à base de gema de ovo para fios de ovos**. 2012. 128f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade de Aveiro, 2012.

GRANT, G. T. et al. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. **Ferbs letters**, v. 32, n.1, p. 195-198, 1973.

GUIMARÃES, M. C. C.; **Produção e aplicação de anticorpos da gema do ovo de galinha**. 2005. 189 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Centro de Ciências e tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2005.

GUIMARÃES, M. C. C.; CORREIA, V. G.; GAMA, F. R. V. Produção de anticorpos em galinhas. **Perspectives online**, v. 2, n. 7, 2008.

HOLKEM, A. T.; CODEVILLA, C. F.; MENEZES, C. R. Emulsificação/gelificação iônica interna: Alternativa para microencapsulação de compostos bioativos. **Ciência e Natura**, Santa Maria, Edição especial-Nano e Microencapsulação de compostos bioativos e probióticos em alimentos, v. 37, p. 116-124, dez. 2015.

HOMMA, A. et al. Desenvolvimento tecnológico: elo deficiente na inovação tecnológica de vacinas no Brasil. **História, Ciências, Saúde**, v. 10, p. 671-696, 2003.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

JOSUÉ, A. **Desenvolvimento de um novo sistema de microencapsulação de fármacos a partir da quitosana para o uso oral**. 2002. 143f. Tese (Doutorado em Química) – Curso de pós-graduação em química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

KOVACS-NOLAN, J.; PHILLIPS, M.; MINE, Y. Advances in the value of eggs and egg componentes for human health. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 8424-8431, 2005.

KOVACS-NOLAN, J.; MINE, Y. Microencapsulation for the gastric passage and controlled intestinal release of immunoglobulin Y. **Journal of immunological Methods**, v. 296, p. 199-209, 2005.

\_\_\_\_\_. Egg yolk antibodies for passive immunity. **Annual Reviews Sci. Technol**, v. 3, p. 82-163, 2012.

KARLSSON, M.; KOLLBERG, H.; LARSSON, A. Chicken IgY: utilizing the evolutionary advantage. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, p. 341-348, set. 2004.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVARE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Quim. Nova**, v. 32, n. 3, p. 672-678, 2009.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J.; Alginate: properties anf biomedical applications. **Prog Polym Sci.**, v. 37, n. 1, p. 106-226, jan. 2012.

LEITE, M. V. **Microcápsulas de alginato-quitosana contendo nanopartículas magnéticas para liberação controlada de progesterona**. 2014. 106f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2014.

LI, X. et al. Chitosan-alginate microcapsules for oral delivery of egg yolk immunoglobulin (IgY). **Biochemistry and Biotechnology**, 2009. (a)

\_\_\_\_\_. Chitosan–Alginate Microcapsules for Oral Delivery of Egg Yolk Immunoglobulin (IgY): Effects of Chitosan Concentration. **Appl Biochem Biotechnol**, 2009. (b)

\_\_\_\_\_. Chitosan-alginate microcapsules for oral delivery of egg yolk immunoglobulin (IgY): *In vivo* evaluation in a pig modelo f enteric colibacillosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 129, p. 132-136, 2009. (c)

LIU, L. et al. Controlled release of interleukin-2 for tumour immunotherapy using alginate/chitosan porous microspheres. **Journal of Controlled Release**, v. 43, p. 65-74, 1997.

MARTINSEN, A.; SKJÅK-BRAEK, G.; SMIDSRED, O. Alginate as immobilization material: I. Correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 33, p. 79-89, 1989.

MARTÍNEZ, A. C.; ALVAREZ-MON, M. O sistema imunológico (I): Conceitos gerais, adaptação ao exercício físico e implicações clínicas. **Rev Bras Med Esporte**, v. 5, n. 3, 1999.

MATEESCU, M. A.; ISPAS-SZABO, P.; ASSAAD, E. Chitosan-based polyelectrolyte complexes as pharmaceutical excipients. In: \_\_\_\_\_. **Controlled Drug Delivery**, Elsevier, 2015. p.127-161.

MICHAEL, A. et al. Chicken egg yolk antibodies (IgY) as an alternative to mammalian antibodies. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 3, n. 4, 2010.

MINE, Y. **Egg bioscience and biotechnology**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2008.

MUNHOZ, L. et al. Avian antibodies: characteristics and applications in immunodiagnostic. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 1, p. 153-160, jan. 2014.

MURPHY, K.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. **Imunobiologia de Janeway**. 7 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MULLER, S. et al. IgY antibodies in human nutrition for disease prevention. **Nutrition Journal**, v. 14, n. 109, 2015.

MURTAZA, G. et al. Alginate microparticles for biodelivery: a review. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 25, p. 2726-2737, Dez. 2011.

NEDOVIC, V. et al. An overview of encapsulation Technologies for food applications. **Procedia FOOD Science**, v.1, p. 1806-1815, 2011.

NELSON, D.; COX, M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NOGUEIRA, G. F. **Produção e caracterização de micropartículas com multicamadas obtidas por gelificação iônica associada à interação eletrostática**. 2013. 173f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

OLIVEIRA, M. S.; **Desenvolvimento e caracterização de micropartículas lipídicas sólidas carregadas com hidrolisado proteico obtidas por spray chilling**. 2014. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

PAULY, D. et al. IgY Technology: Extraction of Chicken Antibodies from Egg Yolk by Polyethylene Glycol (PEG) Precipitation. **Journal of Visualized Experiments**, n. 51, ed, 2011.

PATIL, J. S. et al. Ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation: the novel techniques to desing hydrigel particulate sustained, modulated drug delivery system: a review. **Digest Journal of Nanomaterial and Biostructures**, v. 5, n. 1, p. 241-248, mar. 2010.

REBELLO, F. F. P. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Revista Agrogeoambiental**, pg. 134-144, dez. 2009.

REIS, C. P. et al. Review and current status of emulsion/dispersion technology using na internal gelation process for the desing of alginate particles. **Journal of Microencapsulation**, V. 23, N. 3, P. 245-357, Maio 2006.

REHM, B. **Alginates: Biology and applications**. Microbiology Monographs, v. 13. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009.

RÊGO, I. O. P. et al. Influência do período de armazenamento na qualidade do ovo integral pasteurizado refrigerado. **Arq. Bras. Vet. Zootec.**, v. 64, n. 3, p. 735-742, 2012.

ROCHA, G. A. **Produção, caracterização, estabilidade e aplicação de microcápsulas de licopeno**. 2009. 93f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

SANTOS, A. B.; FERREIRA, V. P.; GROSSO, C. R. F. Microcápsulas – uma alternativa viável. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, p. 26-30, 2000.

SANTOS, J. E.; SOARES, J. P.; DOCKAL, E. R. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.

SILVA, C. et al. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 1, jan./mar., 2003.

SILVA, P. T. et al. Microencapsulação: conceitos, mecanismos, métodos e algumas aplicações em tecnologia de alimentos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 7, p. 1304-1311, jul. 2014.

SHIMIZU, M.; FITZSIMMONS, R. C.; NAKAI, S. Anti-*E. Coli*. Immunoglobulin Y isolated from egg yolk of immunized chickens as a potential food ingredient. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 5, p. 1360-1366, 1988.

STRAND, B. L. et al. Microcapsules made by enzymatically tailored alginate. **Journal of Biomedical Materials Research**, p. 540-550, 2002.

SOARES, P. M. **Produção e utilização de anticorpos IgY para diagnóstico de brucelose**. 2013. 119f. Dissertação (Mestrado em Ciências veterinárias – Saúde animal) – Faculdade de Medicina veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

SUAVE, J. et al. Microencapsulação: inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 7, n. 2, dez./2006.

TAGLIARI, M. P. **Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana e alginato de sódio para incorporação de ácido glicirrízico, ácido salicílico ou cafeína visando liberação tópica**. 2012. 229 f. Tese (Doutorado em Farmácia) – Pós-Graduação em Farmácia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

TAN, S. H. et al. A novel, cost-effective and efficient chicken egg IgY purification procedure. **Journal of Immunological Methods**, n. 380, p. 73-76, 2012.

TONNESEN, H. H.; KARLSEN, J. Alginate in Drug Delivery Systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, n. 28, v. 6, p. 621–630, 2002.

MERWE, V. D. et al. Trimethylated chitosan as polymeric absorption enhancer for improved peroral delivery of peptide drugs, **Eur. J. Pharm. Biopharm**, n. 58, p. 225–235, 2004.

VANDERBERG, G. W. et al. Factors affecting protein release from alginate-chitosan coacervate microcapsules during production and gastric/intestinal simulation. **Journal of Controlled Release**, v. 77, p. 297-307, 2001.

XIA, H. et al. Influences of ligands structure and pH on the adsorption with hydrophobic charge induction adsorbents: a case study of antibody IgY. **Separation Science and Technology**, n. 46, p. 1957-1965, 2011.

## **DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SALAME TIPO ITALIANO COM SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DE CLORETO DE SÓDIO**

*Gabriella Deduch  
Lúcia Felicidade Dias  
Margarida Masami Yamaguchi*

### **1. INTRODUÇÃO**

A carne e os produtos cárneos são excelentes fontes de aminoácidos essenciais, com proteínas de alto valor biológico, disponibilidade de minerais, ferros e vitaminas do complexo B. Contudo, os produtos cárneos estão entre os alimentos que mais contribuem no fornecimento de sódio na dieta humana, representando aproximadamente 20 a 30% da ingestão diária, principalmente quando se trata de seus derivados embutidos.

O salame, tradicional produto cárneo fermentado, teve a sua fabricação iniciada em nosso país, com a imigração italiana e a sua produção no Brasil é significativa no mercado de produtos cárneos (TERRA; FRIES; TERRA, 2004). Conforme a legislação, o salame é caracterizado como um produto embutido cru, fermentado, maturado e dessecado que poderá ser ou não submetido à defumação (BRASIL, 2000).

Na elaboração de um embutido cárneo fermentado, adiciona-se aproximadamente 2% de sal e, durante o processo de fermentação e maturação, esta



concentração aumenta devido ao processo de desidratação do produto, podendo chegar a 5%. Dentre os ingredientes presentes nos produtos embutidos fermentados encontra-se o cloreto de sódio, que influencia o sabor e a textura e desempenha um papel fundamental na garantia da estabilidade microbiológica pela redução na atividade de água ( $A_w$ ).

A redução do teor de sódio nos alimentos vem de encontro às pesquisas recentes que indicam que o consumo excessivo de sódio está relacionado a doenças como o aumento da pressão arterial e ao risco de doenças cardiovasculares (SOUZA et al., 2016). A necessidade de uma reformulação para novos produtos que utilize menor concentração do teor de cloreto de sódio (NaCl) por meio da substituição por outros sais é um grande desafio. A dificuldade de diminuir a quantidade de sódio nos produtos cárneos afeta a percepção sensorial e a inibição do crescimento de micro-organismos patogênicos. O NaCl também confere aspectos sensoriais característicos às carnes curadas, participa na redução da água do produto aumentando assim a concentração de outros componentes do salame, além de retardar a oxidação lipídica.

O benefício da adoção de um estilo de vida saudável tem sido intensamente discutido por profissionais da saúde, incluindo a escolha de alimentos saudáveis, assim os consumidores têm procurado produtos com redução de açúcar, sal, gordura e adição de fibras e de compostos funcionais.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver quatro formulações de salame tipo italiano com substituição parcial do cloreto de sódio por cloreto de potássio (KCl) e cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ).

## 2. EMBUTIDO CÁRNEO FERMENTADO: SALAME

Os embutidos cárneos surgiram por volta de 1.500 a. C. quando se observou que o sal entre outros ingredientes adicionados prolongava a vida útil da carne. Os micro-organismos que estavam presentes na carne e nos ingredientes eram responsáveis pela fermentação, pois o ambiente por si só tinha uma microbiota diversificada. A fermentação por inoculação, ou seja, adição de micro-organismos específicos só ganha força a partir do ano de 1940 (SHIMOKOMAKI et al., 2006), onde os micro-organismos conhecidos eram incorporados na carne com objetivo de desenvolver sabor e aroma ao produto.

No processamento dos produtos cárneos fermentados duas fases são bem caracterizadas, a fermentação e a maturação. Na fase da fermentação os

micro-organismos se desenvolvem e produzem enzimas que catalizam a hidrólise das matérias orgânicas. Nesta fase também ocorrem outras reações como a redução do nitrato, responsáveis pelas reações de cor do fermentado. Nesta etapa é importante o controle da temperatura para que os micro-organismos possam se desenvolver.

Na fase da maturação, fatores como temperatura e umidade do ar precisam ser controlados. A umidade do ar deve estar em torno de 75 e 85% e, a temperatura, em torno de, 12 a 18 °C. Nesta fase ocorre a desidratação do produto, sendo uma das características mais importantes desta segunda fase, juntamente com a hidrólise enzimática de lipídios e proteínas. Durante essas transformações são formados peptídeos, aminoácidos e amoníaco que desempenham papel importante no sabor e aroma dos embutidos. No final desta fase, o potencial hidrogeniônico (pH) tende a aumentar, pois são produzidos amoníaco e aminas, estes, assim como outras substâncias formadas durante essa fase são bastante atuantes tanto no sabor, quanto no aroma dos produtos (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

Beneides e Nassu (2017), preconizam que produtos cárneos são obtidos a partir da carne fresca que sofre um ou mais tipos de processo sendo eles a salga, defumação ou mesmo somente a adição de condimentos e temperos. Segundo Pardi et al. (2007) as propriedades originais da carne fresca são modificadas através de tratamento físico, químico ou biológico, ou ainda através da combinação destes métodos. O processo envolve geralmente cortes, moagens mais ou menos intensas, além da adição de condimentos, especiarias e aditivos. Estes processos visam o aumento do tempo de prateleira e anulam ou atenuam a ação de enzimas e micro-organismos. É necessário se ter cuidado para que as qualidades nutritivas e sensoriais sejam mantidas o máximo possível (PARDI et al., 2007).

Para que ocorra uma modificação esperada na textura, sabor e aroma, devem ser utilizados micro-organismos selecionados no embutido. A fermentação utilizada para produtos cárneos é a láctica sendo esta a mais empregada, cujo ácido láctico é formado como produto da ação das bactérias sobre os açúcares, diminuindo o pH e fornecendo sabor característico ao produto (BENEIDES; NASSU, 2017). Os embutidos fermentados se caracterizam por seu sabor forte e picante, são elaborados com carnes de suíno, bovino ou a mistura de ambos e são classificados em secos e semissecos (RECH, 2010).

Conforme os padrões de identidade e qualidade do salame do tipo Italiano e elaborado com carnes suínas e bovinas, toucinho, adicionado de ingredientes, moído em granulometria média entre 6 e 8 mm, embutido em envoltório naturais ou artificiais, curado, defumado ou não, fermentado, maturado e dessecado,

sendo a presença de mofo característicos, como consequência natural do seu processo tecnológico de fabricação (BRASIL, 2000).

Para o preparo de salame alguns ingredientes são obrigatórios de acordo com a legislação (BRASIL, 2000) como no mínimo de 60% de carne suína, presença de toucinho, sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio. Como ingredientes opcionais pode se utilizar carne bovina, leite em pó, açúcares, maltodextrinas, proteínas lácteas, aditivos intencionais, vinho, condimentos, aromas e especiarias, substâncias glaceantes como revestimento externo e o uso de culturas iniciadoras (*starters*) como coadjuvantes de tecnologia.

## 2.1 INGREDIENTES OBRIGATÓRIOS

As matérias-primas utilizadas no processamento de salames são carne bovina, suína e toucinho nas proporções previstas nas formulações. Conforme a legislação, o salame tipo italiano deve conter obrigatoriamente carne suína (mín. 60%), toucinho, sal de cozinha (NaCl), nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio (sais de cura).

### Carne

A qualidade da carne é essencial para elaboração de qualquer produto cárneo, e desejável que o animal deva ser abatido adequadamente para que apresente uma coloração avermelhada, com pH ao redor de 5,4-5,6, boa capacidade de retenção de água e macia. Porém, estas características podem variar, pois estão relacionadas com fatores raça, sistema de produção, tipo de abate e processamento, localização anatômica e a forma que vai ser comercializado. O processo de obtenção de carne começa no período ante-mortem necessitando um manejo objetivando o bem-estar animal e garantir a qualidade da carne. Após o abate as diversas alterações bioquímicas conduzem à transformação de tecido muscular em carne (LAWRIE, 2005). A qualidade da carne fresca é indicada pelas características de cor, textura, suculência e capacidade de retenção de água e está relacionado com pH da carne (BENEIDES; NASSU, 2017).

A mioglobina é a responsável pela cor da carne, mas não está relacionada apenas à quantidade presente, mas também do tipo de moléculas de mioglobinas e ainda pode variar entre raça, sexo, idade e a localização do músculo (LAWRIE, 2005). Outras causas que podem levar às alterações de cor da carne são estresse, tempo e forma de resfriamento, queda do pH e pH final da carne. As condições

que causam desoxigenação da mioglobina também são responsáveis pela oxidação formando a metamioglobina, de coloração marrom, indesejável. A formação de metamioglobina é favorecida por baixas pressões de oxigênio, altas temperaturas (ativa enzimas que utilizam o oxigênio), sal (oxidante) e bactérias aeróbias (reduzem a tensão de oxigênio). Além destas, a presença de bactérias pode ocasionar a descoloração, surgindo pigmentos de cor verde na carne (MANCINI; HUNT, 2005).

A textura da carne é apontada como fator essencial para o julgamento de sua qualidade. A ação enzimática *post mortem* causa amaciamento da carne, uma vez que as enzimas (proteases) responsáveis pela degradação das proteínas musculares (proteólise) apresentam maior ação nas primeiras horas *post mortem*, pois agem principalmente em pH próximo a 6,0 (SIMEONI et al., 2014). A quantidade e natureza química do colágeno, a raça, a velocidade de queda do pH e a temperatura da carne no momento do rigor mortis entre outros são fatores que interferem na maciez da carne. Para a comercialização de carnes *in natura* pode se utilizar procedimentos tecnológicos para melhorar a maciez da carne como a maturação, um processo em que a carne é mantida sob temperatura de refrigeração (-1,5 °C), por tempos prolongados, tornando-a mais tenra e aromática devido à ação de enzimas endógenas. Outros procedimentos tecnológicos são aplicados junto com a maturação em carcaças e carnes procurando atuar sobre a maciez final como, por exemplo, a utilização de enzimas (PARDI et al., 2006).

A cor da carne para a produção de salames deve ser de coloração mais acentuada, por exemplo carne de animais mais velhos, visto que a carne dos mais jovens apresenta coloração mais clara (menor teor de mioglobina). A matéria-prima utilizada para a produção de salames deve apresentar baixo teor de umidade reduzindo o risco de multiplicação de bactérias indesejáveis. Ao usar a carne suína o valor do pH deve estar no intervalo de 5,6–6,0 o que ajuda o início da fermentação, a carne pálida, branca e exsudativa (PSE) pode ser usada na formulação de embutidos fermentados secos em até 20%, e possivelmente níveis mais altos (RECH, 2010). Com relação à maciez, este não seria um ponto crítico na produção de salames por se tratar de um produto moído.

## Gordura

A gordura tem papel fundamental na manutenção da qualidade dos embutidos fermentados, fonte de ácidos graxos essenciais, carreador de vitaminas lipossolúveis, interfere na textura, suculência e sabor (MUGUERZA et al., 2001).

A gordura é um ingrediente importante na formulação de embutidos fermentados, para conferir sabor e aroma ao produto final. Por outro lado, pode ocorrer a oxidação desta gordura e levar à rancidez, o que acaba por reduzir a vida de prateleira de embutidos. Por isso a necessidade de usar gordura que tenha alto ponto de fusão e que tenha um menor conteúdo em ácidos graxos insaturados. Para elaboração de produtos cárneos, a gordura dorsal de suínos é utilizada, por possuir baixo conteúdo de ácidos poli-insaturados linoleico e linolênico que são muito propensos à oxidação (NASCIMENTO et al., 2007). A gordura empregada na elaboração de embutidos fermentados é predominantemente a gordura subcutânea de suínos (toucinho). O toucinho é picado em fragmentos com granulometria que caracteriza o tipo de embutido produzido. A qualidade da gordura utilizada é fundamental para a qualidade final do produto, pois contribui significativamente para o estabelecimento da estrutura e características sensoriais do salame.

## Sais

O sal é utilizado por diversas razões como, por exemplo, para a preservação e extensão do *shelf life*, prevenção de crescimento de micro-organismos, redução de atividade de água, controle da ação enzimática, facilidade para extração de certas proteínas, aditivo para o sabor salgado e acentuar o flavor de produtos alimentícios. Apesar de o sal possuir uma contribuição importante para elaboração de embutidos, o cloreto de sódio constitui um elemento indesejável, que favorece o desenvolvimento da rancificação da gordura, diminuindo assim a vida útil no armazenamento do produto, isso se deve às impurezas presentes no sal (RECH, 2010).

Estudos demonstram que cloreto de sódio (NaCl) poder ser parcialmente substituído por cloreto de potássio (KCl) e cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) (MILANE, 2011) sem que haja alterações reológicas ou sensoriais. O KCl pode ser utilizado como substituto do NaCl pois possui propriedades similares, os íons potássio e sódio possuem semelhanças físicas e químicas, porém a sua adição em produtos cárneos é restringida devido seu gosto amargo, sendo o nível de 1% considerado como limite máximo para sua utilização (NASCIMENTO et al., 2007). O MgCl<sub>2</sub> consiste em um sal inorgânico que se apresenta na forma de cristais de sabor amargo e incolor, embora possa ser usado como ingrediente em refeições, o seu sabor amargo limita esse uso.

## Sais de cura

O termo cura de carnes diz respeito a um método de conservação. Neste, são adicionados sais como nitrito e nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_2$  e  $\text{NaNO}_3$ ) que tem como função conservar o produto, ou seja, inibir o crescimento de micro-organismos, além de fixar a cor vermelha da carne, o sabor, aroma, entre outros (LAWRIE, 2005). Esses conservantes são bastante importantes em termos de saúde pública, pois além de protegerem o alimento contra micro-organismos patogênicos também podem ter efeito contrário e serem tóxicos, se usados acima da quantidade permitida. Segundo RDC nº 272 (BRASIL, 2019), a quantidade máxima que deverá ser usada neste tipo de produto, considerando a soma dos nitritos e nitratos, determinados como resíduo máximo, é de 150 ppm, expresso como nitrito de sódio.

O valor diário médio de nitrato e nitrito ingerido por pessoa é de 100mg, essa quantidade provém, principalmente de hortaliças e raízes que fazem uso de fertilizantes no seu cultivo. Os produtos cárneos participam com menos de 10% da ingestão do nitrato, mas o nitrato absorvido é reduzido a nitrito que é mais reativo e forma o óxido nítrico que pode trazer danos à saúde. Seus efeitos adversos são representados principalmente pela metamioglobina tóxica e pela formação de nitrosaminas. Mas a relação entre a saúde e o consumo de nitritos e nitratos é muito mais complexa, dada à possibilidade de originar compostos como nitrosaminas de ação carcinogênica, mas que para a sua formação necessitam de algumas condições específicas como pH, temperatura e disponibilidade de aminas secundárias. Logo, os mesmos devem ser usados com cautela em embutidos e outros produtos cárneos processados, seguindo a legislação, a fim de preservar a qualidade do produto e cumprir com sua função de conservantes e desta forma, diminuindo a probabilidade de doenças na população consumidora (PAIVA et al., 2014).

## Cultura Starter

Segundo Bernardi e Golineli (2010), cultura *starter* pode ser definida como preparação que contém micro-organismos vivos ou em estado latente que se desenvolvem pela fermentação de um substrato presente, sendo empregado para provocar alterações benéficas em alimentos como na carne ou em produtos cárneos. As culturas *starters* geralmente são compostas por mais de um tipo de micro-organismo, com objetivo de somar suas ações proporcionando um efeito desejado no produto final. Os micro-organismos utilizados são

divididos em dois grupos sendo um as bactérias lácticas, responsáveis pela acidificação via glicólise e o outro, os micro-organismos que desenvolvem o aroma, o *flavor* e a cor.

Segundo Shimokomaki et al. (2006), as culturas *starters* fazem parte indissociável da moderna tecnologia de fabricação de produtos cárneos fermentados, pois auxiliam na padronização das características sensoriais e de produção, fator primordial para qualidade do produto. Geralmente as culturas *starters* são compostas por numerosas espécies de micro-organismos, dentre os mais utilizados estão os *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus canosus*, *Pediococcus acidilactici*, *Staphylococcus xylosus*. A utilização destes, além de controlar a ação de micro-organismos deteriorantes e patogênicos, por competição, pois são incorporados ao redor de  $10^6$  UFC/g de massa, também refina o sabor, aroma e textura. As bactérias ácidas lácticas citadas acima são responsáveis pelos *flavor*, coloração, aroma e sabor do embutido. O mofo *Penicillium nalgiovense* e a levedura *Debaromyces hansenii* aplicados na superfície do salame também colaboram com a formação do *flavor* devido à formação de compostos voláteis. Além disso, os mesmos regulam não somente a entrada de ar, como também a luz por formar uma camada protetora na superfície do produto inibindo a rancificação da gordura (TERRA; FRIES; TERRA, 2004).

Segundo Terra, Fries e Terra (2004), na elaboração de diferentes salames, a lactose vem sendo utilizada com muita frequência, face ao seu lento desdobramento e conseqüente suavidade no pH final do salame. Além dos carboidratos, ótimos substratos para o processo fermentativo, os aminoácidos são substratos em potencial para formação de lactato. A fermentação é a fase crucial do processo de cura dos embutidos, pois é nesse estágio que ocorre a maioria das transformações físicas, bioquímicas e microbiológicas. Estas mudanças são influenciadas pelas características da matéria-prima e do processo e estarão presentes nas propriedades sensoriais do produto final, como também na conservação e segurança do mesmo.

## 2.2 OXIDAÇÃO LIPÍDICA DE PRODUTOS CÁRNEOS

Produtos ricos em lipídios têm chamado a atenção da comunidade científica por serem passíveis de sofrer reações autoxidativas. Eles são importantes componentes das carnes, conferindo características desejáveis de suculência, sabor e aroma. Contudo, os mesmos são facilmente oxidáveis, levando à formação de

produtos tóxicos e indesejáveis. A carne *in natura* e derivados cárneos possuem na sua composição ácidos graxos poli-insaturados que podem causar problemas ao longo do processamento e conservação devido à oxidação lipídica. Na oxidação da carne, os compostos formados e a decomposição dos constituintes levam à mudança na coloração e alterações na maciez, sabor e exsudação. Ainda os produtos da decomposição dos lipídios como malonaldeídos e óxidos de colesterol podem ser prejudiciais à saúde, sendo muitas vezes relatadas como os responsáveis por doenças cardíacas, derrames cerebrais e câncer.

O processo de oxidação se inicia logo pós a morte do animal, no entanto, fatores pré-abate como, alimentação e estresse do animal também pode influenciar no processo autocatalítico de oxidação. Eventos pós-abate, como pH, moagem etc. podem resultar após algumas reações na geração de radicais livres e na propagação de reações oxidativas. Logo, a qualidade final de produtos cárneos industrializados pode ser comprometida. A oxidação lipídica gera prejuízos aos fabricantes, assim, cuidados durante o processo de fabricação são necessários (SHIMOKOMAKI et al., 2006). Na oxidação lipídica, ocorre a decomposição dos lipídios e liberam entre outros produtos, compostos voláteis que acarretam alterações sensoriais, destruição dos constituintes essenciais e reduzem o valor nutricional, além de formar compostos tóxicos durante o processamento e o armazenamento do alimento (MELO; GUERRA, 2002). Desta forma, a adição de antioxidantes é a prática mais comum para aumentar a estabilidade dos lipídios em alimentos.

Segundo Terra, Fries e Terra et al. (2004) pode ocorrer rancificação interna e externa em salames. Esta depende de vários fatores, como qualidade da carne e fatores externos como, temperatura, luminosidade e umidade durante o período de estocagem. Em salames fatiados, a oxidação pode ser ainda maior devido à superfície de contato do produto com o ambiente.

Antioxidantes são usualmente empregados em alimentos, a fim de diminuir os efeitos sensoriais da rancificação. Na indústria alimentar, a oxidação lipídica é inibida por antioxidantes sintéticos. No entanto, estudos feitos têm questionado o uso dos mesmos, devido a riscos de causar doenças cardíacas e carcinogênese. Por esta razão, no continente europeu e em outros países como o Japão, Canadá, e nos Estados Unidos, o uso de certos antioxidantes sintéticos em alimentos não é permitido. Em outros países, inclusive no Brasil, há limites para o uso de antioxidantes sintéticos em alimentos (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007).



## 2.3 REDUÇÃO DO TEOR DE SÓDIO E SAÚDE

O Plano Nacional de Saúde 2012–2015 e o Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil 2011–2022 têm sido coordenados pelo Ministério da Saúde como estratégia para redução do consumo de sódio. Estes têm como eixos, a promoção da alimentação saudável (particularmente no que tange ao uso racional do sal), a realização de ações educativas e informativas para profissionais de saúde, manipuladores e fabricantes de alimentos e população e a reformulação dos alimentos processados (BRASIL, 2011). Logo, se tornam necessários estudos que contribuam para a diminuição de ingredientes que possam vir a causar males futuros ao consumidor, como é o caso do sódio em embutidos cárneos em geral.

O limite máximo de consumo de sódio recomendado pela Organização Mundial de Saúde por pessoa é de 2,0 g/dia, equivalente a 5 g de sal por dia para um adulto. Segundo Sarno et al. (2013), a média de consumo no Brasil entre 2008-2009 era de aproximadamente 4,7 g/dia/pessoa), ou seja, mais que o dobro recomendado por padrões internacionais. No trabalho realizado por Mill et al. (2019) a estimativa do consumo de sal foi calculada considerando todo o sódio excretado na urina, ingerido como NaCl em amostras de urina coletadas de mais de 8.000 indivíduos. Neste trabalho, os valores estimados da ingestão de sal variou entre 8 a 12 g por pessoa ao dia e aponta consumo elevado de sal de forma generalizada na população brasileira, abrangendo todas as faixas etárias e níveis de escolaridade. Como o sal está associado ao aumento da pressão arterial, incidência de acidente vascular cerebral e doenças cardiovasculares, a redução do consumo de alimentos ricos em sódio é necessária.

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento do salame foi realizado no Laboratório de Carnes, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Londrina. As carnes utilizadas para produção do salame foram paleta suína, acém bovino e toucinho, todas adquiridas de açougue local. A cultura *starter* foi doada pela empresa SACCO, conservadores pela empresa Duas Rodas e os demais ingredientes (sal, especiarias, vinho tinto seco, pimenta branca) e a tripa foram adquiridos no comércio da cidade de Londrina-PR.

Tabela 1. Formulações de Salame tipo Italiano com diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de potássio (KCl) e cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>)

Ingredientes	Formulações			
	F1	F2	F3	F4
Sais de cura (%)	0,3	0,3	0,3	0,3
Antioxidante (%)	0,2	0,2	0,2	0,2
Cultura starter (%)	0,025	0,025	0,025	0,025
NaCl (%)	2,8	1,4	1,4	1,4
KCl (%)	0	1,4	0	0,7
MgCl <sub>2</sub> (%)	0	0	1,4	0,7
Açúcar (%)	0,8	0,8	0,8	0,8
Pimenta branca (%)	0,02	0,02	0,02	0,02
Alho em pó (%)	0,2	0,2	0,2	0,2
Vinho seco (%)	1,0	1,0	1,0	1,0

Fonte: Autoria própria.

### 3.1 ELABORAÇÃO DO SALAME

As matérias-primas utilizadas foram a carne suína (60%, m/m), carne bovina (20%, m/m) e toucinho (14,66%, m/m). As mesmas foram previamente moídas em disco 6 mm e em seguida houve a adição dos ingredientes. A mistura foi homogeneizada manualmente, deixada em repouso por aproximadamente 12 h em refrigerador à temperatura de 7 °C e embutida em tripa artificial.

Neste estudo foram realizadas as preparações de salames para quatro formulações. A nomenclatura F1, F2, F3 e F4 foi usada para designar as formulações conforme a Tabela 1.

### 3.2 DETERMINAÇÃO DO PH

Para a determinação do pH foram pesados 5 g da amostra triturada e adicionados a 50 mL de água destilada, homogeneizada. A leitura foi feita em pHmetro Modelo NT PHM. As análises foram feitas em triplicatas, segundo metodologia descrita no IAL (2008).

### 3.3 DETERMINAÇÃO DA UMIDADE EM ESTUFA A 105 °C

Para a determinação da umidade, os cadinhos foram previamente secos em estufa a 105 °C na estufa, por três horas, para eliminação de água, posteriormente, esfriados em dessecador e pesados. Cinco gramas de amostra de salame picada foram pesadas (balança analítica Marca Marte Científica, modelo ATY 224) nos cadinhos e adicionadas de 5 g de areia tratada e levadas para estufa (Nova Ética modelo CAL 0224) até o peso constante (AOAC, 2000). A determinação da umidade foi realizada em triplicata para cada amostra.

Para a determinação de cinzas utilizou-se cadinho de porcelana previamente padronizado em estufa por 2 horas a 105 °C. Posteriormente os cadinhos foram esfriados em dessecador e pesados. Para esta análise foram pesados em torno de 5,0 gramas da amostra (salame) em balança analítica e as mesmas colocadas no bico de Bunsen por 20 minutos e, posteriormente, colocado na mufla e incinerado por 5 horas a 550 °C. Após, os cadinhos com as cinzas foram retirados e resfriados em dessecador. Em seguida foram pesados e a porcentagem de cinzas foi determinada por meio de cálculos gravimétricos para cada amostra (AOAC, 2000). As análises foram feitas em triplicatas.

### 3.4 DETERMINAÇÃO DA COR

A cor do salame foi realizada utilizando o sistema CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), através de leitura em colorímetro Minolta CR 400, onde os valores de  $L^*$  representam a luminosidade ou a porcentagem de refletância, variando de preto (0%) a branco (100%),  $a^*$  mede a variação entre a cor verde ( $-a^*$ ) a vermelho ( $+a^*$ ) e  $b^*$  mede a variação entre o azul ( $-b^*$ ) e o amarelo ( $+b^*$ ).

As leituras foram realizadas na parte interna e externa (superfície) dos salames, sendo os mesmos fatiados em rodélas com espessura de, aproximadamente, 5,0 cm cada. Todas as medidas foram realizadas em triplicatas.

### 3.5 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE LIPÍDIOS

O teor de lipídios foi o determinado por Butirômetro de Gerber. O mesmo baseia-se na separação e quantificação da gordura por meio do tratamento da amostra com ácido sulfúrico e álcool isoamílico (IAL, 2008).

O ácido digere as proteínas que se encontram ligadas à gordura, diminuindo a viscosidade do meio, aumentando a densidade da fase aquosa e fundindo a

gordura, devido à liberação do calor proveniente da reação, o que favorece a separação da gordura pelo extrator (álcool isoamílico), o qual modifica a tensão superficial do meio. A leitura é feita na escala do butirômetro, após centrifugação em centrífuga SIMPLEX B, modelo 24BT e imersão em banho-maria marca MARTE e modelo ATY 224. As análises foram feitas em triplicatas.

### 3.6 DETERMINAÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) resultantes da oxidação lipídica foram determinadas segundo método descrito por Raharjo e Sofos (1993). No teste de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) ou TBARS (substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico) o malonaldeído, reage por aquecimento, com ácido tiobarbitúrico, produzindo coloração que pode ser medida por espectrofotômetro e comparada com a curva padrão (TORRES; OKANI, 1997).

As análises foram feitas em triplicatas e os resultados foram expressos em unidades de absorbância por unidade de massa de amostra ou em “valor de TBA” ou “número de TBA”, definidos como a massa, em mg, de malonaldeído por kg de amostra (OSAWA; FELÍCIO; GONÇALVES, 2005).

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das avaliações físico-químicas foram tratados estatisticamente e após a avaliação da normalidade dos resíduos e da homogeneidade de variância dos tratamentos, foram realizadas as análises de variâncias (ANOVA), seguido do desvio padrão. O teste de comparação múltiplas de médias por Tukey ( $P \leq 0,05$ ) foi utilizado para comparar diferenças significativas entre os valores médios.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Conforme Tabela 2, nota-se que os valores de pH para as quatro formulações foram superiores a 5,0, conforme esperado para a proposta do salame tipo italiano fabricado no Brasil. O pH médio entre as formulações variou muito pouco, o que mostra que a substituição parcial de NaCl por outros sais como, KCl e  $MgCl_2$  não afetam potencialmente a acidez do produto.

Tabela 2: Teores de Umidade e Cinzas (%) e Valores de pH para as diferentes formulações de salame tipo italiano

	<b>(%)Umidade</b>	<b>(%) Cinzas</b>	<b>pH</b>
F1	29,51 ±1,03 <sup>a</sup>	4,24 ±0,60 <sup>a</sup>	5,39 ±0,10 <sup>a</sup>
F2	33,16 ±0,36 <sup>b</sup>	5,04 ±0,75 <sup>a</sup>	5,44 ±0,15 <sup>a</sup>
F3	29,45 ±1,14 <sup>a</sup>	5,29 ±0,58 <sup>b</sup>	5,45 ±0,01 <sup>a</sup>
F4	29,81 ±0,78 <sup>a</sup>	5,81 ±0,63 <sup>b</sup>	5,51 ±0,15 <sup>a</sup>

\*Médias com letras iguais não diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria própria.

Segundo Fernández, Ordonéz e Bruna (2001), o salame tipo italiano deverá apresentar pH entre 5,2 e 5,4 ao final do processo. Os valores obtidos neste trabalho estão próximos do referencial consultado. Valores que venham a divergir podem ser devido à influência de vários fatores como maior tempo de maturação, cultura starter ou ingredientes utilizados.

A média das replicatas para valores de pH nas quatro formulações propostas no trabalho: Na formulação um (F1), onde não houve adição de outros sais, o valor médio foi de 5,39, seguido da formulação dois (F2) com adição de proporções iguais de NaCl:KCl e pH médio de 5,44. Já a formulação três (F3) onde foram substituídos totalmente o NaCl por MgCl o pH foi de 5,45 e na formulação quatro (F4), onde houve a mistura de NaCl:KCl:MgCl<sub>2</sub>, nas proporções respectivas, de 1,4:0,7:0,7% (2:1:1) nota-se o maior pH com valor de 5,51. No entanto, não houve variação significativa para o pH ( $p < 0,05$ ).

Como observado na tabela, o pH para as quatro formulações está dentro dos padrões de qualidade exigidos para o produto. Valores de pH acima de 5,4, torna a carne do salame menos gelatinosa, ou seja, diminui defeitos como a fermentação ácida.

Segundo Terra, Fries e Terra (2004) a qualidade do salame tipo italiano possui o teor de umidade com no máximo 35%. Conforme mostra a Tabela 2, nenhuma das quatro formulações ultrapassaram esse limite. O teor de umidade mínimo foi de 29,45% para a formulação três (F3) e máximo para a formulação dois (F2) com valor 33,16%, isso para valores médios.

Conforme Thomé et al. (2014), os teores de umidade para salames comercializados em Francisco Beltrão apresentaram valores de 29,92 a 38,97%, sendo que a maioria das amostras estava com valores acima do recomendado pela legislação

que é de 35%. Quanto à substituição parcial do cloreto de sódio (NaCl) pelo cloreto de potássio e de magnésio (KCl e  $MgCl_2$ ), no que diz respeito à umidade pode-se verificar, conforme valores médios que houve influência significativa, com  $p < 0,05$ , apenas para a formulação 2. Essa formulação específica possui a mesma quantidade de NaCl e KCl, ou seja, 1,4; 1,4% (1:1) e, quimicamente, não tem explicação, uma vez que as duas moléculas são muito semelhantes em suas propriedades físicas e químicas. Pode ter ocorrido alguma reação química nessa formulação que fez com que mais água tivesse sido retida no salame. Outro fator pode ter sido algum erro aleatório, relacionado às medições, estes podem ocorrer e são indeterminados. Foi possível verificar que o produto obtido por meio das quatro formulações aqui apresentadas é de boa qualidade e está dentro dos padrões em normas de qualidades exigidos.

A umidade é a medida da água total de um alimento, ou seja, é a soma da água ligada e da água livre, sendo esta última a fração disponível para ação dos micro-organismos que causam a deterioração do produto. Segundo os dados apresentados, as formulações de salames possuem teor de água adequado para manter a qualidade sensorial, mas também a microbiológica.

Segundo Silva et al. (2011), o teor de cinzas de salames tipo italiano comercializados na região de Toledo-PR variaram de 3,85 a 5,95%. Conforme Tabela 2, pode-se observar que os salames obtidos neste trabalho tiveram teores médios de cinzas iguais, não variando estatisticamente a um nível de 5%, para a formulação F1 e F2, bem como, também não houve variação significativa entre F3 e F4. A Formulação F1, que possui 2,8% m/m de NaCl, sem adição de outros sais teve o menor teor de cinzas, enquanto a Formulação F4, com teores de NaCl:KCl:Mg- $Cl_2$  de 1,4:0,7:0,7% (2:1:1) respectivamente, foi achado um teor de cinzas médio de 5,81%. Observa-se que o teor médio de cinzas aumenta com as substituições do NaCl por outros sais.

A legislação não trata sobre o teor de cinzas em salames tipo italiano, no entanto, sabe-se que o teor de cinzas corresponde à razão entre a soma das massas de possíveis minerais (macro ou microconstituintes) como  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  presentes e a massa total da amostra. Assim, o teor desses micro e macros constituintes representa uma porcentagem significativa em relação à massa total do salame.

O parâmetro  $L^*$  na escala CIE indica a luminosidade ou porcentagem de refletância. Valores de  $L^*=100$  para a cor branca e  $L^*=0$  a cor preta. Segundo resultados obtidos por Rech (2010), verificou-se que os maiores valores de  $L^*$ , medidos no interior do salame, foram para as formulações com a presença dos

três cátions,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Mg}^{2+}$ . Este trabalho apresenta resultados similares, uma vez que no interior do salame os valores de  $L^*$  sofrem um acréscimo da formulação F1 para a F4.

Valores positivos de  $a^*$  expressam a cor vermelha e valores negativos a cor verde, logo, para salames, quanto maior a tonalidade vermelha em relação à verde, melhor as características de sensoriais (cor) do produto.

Tabela 3 - Parâmetros de cor segundo escala CIE ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) para diferentes formulações de salame tipo italiano medidos na parte interna da amostra

	$L^*$	$a^*$	$b^*$
F1	41,57 $\pm$ 0,80 <sup>c</sup>	16,54 $\pm$ 1,12 <sup>a</sup>	14,05 $\pm$ 0,89 <sup>a</sup>
F2	43,22 $\pm$ 1,21 <sup>c</sup>	15,40 $\pm$ 0,78 <sup>a</sup>	12,55 $\pm$ 1,14 <sup>b</sup>
F3	45,41 $\pm$ 1,15 <sup>b</sup>	14,54 $\pm$ 1,88 <sup>a</sup>	14,00 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>
F4	48,54 $\pm$ 1,80 <sup>a</sup>	14,55 $\pm$ 1,52 <sup>a</sup>	12,89 $\pm$ 0,96 <sup>b</sup>

\*Médias com letras iguais não diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria própria.

Com base na Tabela 3, pode-se notar que ocorre uma diminuição branda da cor vermelha com a adição de  $\text{MgCl}_2$  e  $\text{KCl}$  (F2, F3 e F4), no entanto, não significativas a um nível de 5%. Isso é devido à formação da metamioglobina pela oxidação da carne que produz como resultado uma coloração marrom. A formação desta cor constitui um sério problema para a venda da carne, porque a maioria dos consumidores a associam com um longo período de armazenamento, embora possa haver a formação da metamioglobina em poucos minutos. (MANCINI; HUNT, 2005). Os sais são oxidantes, logo, no processo de fabricação dos salames é comum a formação da metamioglobina e redução da coloração vermelha.

Outro ponto a ser observado é a coloração mais avermelhada no interior do salame em relação à superfície. Esse resultado vem de encontro com as características próprias do produto, pois sua superfície possui maior opacidade devido ao revestimento da parte externa.

Tabela 4 - Parâmetros de cor segundo escala CIE ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) para diferentes formulações de salame tipo italiano medidos na parte externa da amostra

	$L^*$	$a^*$	$b^*$
F1	30,92 $\pm$ 1,57 <sup>a</sup>	12,11 $\pm$ 1,70 <sup>a</sup>	11,95 $\pm$ 0,74 <sup>a</sup>
F2	32,69 $\pm$ 1,29 <sup>a</sup>	12,06 $\pm$ 3,01 <sup>a</sup>	11,55 $\pm$ 1,02 <sup>a</sup>
F3	33,11 $\pm$ 1,34 <sup>a</sup>	11,50 $\pm$ 2,62 <sup>a</sup>	12,98 $\pm$ 0,88 <sup>a</sup>
F4	32,35 $\pm$ 1,53 <sup>a</sup>	11,90 $\pm$ 1,35 <sup>a</sup>	11,98 $\pm$ 0,91 <sup>a</sup>

\*Médias com letras iguais não diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria própria.

Valores positivos de  $b^*$  expressam a variação entre a cor azul e a cor amarela, sendo que valores negativos expressam a cor azul e valores positivos para o amarelo. Em observação à Tabela 4, nota-se que todos os valores para  $b^*$  foram positivos, porém altos se comparados à literatura pesquisada (RECH, 2010).

Os valores de  $L^*$  e  $a^*$  estão próximos aos encontrados em outras referências pesquisadas. Podem também ser considerados como satisfatórios para o salame tipo italiano e que não houve mudanças significativas na cor com a substituição parcial do NaCl apenas na formulação F3 e F4, medidas no interior da amostra.

Segundo Terra, Fries e Terra (2004), a cor do salame se forma nos primeiros sete dias, ou seja, na primeira fase da maturação. A cor é resultado das características da matéria-prima e do processo como um todo, o que faz ser influenciada pela quantidade de NaCl presente (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

Rech (2010) lembra que medidas de cor através dos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  para salames tipo italiano podem não ser a melhor forma de avaliar o produto, uma vez que a gordura do produto interfere, mesmo tomando os devidos cuidados para a leitura em local de maior uniformidade possível.

Conforme Tabela 5, o valor médio das quatro formulações do salame tipo italiano (F1, F2, F3 e F4) tiveram pequenas variações no percentual de lipídios, porém não significativas ( $p < 0,05$ ). As formulações F3 e F4, onde se fez substituição parcial de NaCl por KCl e  $MgCl_2$  obteve-se o menor valor de gorduras, com média de 32,40 e 31,72%, respectivamente. Já o maior teor foi obtido para a formulação 2 (F2), com média de 33,70%.

Em consulta a outros trabalhos de formulações de salames com redução de sódio (RECH, 2010) nota-se que o teor médio de lipídios variou, aproximadamente, entre 30-31%. Os resultados deste trabalho, conforme Tabela 4, mostram teores próximos.



Tabela 5 - Percentual de lipídios e valores de oxidação, em mg de malonaldeído por Kg de amostra, para diferentes formulações de salame tipo italiano

	<b>% Lipídios</b>	<b>Oxidação (mg/kg)</b>
F1	33,21±1,24 <sup>a</sup>	1,5816 ±0,1000 <sup>c</sup>
F2	33,37±1,41 <sup>a</sup>	1,9251 ±0,1615 <sup>b</sup>
F3	32,40±2,15 <sup>a</sup>	2,1966 ±0,0450 <sup>a</sup>
F4	31,72±1,09 <sup>a</sup>	2,2320 ±0,2739 <sup>a</sup>

\*Médias com letras iguais não diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: A autoria própria.

Os resultados obtidos para o percentual médio de lipídios foram próximos ao esperado para esse tipo de produto. Os valores percentuais médios (Tabela 4) variaram de 31,72 a 33,37%, sendo que o maior teor foi para a formulação F2 (33,37%), onde houve adição de KCl na mesma proporção de NaCl. Conforme foram sendo feitas as substituições parciais de NaCl por MgCl<sub>2</sub>, o teor lipídico foi decaindo, podendo ser atribuído ao fato de ter aumentado a oxidação dos mesmos pela adição de outros sais. No entanto, esse decaimento é muito pequeno, não significativo, a nível estatístico, podendo ser desconsiderado.

Os lipídios são de fundamental importância para os alimentos, uma vez que participam do metabolismo e síntese de substâncias importantes. No entanto, existe uma tendência da redução desse componente por motivos de saúde. A preocupação industrial com a quantidade de sódio e gorduras é destaque e de extrema importância, pois se trata de assuntos de saúde global e qualidade do produto (VANDENDRIESSCHE, 2008).

A oxidação lipídica (Tabela 5) foi medida após 30 dias de maturação do produto e pode ser associada às propriedades sensoriais e ao desenvolvimento do ranço. Nota-se, que ocorre um leve aumento, significativo ( $p < 0,05$ ), da oxidação da formulação F1 para a F3. Com base nessa observação pode se dizer que a adição de outros sais provocou uma leve oxidação nos lipídios do salame, uma vez que sais desde o nitrito até outros utilizados na fabricação de embutidos atuam como oxidantes. Segundo Roça (2018), o sal deve ser evitado em carne fresca, pois atua como pré-oxidante, fomentado o ranço oxidativo e a cor marrom indesejável da metamioglobina. Com base nos resultados seria necessária uma avaliação sensorial para melhor verificação da rancificação do produto.

A formulação com menor oxidação lipídica foi a F1, que contém apenas NaCl na concentração 2,8% e difere significativamente das outras formulações. As

formulações F2, F3 e F4 que possuem substituições parciais tanto de KCl como de  $MgCl_2$ , tiveram maiores valores oxidativos. Uma maneira de se prevenir a oxidação lipídica é adicionar ao produto substâncias antioxidantes. Industrialmente, a oxidação lipídica causa depreciação ou rejeição do salame.

Em comparação a trabalhos consultados (CIROLINI, 2010), os valores obtidos na Tabela 4 foram superiores, no entanto, além da matéria-prima (carnes e cultura starter) usada para as formulações, deve-se considerar o tempo em que a medida foi feita. No caso desta pesquisa, a oxidação foi medida 60 dias após a maturação do salame que dura cerca de 30 dias.

## 5. CONCLUSÃO

O desenvolvimento do salame tipo italiano com substituição parcial do cloreto de sódio por outros sais apresentou pH na faixa do salame somente com sódio. O teor de cinzas, gordura e umidade das formulações testes não apresentaram diferenças estatísticas. Para o percentual de umidade, os resultados encontrados neste trabalho estão dentro das normas de qualidade para este tipo de embutido, segundo a legislação vigente.

Os salames produzidos neste trabalho apresentaram um teor médio de gordura próximo a outras referências consultadas e a variação entre as formulações testadas não foi significativa. A adição de sais de potássio e magnésio provocou maior oxidação do salame no período estudado. É necessária uma avaliação sensorial para melhor verificação da rancificação do produto.

A cor do salame com adição de KCl e  $MgCl_2$  apresentou aumento na luminosidade (brilho)  $L^*$  na parte interna dos produtos, não havendo variação na coloração vermelha.

## REFERÊNCIAS

AOAC - American of Analytical Chemists. Official methods of analysis, ed.17, 2000.

BENEIDES, S. D.; NASSU, R. T. EMBRAPA. **Produtos Cárneos**. Disponível em: [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/ovinos\\_de\\_corte/arvore/CONT000g3izohks02wx5ok0tf2hbweqanedo.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/ovinos_de_corte/arvore/CONT000g3izohks02wx5ok0tf2hbweqanedo.html). Acesso em: 16 mai. 2020.

BERNARDI, S.; GOLINELI, B. B. Aspectos da aplicação de culturas *startes* na produção de embutidos cárneos fermentados. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 13, n.2, p. 133-140, abr./jun. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução nº 22, de 31 de julho de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e qualidade do salame do tipo italiano. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**. Brasília. DF.

\_\_\_\_\_. Secretaria de Vigilância em Saúde. Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DNCT) no Brasil 2011-2022. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2011. 148 p. (Série B. Textos Básicos de Saúde).

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº272, de 14 de março de 2019. Estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**. Brasília. DF.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. **Política nacional de alimentação e nutrição**. 2ª ed. (Revisita) Brasília: Ministério da Saúde; 2003. (Série B. Textos Básicos de Saúde). Disponível em: <http://189.28.128.100/nutricao/docs/geral/pnan.pdf>. Acesso: em 25 maio 2020. [http://conselho.saude.gov.br/biblioteca/livros/politica\\_alimentacao\\_nutricao.pdf](http://conselho.saude.gov.br/biblioteca/livros/politica_alimentacao_nutricao.pdf)

CIROLINI, A. et al. Salame tipo italiano elaborado com culturas Starters nativas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 30, Supl.1, p. 171-179, 2010.

FERNANDÉZ, M. et al. Accelerated Ripening of Dry Fermented Sausages. **Food Science & Technology**, v. 11, p. 201-209, 2001.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4ª ed. São Paulo, 2008.

LAWRIE, R. A. **Ciência da Carne**. 6ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

MANCINI, R. A.; HUNT, M. C. Current research in meat color. **Meat Science**, Barking, v.71, p.100-121, 2005.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: Antioxidantes naturais da família lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 96-103, 2007.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MILANE, L. I. G. et al. Redução do teor de sódio em salame tipo italiano. **Higiene Alimentar**, n. 25, p. 142-148, 2011.

MILL, J. G. et al. Estimativa do consumo de sal pela população brasileira: resultado da Pesquisa Nacional de Saúde 2013. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, Rio de Janeiro, v.22, supl.2, 2019.

MUGUERZA, E. et al. Effect of replacing pork backfat with pre-emulsified olive oil on lipid fraction and sensory quality of Chorizo de Pamplona - a traditional Spanish fermented sausage. **Meat Science**, v.59, p. 251-258, 2001.

NASCIMENTO, R. et al. Substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio: influência sobre as características físico-químicas e sensoriais de salsicha. **Alim. Nutr.** Araraquara, v.18, p.297-302, jul./set. 2007.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: Métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Quim. Nova**, v. 28, n. 4, p.655-663, 2005.

PAIVA, D. C. et al. Nitritos e nitratos em produtos cárneos no estado de São Paulo. **Revista Nacional da Carne**. São Paulo, n. 444, p. 38-51, 2014.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. 2 ed. Goiânia: Ed. Da UFG, v. 1, 2006.

\_\_\_\_\_. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. 2 ed. Goiânia: Ed. Da UFG, v. 1, 2007.

RAHARJO, S.; SOFOS, J. N. Methodology for Measuring Malonaldehyde as a Product of Lipid Peroxidation in Muscle Tissues: A Review. **Meat Science**, v. 35, n.2, p.145-69, 1993.

RECH, R. A. **Produção de salame tipo italiano com teor de sódio reduzido**. 2010. 70f. Dissertação (Mestrado em ciência e tecnologia dos alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2010.

SARNO, F. et al. **Estimativa de consumo de sódio pela população brasileira, 2008-2009**. Rev. Saúde pública, v.47, n.3, p.571-578, 2013.

SHIMOKOMAKI, M. et al. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**. Varela editora e Livraria Ltda. São Paulo, 2006.

SILVA, C. et al. Análise físico-química de salames coloniais comercializados no município de Toledo, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum Technology**, v. 33, n. 3, p. 331-336, Maringá, 2011.

SIMEONI, P. S. et al. Fatores pós-abate que contribuem para a maciez da carne. **Revista do Centro de Ciências Naturais – UFSM**, v. 18 Ed. Especial, p. 18-24, Maio, 2014.

SOUZA, A. M. Impacto da redução do teor de sódio em alimentos processados no consumo de sódio no Brasil. **Cad. Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v.2, n.32, fevereiro, 2016.

TERRA, A. B. de M.; FRIES, L. M. L.; TERRA, N. N. **Particularidades na fabricação de salame**. São Paulo: Varela, 2004.

THOMÉ, B. R. et al. **Avaliação Físico-Química E Microbiológica De Salame Tipo Italiano**. Cobeq: Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis, 2014.

TORRES, E. A. F. S.; OKANI, E. T. Teste de TBA: Ração em Alimentos. **Revista Nacional de Carne**, v.234, p.68-74, 1997.

VANDENDRIESSCHE, F. Meat Products in the past, today and in the future. **Meat Science**, Barking, v. 78. N. 1-2, p. 104-113, 2008.



## **AVALIAÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA DA CARNE DE FRANGO REFRIGERADA E PÓS-COCÇÃO ACOMETIDA PELA ANOMALIA *WHITE STRIPING***

*Lais Ribeiro de Souza  
Natália Moraes Leite  
Roberta Barreiros de Souza  
Alexandre Rodrigo Coelho  
Fábio Augusto Garcia Coró  
Mayka Reghiany Pedrão*

### **1. INTRODUÇÃO**

O agronegócio brasileiro (2018/2019) relatou que a produção de carne de frango, bovino e suíno será de 33 milhões de toneladas, sendo que o maior aumento de produção e exportação foi da carne de frango, cujo consumo mundial gira em torno de 12,0 milhões de toneladas ou de 55,8 kg/hab/ano (BRASIL FOOD INGREDIENTES, 2018). Além do elevado valor nutritivo, a carne de frango pode ser considerada como um alimento funcional, pois contém baixo teor de colesterol e gordura com alto grau de instauração (PETRACCI; CAVANI, 2012).

O Brasil é considerado o segundo maior produtor mundial de carne de frango, na qual 34% da produção é destinada à exportação e mais da metade dessa exportação é feita na forma de cortes, tendo como maior valor agregado o peito e filé de peito (PEREIRA et al. 2005; ABPA, 2018).



Devido à elevada exportação e consumo intensifica-se a necessidade de produzir produtos de qualidade. De acordo com a Instrução Normativa 20/1999, a carne de frango deve possuir um aspecto geral uniforme sem acúmulo sanguíneo, sem corpos estranhos e sem manchas escuras, além de possuir fibras musculares finas. Coloração deve ser uniforme, sem manchas, variando do amarelo avermelhado ao amarelo esbranquiçado, sendo que os músculos do peito possuem tonalidade mais clara. A consistência normalmente é firme, macia e ligeiramente úmida (BRASIL, 1999).

Com a necessidade de obter frangos de qualidade, com maior peso, e conseqüentemente maior rendimento em menos tempo, obteve-se avanços tecnológicos na seleção genética, estratégias de manejo, nutrição (MARTINS et al., 2012). No entanto, essas demandas em alcançar tais propósitos acarretaram alterações histológicas e bioquímicas decorrentes dessa nova geração de frangos de corte, prejudicando alguns traços na qualidade da carne, que está ocasionando perdas na cadeia produtiva industrial. Devido a essa alteração ocasionada ao tecido muscular, pela evolução das aves surgiu a miopatia peitoral emergente chamada de *White striping* (WS) ou estrias brancas. As desordens na musculatura do peito classificadas de miopatia WS são visíveis em cortes crus com aparecimento de estrias brancas paralelas a fibra muscular na superfície dos músculos *Pectoralis major*. Geralmente iniciam na porção cranial do filé do peito, próximo ao ponto de inserção da asa e podem apresentar vários níveis de severidade. A presença do WS altera as características visuais do peito de frango, tendo rejeição pelo consumidor, mas as alterações não se limitam apenas às alterações visuais, ocorrendo também mudanças na composição química (KUTTAPPAN et al., 2012a; KUTTAPPAN et al., 2012b).

De acordo com Petracci et al. (2014), peitos de frango acometidos com WS possuem maiores conteúdos de lípidios e apresentam aumento desses teores de acordo com o grau de severidade da anomalia. Soglia et al. (2015) observaram que peitos acometidos com WS apresentam média de 1,25% de lípidios enquanto os considerados normais 0,87%. Sabe-se que realmente há mais lípidios nestas carnes, mas ainda não há diferenciação em relação à taxa de oxidação lipídica deste músculo.

Diante desse contexto, o presente trabalho teve como principal objetivo avaliar a oxidação lipídica da carne de frango tratada termicamente acometida com *White striping*.

## 2. CONSUMO E PRODUÇÃO DA CARNE DE FRANGO

A carne de frango é a fonte de proteína animal que mais cresceu no Brasil e no mundo nos últimos 40 anos. Dentre os produtos mais comercializados, destacam-se os cortes de frango, que correspondem a 57,7%, sendo que, um dos cortes com maior importância econômica é o peito de frango (OECD-FAO, 2015). De acordo com a USDA *apud* DEPEC (2017) o consumo da carne de frango no Brasil representa 46,8% e no mundo 34,6% perdendo apenas para carne de porco. Estimativas da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) projetam aumento de 3% a 5% nos embarques brasileiros de carne de frango em 2017 (DE ZEN et al., 2017). Os compradores atuais, como os países do Oriente Médio, também devem manter um bom ritmo de importação do produto brasileiro.

Petracci et al. (2015) ressaltam que a indústria de carnes experimentou um aumento geral na demanda de produção, especialmente de carne de frango. Este crescimento progressivo está relacionado com os seguintes fatores: perfil saudável percebidos pelos consumidores (carne com baixo teor de gordura e alto conteúdo proteico), preço baixo se comparado à carne vermelha, adequação para processamento posterior devido às características sensoriais.

Devido à alta do mercado e o constante crescimento da produção de cortes de frango, há uma preocupação com a qualidade deste produto em paralelo à necessidade de abater frangos maiores, em menos tempo (FRAGA et al., 2015).

Contudo, a grande responsável pelo crescimento da avicultura no Brasil e no mundo é a pesquisa e desenvolvimento genético das aves destinadas ao corte. Este setor conseguiu desenvolver linhagens híbridas com constante melhoria de conversão alimentar, velocidade de ganho de peso e rendimento de carcaça, alcançando a possibilidade de abater aves com maior peso em menor intervalo de tempo (JESUS JUNIOR et al., 2007). A seleção genética juntamente com o rápido crescimento nem sempre atinge tais respostas, e a incidência de comportamento fisiológico anormais começam a aparecer com mais frequência, e são extremamente visíveis e significativas em peitos de frango (SANTIAGO, 2015).

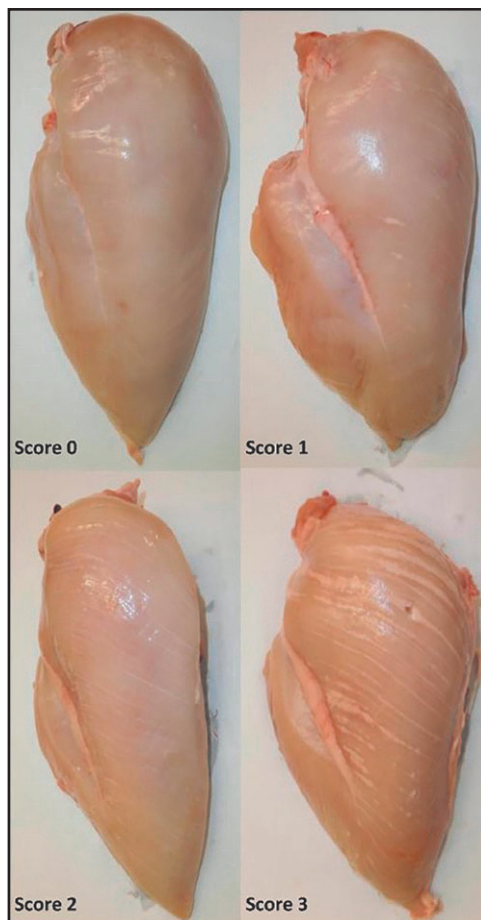
## 3. ANOMALIA *WHITE STRIPING*

Dentre as alterações fisiológicas anormais se destaca o surgimento da anomalia peitoral chamada de *White striping* (WS). Segundo Baldi et al. (2018),

durante os últimos anos, tem havido uma prevalência crescente de anormalidades musculares em peito de frango com destaque para a WS. De acordo com Bailey et al. (2015), o WS é caracterizado por linhas brancas visíveis paralelamente à direção das fibras musculares e que a quantidade e a espessura das listras brancas podem variar de ave para ave como na Figura 1. Segundo as análises histológicas e químicas do músculo, as listras brancas são compostas de tecido conjuntivo. Sihvo, Immonen e Puolanne (2013) citam que houve um aumento dessa anomalia na Finlândia e uma tendência semelhante também pode ser observada em vários outros países. As alterações são restritas ao músculo *Pectoralis major*, com áreas externas pálidas e duras, com estrias brancas. Estas alterações resultam na rejeição pelo consumidor e consequentemente prejuízos para as indústrias produtoras.

Lorenzi et al. (2014), comentam que há incidência carnes acometidas com WS em 40% dos animais abatidos. Outros pesquisadores indicam variações de obtenção de carne WS entre 12 a 40% (PETRACCI et al., 2013; FERREIRA et al., 2014; RUSSO et al., 2015). Zanetti et al., (2018) estudaram as perdas econômicas que são oriundas do desenvolvimento de WS e estimaram perdas diárias de até U\$ 70.632,00. Segundo trabalho apresentado por Corazza et al. (2017), esses prejuízos são decorrentes do não aproveitamento total desta matéria-prima, pois além do descarte dos peitos acometidos por estas miopatias, as carcaças dessas aves não são comercializadas como frango inteiro. As miopatias tipo WS e WB são responsáveis por cerca de 1% das condenações em abatedouros, um valor não aceitável de desperdício.

Figura 1- Filés de peito de frango exibindo diferentes graus de estriamento (WS)

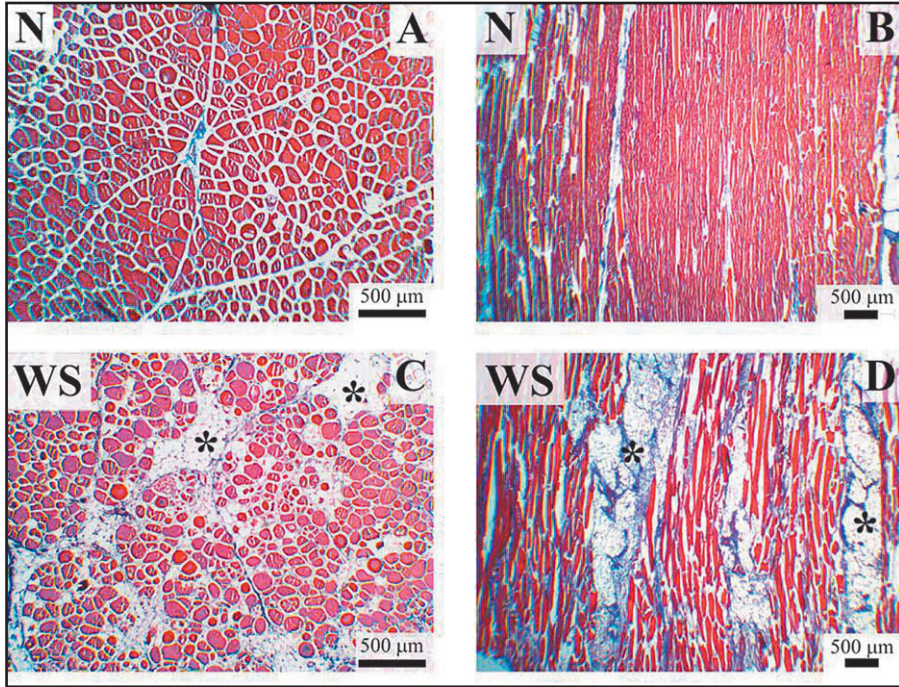


Legenda: Score 0: normal; score 1: moderado; score 2: severo; score 3: altamente severo.

Fonte: Bailey et al., 2015.

A Figura 2, obtida em artigo publicado por Baldi et al., (2018) mostra microscopicamente as alterações teciduais entre amostras normais e amostras acometidas por *White Striping*. Em amostras afetadas por WS é peculiar e abundante a presença de tecido adiposo endomisial infiltrado e, sobretudo, perimisial (asteriscos) com infiltração gordurosa em alguns casos coincide com a parte fibrilar. Observa-se também maiores espaços entre as fibras musculares nas amostras WS, indicando comprometimento da estrutura em relação à capacidade de retenção de água, logo podendo comprometer a qualidade do produto.

Figura 2 - Microscopia de Pectoralis major. Coloração: tricrômico de Masson. Imagens representativas de transversais (a, c) e longitudinais (b, d) de cortes histológicos de amostra normal (N) e acometida por White striping (WS).



Fonte: Baldi et al. (2017).

Sabe-se que as carnes acometidas por WS tendem a apresentar maior conteúdo lipídico (ZAMBONELLI et al., 2016; BALDI et al., 2018) e, consequentemente, uma maior taxa de oxidação deste material, levando a perdas de qualidade nutricional e sensorial. Além disso, o desenvolvimento de aroma de requeijado em carnes de aves é notório, e uma vez que há maior probabilidade de oxidação, este aroma não desejável poderá se pronunciar, afetando ainda mais as características sensoriais de produtos tratados termicamente.

#### 4. COMPOSIÇÃO LIPÍDICA DA CARNE E SUA OXIDAÇÃO

A presença de lipídios influencia na aceitação da carne pelo consumidor, uma vez que a sua presença garante alterações favoráveis na textura, aroma, sabor e cor da carne. O maior conteúdo de lipídios está presente no músculo variando de 1,5 a 13% (PINO, 2005). O teor de lipídios da carne de frango varia

de 3,2 e 5,18% para a coxa; 1,3 e 4,36% para sobrecoxas e 0,9 a 1,57% para o peito (HUALLANCO, 2004).

Em trabalho apresentado por Soares et al. (2009), a oxidação lipídica foi 27 % maior em carnes PSE (Pale, Soft e Exudative), anomalia resultante do estresse ante-mortem, que é caracterizada por uma carne de cor pálida, flácida e exsudativa na superfície que apresenta comprometimento da qualidade funcional das matérias-primas, em relação a carnes normais. Peitos sem alteração apresentaram para TBARS (Teste de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico) valores de 0,32( $\pm$  0.07). Isto é um indicativo que peitos com anomalias podem apresentar menor estabilidade lipídica, e conseqüentemente comprometer a qualidade nutricional e sensorial desta fonte proteica de alimento. Sabe-se que o aumento de TBARS está diretamente relacionado à quantidade e ao perfil lipídico presente nas carnes.

Baldi et al. (2018) apresentam uma diferenciação do conteúdo lipídico da carne de frango normal e da carne acometida com WS. Tanto na posição superficial quanto na profunda, o conteúdo lipídico da carne com WS foi maior, sendo 1,53% para superficial e 1,58% para profundo, no peito normal, e 2,47 e 2,05% para posição superficial e profunda respectivamente, para a carne com WS.

## 4.1 MECANISMO DE OXIDAÇÃO LIPÍDICA

Mariutti e Bragagnolo (2009) mencionam que a carne de frango é extremamente vulnerável à ocorrência de oxidação lipídica, pois apresenta em sua composição elevados teores de ácidos graxos insaturados e também que a oxidação lipídica é um fator limitante da vida útil dos alimentos, especialmente de carnes, podendo causar alterações sensoriais e também funcionais como, capacidade de retenção de água, capacidade de emulsão, perdas nutricionais da carne e de seus subprodutos.

A oxidação lipídica em tecidos musculares pode ter início devido a fatores internos e externos, como por exemplo, devido à manipulação, processamento e armazenamento da carne. O ferro endógeno é em parte responsável pela oxidação dos lipídios, resultando em odor de ranço e outros *off flavours* (CHEN; PERSON; GRAY, 1984).

O mecanismo de oxidação lipídica ocorre basicamente em 3 estágios sendo eles: iniciação, propagação e terminação (PINO, 2005). A iniciação envolve a geração de um radical livre a partir de um ácido graxo insaturado e necessita

de um elemento iniciador como o calor e enzimas catalisadoras; nessa etapa há baixo consumo de oxigênio, baixa concentração de peróxidos, não ocorre alteração sensorial, porém há um aumento na concentração de radicais livres (KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996).

A propagação envolve a eliminação de um átomo de hidrogênio de uma molécula lipídica ou a adição de oxigênio para um radical, no qual um radical lipídico é transformado em um radical lipídico diferente, inicia-se o aparecimento de alterações sensoriais (BRASIL, FOOD INGREDIENTS, 2014).

A terminação envolve a reação entre radicais livres para formar produtos estáveis, ou seja, produtos secundários de oxidação tais como cetonas, álcoois, hidrocarbonetos, ácidos graxos de baixo peso molecular e aldeídos como o malonaldeído (MDA) que contribui para mudanças no aroma natural da carne, além de apresentar efeito carcinogênico, tóxico e mutagênico em seres humanos (PINO, 2005). Na terminação, cai o consumo de oxigênio, diminui a concentração de peróxidos e a alteração sensorial é perceptível, com aumento da viscosidade, alteração na cor, sabor e odor (POKORNY; YANISHLIEVA; GORDON, 2001).

A oxidação lipídica inicia-se logo após o abate do animal, surgindo alterações. Existem alguns fatores que propiciam a ocorrência da oxidação lipídica, como mudanças bioquímicas que ocorrem no período de conversão do músculo em carne, como a parada do fluxo sanguíneo, ocorrendo então falhas no sistema antioxidante natural. O nível de oxidação lipídica é influenciado por fatores pré-abate e pós-abate; fatores pós-abate como desossa mecânica, moagem da carne, encurtamento das fibras pelo frio causam rompimento das membranas musculares ocorrendo a liberação de ferro da mioglobina e liberação de proteínas (SOARES; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2004).

## 4.2 OXIDAÇÃO LIPÍDICA EM CARNES COZIDAS

A oxidação lipídica é uma das maiores causas de deterioração na qualidade da carne. O desenvolvimento da rancidez oxidativa em carnes inicia-se logo após a morte do animal e tende a aumentar, podendo tornar o produto inaceitável pelo consumidor. Sendo um desafio para as indústrias manter o produto sem sabores estranhos causados pela oxidação (LUCIANO; MONAHA; VASTA, 2009).

De acordo com Tims e Watts (1958) *warmed-over flavor* (sabor de requeitado - WOF) é definido como o rápido início da rancidez em carnes cozidas

durante a estocagem sob temperatura de refrigeração. Produtos cárneos pré-cozidos e reaquecidos tendem a desenvolver esses sabores indesejáveis, conhecidos como WOF. Tornando uma preocupação para o setor industrial uma vez que, o reaquecimento de carnes é comum para o consumo.

Contudo, se faz importante o estudo da oxidação lipídica em carnes anômalas tratadas termicamente, considerando que já ocorrem perdas para as indústrias devido à ocorrência da rancidez em carnes cozidas. Prejuízos também pela presença de anomalias, e por fim, que a possível combinação desses dois fatores pode resultar em maiores perdas.

## 5. METODOLOGIA

Trata-se de uma pesquisa experimental com obtenção de dados quantitativos que avaliou a quantidade de lipídios e a oxidação lipídica do peito de frango em material *in natura* e material submetido a tratamento térmico (*warmed flavor*), sendo amostras normais e amostras acometidas com WS.

### 5.1 MATERIAL EM ESTUDO

As amostras de peito de frango foram doadas por um frigorífico de frangos, localizado no Paraná. Em seguida foram transportadas em caixa térmica até a Universidade Tecnológica Federal do Paraná para realização das análises.

#### Preparo das amostras para análise

Foram coletadas um total de 10 amostras normais e 10 amostras com WS, sendo que por vez foram coletadas 2 amostras. Após a chegada à universidade, as amostras foram cortadas ao meio, metade foi triturada em liquidificador, armazenadas em temperatura de refrigeração e se seguiram as análises de determinação de lipídios e oxidação lipídica em um período de 5 dias após a coleta, sendo realizadas em triplicata. A outra metade foi embalada a vácuo e cozida em banho-maria a 80 °C por 55 minutos, em seguida foi triturada em liquidificador e armazenada sob refrigeração. Ao término do preparo se prosseguiram as análises para determinação da oxidação lipídica em triplicata.



## 5.2 LIPÍDIOS

Para a determinação de lipídios foi utilizado o método idealizado por Soxhlet no ano de 1879. Este método baseia-se no refluxo contínuo de um solvente que tem afinidade com os lipídios presentes na amostra. Ocorre a transferência do óleo da amostra (constituente solúvel) para o solvente que entrará em contato com a amostra. O óleo transferido para o solvente é recuperado no final do processo sem que ocorra qualquer transformação química no mesmo.

Para determinação, foi pesado de 3 a 5 gramas da amostra *in natura* em cadinhos de porcelana, em seguida fez-se a secagem da amostra em estufa a 105 °C; posteriormente esfriou-se em dessecador. Transferiu-se a amostra para o cartucho de extração de lipídios, fazendo a lavagem com solvente e iniciou-se a extração. Para a extração foi usado o extrator automático Soxtec 2050, marca FOSS. Foi utilizado como solvente, éter de petróleo P.A (faixa de ebulição 30-60 °C). O equipamento possui três estágios, que correspondem a extração com cartucho submerso, gotejamento sobre o cartucho e recuperação do solvente; foi programado da seguinte forma: temperatura de 80 °C, e nos estágios tempos de 30 minutos, 1 hora, 3 minutos em cada estágio respectivamente. Ao final da extração, retirou-se os copos com o material extraído, colocou-se em estufa a 105 °C, esfriou-se em dessecador e por fim foi feita a pesagem, obtendo-se o valor expresso em gramas de lipídios. O cálculo para quantificação do teor de lipídios foi realizado de acordo com a Equação 1 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

**Equação 1** – Expressão matemática para o cálculo da quantidade de lipídios.

$$\frac{100XN}{P} = \% \text{ de lipídios} \quad (1)$$

Onde:

N= n° de gramas de lipídios

P = n° de gramas da amostra.

## 5.3 DETERMINAÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA

A oxidação lipídica é uma das principais causas da perda da qualidade em carnes e seus derivados. A molécula de malonaldeído (MDA) é utilizada como indicador da rancidez oxidativa em alimentos e sistemas biológicos.

Entre os métodos usados para determinação da oxidação lipídica dos alimentos ressaltam-se o método de TBARS. É um teste baseado na reação do ácido tiobarbitúrico com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos. Um dos principais produtos formados no processo oxidativo é o malonaldeído (MDA), um aldeído com 3 átomos de carbono. O método consiste na medida espectrofotométrica de um complexo de coloração róseo forte, resultante da condensação de 2 mols de ácido-2-tiobarbitúrico (TBA) com um mol de malonaldeído e outras substâncias reagentes a este ácido.

A determinação foi realizada pelo método de destilação simples. Primeiramente foram preparados os reagentes, sendo eles: solução padrão de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP), ácido-2-tiobarbitúrico (TBA) = 0,02 mol/L e solução de ácido clorídrico mol/L.

Foi preparado 1000 mL de solução de TEP, pesou-se 0,2203 g do reagente, colocou-se em um balão volumétrico de 1000 mL dissolveu-se em água destilada completando o volume, em seguida colocou-se a solução em frasco âmbar e armazenou-se em geladeira. Para preparação do TBA foi pesado 3,2432 g completando também com 1000 mL de água destilada, posteriormente dissolvendo o TBA com auxílio de um banho de ultrassom, até completa solubilização. Para o HCl mediu-se em uma proveta 331,60 mL de ácido clorídrico P.A, em capela com exaustão ligada e em outra 668,4 mL de H<sub>2</sub>O destilada, ou seja, totalizando para um volume final de 1000 mL. Em outro frasco colocou-se a água e adicionou-se o ácido vagorosamente, obtendo-se a solução.

## Preparo da curva padrão

Para construção da curva foi pipetada a solução (TEP) colocando-a em balão volumétrico completando o volume com água destilada. Em seguida foram feitos os pontos da curva variando a concentração de TEP de  $1.10^{-8}$  a  $7.10^{-8}$  mols/mL. Posteriormente se preparou diluições em tubos de ensaio com tampa. De acordo com o Quadro 1:

Quadro 1 - Esquema das diluições para curva padrão

<b>Tubos</b>	<b>TEP. 10<sup>-8</sup> (moles/mL)</b>	<b>Padrão TEP (mL)</b>	<b>H<sub>2</sub>O destilada (mL)</b>	<b>TBA (mL)</b>
Branco	---	---	5,0	5,0
1	1	0,5	4,5	5,0
2	2	1,0	4,0	5,0
3	3	1,5	3,5	5,0
4	4	2,0	3,0	5,0
5	5	2,5	2,5	5,0
6	6	3,0	2,0	5,0
7	7	3,5	1,5	5,0

Fonte: Tarladgis, Person e Dugan (1964); Crackel (1988); Shahidi et al. (1985).

Ao final das diluições homogeneizou-se os tubos, em seguida foram colocados em banho-maria fervente por 35 minutos. Posteriormente resfriou-se em água à temperatura ambiente procedendo a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 530 nm. Ao concluir a leitura transferiu-se os valores de absorbância para o excel e determinou-se a equação da reta. Sendo ela:

**Equação 2** – Equação da reta obtida por meio da construção da curva padrão

$$y = 0,1453x + 0,168 \quad (2)$$

## Determinação do malonaldeído

A amostra de peito de frango já triturada e armazenada foi pesada, exatamente 10 g, em seguida transferiu-se para um frasco de destilação de 500 mL (tipo kjeldhal) com 47,5 mL de água destilada; 2,5 mL de HCl 4N (pH $\cong$  1,5) completando o volume para 100 mL e adicionou-se 3 gotas de anti-espumante (silicone ou tenox). A destilação foi feita em aparato semelhante a um macro-kjeldahl. Sendo recolhido 50 ml do destilado em aproximadamente 10 minutos após o início da fervura do homogenato. Posteriormente coletou-se 5 ml do destilado colocando em tubo de ensaio com tampa e acrescentou-se 5 ml da solução

de ácido-2-tiobarbitúrico (TBA). O tubo foi hermeticamente fechado, colocou-se em banho-maria fervente por 35 minutos. Em seguida, foi resfriado à temperatura ambiente e leu-se a absorvância contra o branco em 530 nm.

Calculou-se a concentração de malonaldeído/kg de amostra a partir da equação da reta, obtida por meio da construção da curva padrão (Equação 2). Isolando  $x$  e substituindo  $y$  pela absorvância das amostras analisadas obteve-se o número de TBARS.

## 6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A partir da realização das análises, os resultados obtidos foram submetidos a uma análise estatística: teste T (duas amostras), utilizando o programa Biostat 5.0.

## 7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores de lipídios e de oxidação lipídica obtidos entre peitos de frangos classificados como normais e com White String

<b>Análises</b>	<b>Controle</b>	<b>WS</b>
Lipídios (%)	1,28 ± 0,76 <sup>b</sup>	2,87 ± 0,91 <sup>a</sup>
MDA (mg/kg)	2,869 ± 1,21 <sup>aA</sup>	3,181 ± 2,10 <sup>aB</sup>
MDA (mg/kg) pós-tratamento térmico	2,500 ± 0,96 <sup>bA</sup>	3,040 ± 1,00 <sup>aB</sup>

\* Os meios seguidos por diferentes letras na mesma linha (letras minúsculas) e diferentes letras na mesma coluna (letras maiúsculas) diferem por um Teste t (LSD) no nível de significância de 1% ( $P < 0,01$ ).

Fonte: Autoria própria.

Para lipídios, os valores obtidos neste trabalho se mostraram 2,24 vezes maior em carnes acometidas com WS do que nas carnes controle. Se assemelhando aos valores encontrados por Baldi et al. (2018), no qual o teor de lipídios também foi maior para as carnes com WS.

Como já relatado por Kuttappan et al. (2012a) e Petracci et al. (2014), a quantidade de gordura intramuscular aumenta com o grau de WS. Sendo assim, estes autores sugerem que o dano ao tecido muscular é agudo ou contínuo, e as tentativas de reparar ou regenerar as zonas danificadas podem falhar, levando à diferenciação das células-tronco pluripotentes do tecido muscular em fibroblastos ou adipócitos, que por sua vez levam à fibrose e lipidose.

Os valores de TBA também expressos na Tabela 1 não apresentaram diferença significativa entre os peitos controle e os acometidos com WS. Resultado similar ao estudo apresentado por Alnahhas et al. (2016) em que foi observado que peitos de frango com WS não afetou os valores para as análises de TBA.

Contudo, ao observar a oxidação lipídica das amostras tratadas termicamente é perceptível um aumento significativo das taxas de oxidação, sendo um indicativo de que peitos acometidos pela anomalia WS tratados termicamente apresentam menor instabilidade. Confirmando que a combinação de carnes acometidas pela anomalia WS, submetidas ao tratamento térmico apresentam maiores taxas de oxidação.

Fernandes et al. (2012), citam que valores de TBARS até 1,59 mg de malonaldeído/kg de amostra são considerados baixos para serem percebidos por análise sensorial e não causam problemas para a saúde do ser humano. Segundo Trindade et al. (2008), odores de ranço podem ser detectados por provadores treinados e não treinados na faixa de 0,5-1,0 e 0,6-2,0 mg malonaldeído/kg de amostra, respectivamente. Os valores obtidos neste experimento indicam valores mais elevados, o que justifica o aroma e sabor de requeitados característicos de carnes de aves, consequentemente este resultado pode causar rejeição pelo consumidor e maiores prejuízos para o setor industrial. Todavia, é necessário ressaltar que esperava-se valores mais altos para as taxas de oxidação após aquecimento térmico. Contudo, isto não pode ser observado neste trabalho.

## 8. CONCLUSÃO

As carnes de aves acometidas pela anomalia WS apresentam maior teor de lipídios e maior grau de oxidação lipídica comparada à carne *in natura* controle, sendo um fator de qualidade perceptível pelo consumidor que pode gerar depreciação do produto.

## Agradecimento

MRP agradece a concessão de bolsa DTII ao CNPq e ao Laboratório Multiusuário do Câmpus Londrina da Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelas análises realizadas.

## REFERÊNCIAS

ABPA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (SÃO PAULO). 2018 Relatório Anual. 2018. Disponível em <http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual2018.pdf>. Acesso em: 01 abri. 2020.

ALNAHHAS, N. et al. Genetic parameters of white striping in relation to body weight, carcass composition, and meat quality traits in two broiler lines divergently selected for the ultimate ph of the pectoralis major muscle. **Bmc genetics**, v. 17, p. 61, 2016.

BAILEY, R. et al. The genetic basis of pectoralis major myopathies in modern broiler chicken lines. **Poultry Science**, v. 94, p. 2870–2879, 2015.

BALDI, G. et al. Implications of white striping and spaghetti meat abnormalities on meat quality and histological features in broilers. **Animal**, n. 12, v. 1, p. 164-173, 2018.

BRASIL. Instrução Normativa nº20 de 21 de Julho de 1999. Métodos analítico físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – Sal e Salmoura. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 09 set.1999.

BRASIL, FOOD INGREDIENTS. Os tipos e os efeitos da rancidez oxidativa em alimentos. **Rancidez Oxidativa**, n. 29, p. 42-49, 2014.

CHEN, C. C.; PEARSON, A. M.; GRAY, J. I. et al. Some factors influencing the non heme iron content of meat and its implications in oxidation. **Journal of Food Science**, v.49, p. 581-584, 1984.

CORAZZA, J. et al. Perdas econômicas devido às alterações peito de madeira e peito com estrias brancas em um abatedouro de frangos de corte. **III Semana do conhecimento**. 3 a 7 de Outubro de 2017. Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo. Brasil. 2017.

CRACKEL, R. L. et al. Some further observations on the TBA test as an index of lipid oxidation in meats. **Food Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 187-196, 1988.

DE ZEN, S. et al. **FRANGO/CEPEA: Cenário é positivo para 2017, mas setor deve ficar de olho na oferta. Análise perspectiva sobre o setor avícola elaborada pelo Cepea**. Disponível em: <https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/cenario-e-positivo-para-2017-mas-setor-avicola-deve-ficar-de-olho-na-oferta/20170110-134436-o204>. Acesso em 06 nov. 2017.

DEPEC – **Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos Carne avícola**. Disponível em: [https://www.economiaemdia.com.br/EconomiaEmDia/pdf/infset\\_carne\\_avicola.pdf](https://www.economiaemdia.com.br/EconomiaEmDia/pdf/infset_carne_avicola.pdf). Acesso em: 20 out. 2017.

FERNANDES, R. P. P. et al. Estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de carne ovina embalada a vácuo estocada sob refrigeração. **Ciência Rural**, v.42, n.4, p.724-729, ab2012.

FERREIRA, T.Z. et al. An investigation of a reported case of white striping in broilers. **Journal Applied Poultry Research** v. 23, n. 4, p.748-753, 2014.

FRAGA, S. T. et al. Estudo anátomo-patológico do músculo pectoralis major de frangos de corte acometidos com WoodenBreast (WB). In: **42º Congresso Bras. de Medicina Veterinária e 1º Congresso Sul-Brasileiro da ANCLIVEPA**. Curitiba, 2015.

HUALLANCO, M. B. A. **Aplicação de um sistema de classificação de carcaça e corte e efeito pós abate na qualidade de cortes de frangos criados no sistema alternativo**. 2004.82f. Dissertação (Mestrado em Ciência Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Ciência dos Alimentos, Piracicaba, 2004.

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

JESUS JUNIOR, Celso de et al. A cadeia da carne de frango: tensões, desafios e oportunidades. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 26, p. 191-232, 2007.

KAMAL-ELDIN, A.; APPELQVIST, L. A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, v.31, n.7, p.671-701, 1996.

KUTTAPPAN, V. A. et al. Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. **Poultry Science**, v.91, n.10, p.2677-2685, Oct., 2012a.

\_\_\_\_\_. Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat with varying degrees of white striping. **Poultry Science**, v. 91, n.5, p.1240-1247, may. 2012b.

LUCIANO G, MONAHAN FJ, VASTA V. Lipid and colour stability of meat from lambs fed fresh herbage or concentrate. **Meat Science**, v.82, n.1, p.193-199, 2009.

LORENZI, M. S. et al. Incidence of white striping under commercial conditions in medium and heavy broiler chickens in Italy. **J Appl. Poult. Res.** v.23, p.754-758, 2014.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis*, L.) e de alho (*Allium sativum*, L.) como antioxidantes naturais. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.68 n.1, 2009.



MARTINS, J. M. S. et al. Melhoramento genético de frangos de corte. **PUBVET**, Londrina, v. 6, n. 18, 2012.

OECD-FAO. **Agricultural Outlook** 2015. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2015-en](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2015-en). Acesso em: 20 out. 2017.

PEREIRA, R. A. et al. Miopatia peitoral profunda em frangos de corte. **Veterinária em foco**, v. 3, n. 1, p. 11-15, 2005.

PETRACCI, M.; C, CAVANI. Muscle growth and poultry meat quality issues. **Nutrients**. v. 4, p. 1-12, 2012.

PETRACCI, M. et al. Comparison of breast muscle traits and meat quality characteristics in 2 commercial chicken hybrids. **Poult Sci**. v.92, n.9, p2438-48, 2013.

\_\_\_\_\_. Effect of white striping on chemical composition and nutritional value of chicken breast meat. Italian Journal of **Animal Science**, v.13, n.3138, p.179-183, 2014.

\_\_\_\_\_. Meat quality in fast-growing broiler chickens. **World's Poultry Science Journal**, v.71, n. 2, p. 363-374, 2015.

PINO, L. M. **Estabilidade oxidativa da carne de frangos alimentados com diferentes fontes lipídicas, armazenadas sob congelamento**. 2005.60f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Ciência dos Alimentos, Piracicaba, 2005.

POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in Food: Practical Applications**, ed. 1, Cambridge: CRC Press, 2001.

RUSSO, E. et al. Evaluation of White Striping prevalence and predisposing factors in broilers at slaughter. **Poult Sci**. v. 94, n.8, p.1843-1848, 2015.

SANTIAGO, H. L. Impact of Genetic Selection on Skeletal Muscle in Meat-Type Poultry. **Department of Animal and Poultry Sciences**, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, 2015.

SHAHIDI, F. et al. Effect of Sulfanilamide on the TBA Values of Cured Meats. **Journal of Food Science**, v.50, p.274-275, 1985.

SIHVO, H. K.; IMMONEN, K.; PUOLANNE, E. Myodegeneration With Fibrosis and Regeneration in the Pectoralis Major Muscle of Broilers. **Veterinary Pathology**, v. 51, n. 3, p. 619-23, 2014.

SOARES, A. L.; OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. et al. Synergism Between Dietary Vitamin E and Exogenous Phytic Acid in Prevention of Warmed-Over Flavour Development in Chicken Breast Meat (Pectoralis Major m.). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, p. 57-62, 2004.

SOARES, A. L. et al. Lipid oxidation and fatty acid profile related to broiler breast meat color abnormalities. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, n.6, p.1513-1518, 2009.

SOGLIA, F. et al. Histology, composition, and quality traits of chicken Pectoralis major muscle affected by wooden breast abnormality. **Poult Sci.**, v. 95, p. 651-659, 2015.

TARLADGIS, B. G.; PEARSON, A. M.; DUGAN Jr, L. R. Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods II. Formation of the TBA-malonaldehyde complex without acid-heat treatment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.5, p.602-604, 1964.

TIMS M. J., WATTS B. M. Protection of cooked meats with phosphates. **Food Technology**, v.12, n.1, p. 240-243, 1958.

TRINDADE, M. A. et al. Estabilidade oxidativa e microbiológica em carne de galinha mecanicamente separada e adicionada de antioxidantes durante período

de armazenamento a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.1, p.160-168, 2008.

ZAMBONELLI, P. et al. Detection of differentially expressed genes in broiler pectoralis major muscle affected by White Striping - Wooden Breast myopathies. **Poultry Science**, v.95, n.12, p.2771-2785, 2016.

ZANETTI, M. A. et al. Economic losses associated with Wooden Breast and White Striping in broilers. **Semina: Ciências Agrárias**, v.39, n. 2, p.887, 2018.

## **EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTE DE UVA POR DIFERENTES MÉTODOS E ARMAZENADO POR 30 DIAS**

*Jaquellyne Bittencourt Moraes Duarte da Silva  
Deise Aparecida da Silva Dijuli  
Caroline Maria Calliari  
Lyssa Setsuko Sakanaka  
Neusa Fátima Seibel*

### **1. INTRODUÇÃO**

O Brasil possui ampla diversidade agroindustrial, conseqüentemente, o volume de resíduos é proporcional, caso não seja utilizado para outros fins, culmina na poluição ambiental. Atualmente é crescente o número de estudos que relatam meios de aproveitamento de resíduos, melhorando sua produtividade e contribuindo com o meio ambiente por meio da despoluição. Dentre os subprodutos, destaca-se o bagaço oriundo das vinícolas, composto principalmente de sementes e cascas de uva (SILVA, 2003). Estes substratos podem ser utilizados por diferentes indústrias, como a alimentícia, cosmética, farmacêutica e de tintas (FREITAS, 2007).

O resíduo do bagaço é composto por cerca de 15 a 17% de sementes, de onde é possível extrair o óleo, sendo este responsável por 14 a 17% das sementes de uva (GOKTURK-BAYDAR; AKKURT, 2001). Na Europa, o uso deste óleo é notável há tempos, devido ao seu alto teor de ácidos graxos insaturados, a presença dos ácidos linoleico e oleico e vitamina E, e também por suas propriedades antioxidantes (FREITAS, 2007).

No que tange esse tema, estudos demonstraram que a utilização do óleo de semente de uva possui impactos benéficos ao organismo humano. Dentre eles, evitar a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol), redução dos níveis de colesterol e prevenindo doenças cardiovasculares e trombose (CAO; ITO, 2003).

Diante da composição de ácidos graxos poli-insaturados provenientes do óleo de semente de uva, a oxidação lipídica torna-se um fenômeno espontâneo e inevitável. Este processo pode torná-lo impróprio para o consumo, de modo que altere a qualidade nutricional, devido a degradações de vitaminas lipossolúveis e dos ácidos graxos essenciais (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

A extração por meio de solventes e o uso de altas temperaturas são as mais comumente utilizadas. Porém, dependendo do emprego de elevadas temperaturas, ocorre a possibilidade de degradações nesta etapa. A fim de evitar este processo indesejável, usufruir de métodos extrativos sem o uso de temperaturas, corrobora com a menor quebra das moléculas de ácidos graxos de alta massa molecular, evitando a formação de ácidos graxos livres (BOZAN; TEMELLI, 2002).

Diante dessas informações, o presente trabalho teve por objetivo realizar a extração do óleo de semente de uva utilizando dois métodos com a finalidade de verificar a influência do tratamento nas características físico-químicas do óleo obtido.

## **2. ÓLEO DE SEMENTE DE UVA PROVENIENTE DE RESÍDUO INDUSTRIAL**

A começar pelo cultivo da uva, inúmeros são os produtos oriundos a partir de seu processamento como, por exemplo, vinho, suco, vinagres, geleias e doces. Lado a lado a essa grande diversidade de produtos está a geração de resíduos em larga escala. No que diz respeito aos resíduos provenientes da indústria vinícola, estes dispõem de compostos de alto valor nutricional, que podem ser extraídos contribuindo para a sua sustentabilidade (FREITAS, 2007).

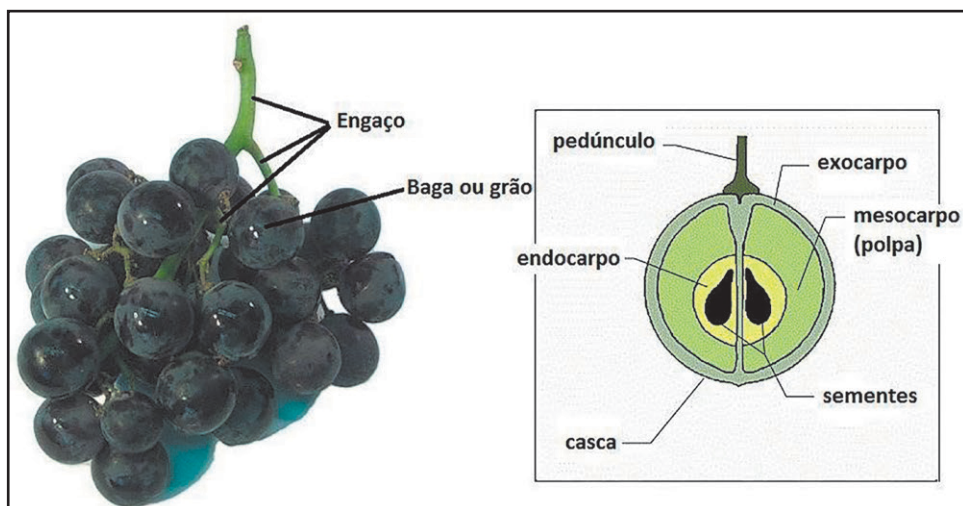
### **2.1 UVA**

No Brasil, a introdução da cultura da vinha se dá por Martin Afonso de Sousa, em 1532 em São Vicente, litoral paulista. Na região Sul, mais especificamente no estado do Rio Grande do Sul, documentos históricos relatam que as videiras surgiram juntamente com os primeiros imigrantes açorianos, em meados do século XVIII (CATALUÑA, 1984).

A videira, da família Vitaceae, é considerada uma planta trepadeira lenhosa, comavinhas de fixação, caracterizada por folhas grandes, verdes e palmadas, podendo atingir até sete metros de comprimento. Sua frutificação dá-se início no terceiro ano após o plantio, ocorrendo principalmente nos meses de novembro a março na região sul e o ano todo na região nordeste (SEBRAE, 2016).

Do ponto de vista aparente do cacho de uva, sua composição é compreendida em duas partes principais: engaço e baga (Figura 1). As bagas são compostas pela película, a qual armazena o aroma característico e composição química complexa, de acordo com cada variedade; sementes, que se encontram no centro da baga, composta por óleo, taninos, ácidos, matérias minerais e orgânicas. E por fim a polpa, que compreende aproximadamente, 85% da baga e é formada em sua maior parte pelo mosto (LAZARINI; FALCÃO, 1999).

Figura 1 – Anatomia da uva



Fonte: Rockenbach et al. (2012).

Mello (2017) relata sobre a relevância do plantio da uva na economia do Brasil. No ano de 2016, foram cultivados quase 80.000 *ha*<sup>1</sup>, de maneira que a região Sul do país é a principal e maior responsável pela produção. A região é favorecida pelo clima subtropical e o solo fértil. Dentre os estados, destaca-se o Rio Grande do Sul responsável, em média, por 64% da área vitícola.

<sup>1</sup> ha é a sigla referente a hectare, no qual corresponde a 10.000m<sup>2</sup>.

Dados estatísticos revelam que, anualmente, são produzidos cerca de 1,5 milhões de toneladas. Desse total, 50% destina-se ao processamento de vinhos, sucos e derivados, e os outros 50% são comercializados como uvas de mesa. As principais cultivares são americanas, especialmente *Vitis labrusca*, *Vitis bourquina* e híbridos não especificados (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2018).

Um dos fatores que contribui para o consumo de uva e derivados é a variedade de compostos bioativos presentes, que podem diferir por suas características, como a cor e o sabor, que estão associados com o perfil dos polifenóis (ABE et al., 2007). Cabrita, Silva e Laureano (2003) classificaram os polifenóis como compostos flavonoides (flavanas, flavonóis e antocioninas) e não flavonóis (ácidos não flavonóis e ésteres tartáricos). Esses podem ser encontrados por toda a extensibilidade do fruto, de forma desigual, dispersos pelas sementes, polpas, vasos fibrovasculares e película.

Cientificamente reconhecida, a uva apresenta benefícios específicos atuantes na redução lipídica e quelação de metais. Além disso, seus subprodutos contêm propriedades farmacológicas antialergênicas, antiarteriogênicas, anti-inflamatórias, antimicrobianas e efeitos cardioprotetores. E também contribui significativamente na redução da incidência de doenças crônicas e degenerativas (ROESLER et al., 2007).

## 2.2 VINHO

Historicamente, há relatos sobre a comercialização e consumo de vinho, de acordo com Cataluña (1984), na babilônia de Hamurabi há 2000 anos a.C. Nessa época, a bebida era apreciada por povos sírios, egípcios, persas e assírios. No Brasil, a Instrução Normativa n° 14, definida no artigo 3° da Lei n° 7.678 o vinho é definido como “bebida obtida por meio de fermentação alcóolica do mosto simples de uva sã, fresca e madura” (BRASIL, 2018).

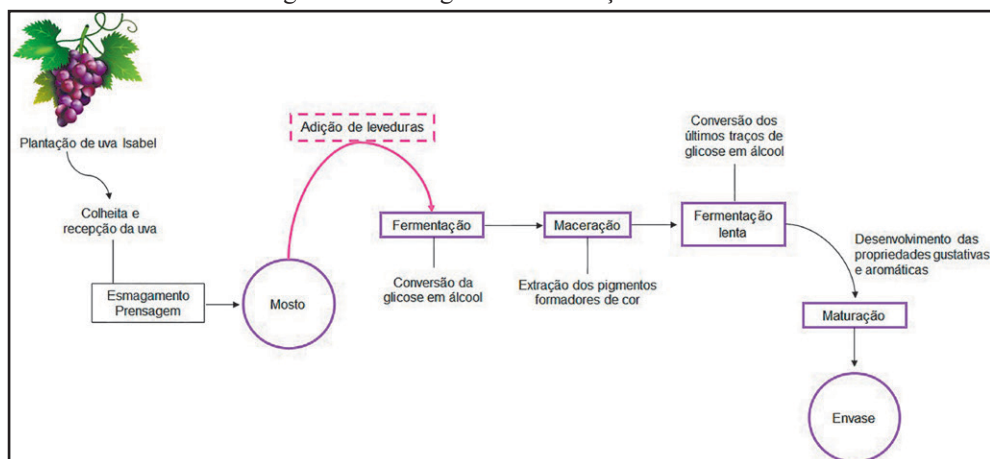
No país, documentos de 1813 reconhecem como o primeiro vitivicultor, a plantar a videira e produzir o vinho, Manoel de Macedo Brum da Silveira, na capitania de Rio Grande (CATALUÑA, 1984). No entanto, a verídica história, segundo Sousa (1969, apud CATALUÑA, 1984) reconhece que na missão jesuíta, pelos anos posteriores a 1626, o início da vitivinicultura na região gaúcha, foi introduzida pelas variedades *Vitis vinifera*, de origem espanhola, portuguesas, francesas e alemãs, respectivamente, e somente na metade do século XIX, a

variedade *Vitis labrusca* (uva Isabel), americana se estabeleceu no estado, tendo predominância até os dias atuais.

No processo de obtenção do vinho (Figura 2), as uvas são esmagadas e prensadas, originando o mosto. A fermentação do mosto é fundamental, uma vez que este é responsável pela conversão dos açúcares em álcool, com o auxílio da ação das leveduras. A fermentação conduzida pela parte líquida e a sólida (cascas e sementes) ocorre em tonéis, de madeira ou aço inox, sob agitação, nomeada de maceração. Essa etapa dura de 2 a 5 dias (CAMPOS, 2005).

Na etapa seguinte, expõe-se as cascas ao processo de maceração do álcool, para se extrair os pigmentos formadores de cor, antocianinas (extraída rapidamente, de cor atijolada) e os taninos (demoram mais a incorporar-se ao vinho, oferecendo longevidade da cor, estrutura e corpo à bebida). Posteriormente, ocorre o processo de fermentação lenta, o qual ocorre a partir da separação da fase líquida dos sólidos, para que os últimos traços de glicose sejam transformados em álcool. A próxima etapa de fabricação do vinho, tem duração de 5 meses a 5 anos e é denominada processo de maturação ou envelhecimento. Nessa fase, as propriedades gustativas e aromáticas se desenvolvem, caracterizando o tipo do vinho, podendo ser engarrafado (CAMPOS, 2005).

Figura 2 – Fluxograma de obtenção do vinho



Fonte: Autoria própria (2019).

De acordo com Campos (2005), o vinho tinto como produto derivado da uva, contém vários tipos de polifenóis. Dentre eles, destacam-se o resveratrol e as antocianinas, os quais estão associados ao poder antioxidante. Na fabricação



do vinho, durante o processamento da matéria-prima nem todos os compostos fenólicos são extraídos, ou seja, alguns ficam retidos nos resíduos ou na parte sólida e, normalmente, são descartados pela indústria.

Pesquisadores da Embrapa estimaram que, anualmente, são geradas, cerca de 210 mil toneladas de resíduos provenientes da produção de vinho. Essa grande quantidade de resíduos torna-se um grande problema para indústria, representando um rejeito de pouca exploração (VERDÉLIO, 2014).

## 2.3 RESÍDUO DA PRODUÇÃO DE VINHO

No contexto de produção e comercialização de produtos há uma ampla geração de resíduos. Dentre as indústrias, a de alimentos é uma grande precursora de resíduos de alto valor agregado, sendo viável que esses sejam encarados como insumos, como diversos estudos têm demonstrado. Nesse contexto, reduz a contaminação ambiental, de modo a possibilitar sua inserção em novas cadeias produtivas (DAMASCENO; ANDRADE; STAMFORD, 2009; FRENCH; LA-FORGE, 2006).

Do ponto de vista financeiro, de acordo com Silva (2003), é de suma importância o aproveitamento de resíduos agrícolas com o objetivo de aumentar a produtividade e por consequência a lucratividade. Para além do ponto de vista econômico, ressalta-se a questão sustentável. Portanto, no processo industrial da uva e seus derivados, se obtém resíduos sólidos ou líquidos, no quais possuem seus valores agregados.

Para a produção de 100 L de vinho tinto, 25 kg deste volume é de resíduo, deste, 17 kg é constituído de bagaço. Considera-se uma subdivisão do resíduo em sementes, cascas, além dos engaços (FREITAS, 2007; ROCKENBACH, 2008). Rockenbach (2008) relatou uma vasta fonte de propriedades de alto valor nutricional do bagaço de uva, como os tartaratos, malatos, ácido cítrico, óleo de semente de uva, hidrocoloides, fibras alimentares e o alto teor de compostos fenólicos.

No que diz respeito ao bagaço, comumente, é destinado à ração animal ou originam adubos após o processo de compostagem. Porém, vale ressaltar que a lenta biodegradabilidade das sementes da uva não proporciona uma conversão total em matéria orgânica e faz com que o uso para adubação do solo não seja indicado (FREITAS, 2007).

Da casca do bagaço podem ser extraídos resveratrol e as antocioninas, com intuito de produzir corantes e das sementes, os óleos, com quantidades

significativas de ácidos graxos essenciais (FREITAS, 2007). Compreende-se por meio disto a importância econômica da utilização destes subprodutos, segundo a BIOVEA (2019) varejista de suplementos e vitaminas, esses produtos têm valor agregado no mercado comercial (Tabela 1).

Tabela 1 – Produtos elaborados a partir do bagaço de uva

<b>PRODUTO</b>	<b>PREÇO</b>
Resveratrol 260 mg (60 cápsulas)	R\$ 103,00
Extrato de semente de uva 100 mg (120 cápsulas)	R\$ 106,00
Óleo de semente de uva 100 mg (120 cápsulas)	R\$ 95,00

Fonte: Biovea, 2019.

## 2.4 ÓLEO DE SEMENTE DE UVA

O bagaço da uva compreende, em média, 58% de cascas, 20% de engaços e 22% de sementes (DANTAS et al., 2008). As sementes por sua vez, são constituídas, de acordo com Rockenbach et al. (2012) por, aproximadamente, 40% de fibras, 8 a 11% de proteínas, 7% de compostos fenólicos (taninos), de 12 a 20% de óleo, de acordo com a sua variedade, açúcares, sais minerais e outras substâncias.

Desde 1930, países como a Alemanha, França e Itália fabricam e usufruem o óleo da semente de uva (FREITAS, 2007). A aplicabilidade deste óleo ocorre devido ao conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados essenciais. Sabe-se que esses ácidos não são sintetizados pelo organismo humano, entretanto é um valioso lipídio dietético, por agir na prevenção de trombose, doenças cardiovasculares, redução do colesterol e regulação do sistema nervoso. Estudos demonstraram que o ácido linoleico conjugado, a partir do óleo de semente de uva, pode ser também um meio efetivo de diminuir o risco de câncer de mama e de pele, pela sua ação na atividade linfocitária (CAO; ITO, 2003).

Um estudo comparativo por Menezes et al. (2014) conclui que os óleos das sementes de variedades de uvas Bordô e Cabernet possuem perfis de ácidos graxos similares, e em frações menores, os autores quantificaram os ácidos graxos oleico, palmítico, esteárico, mirístico, entre outros. Já em outro estudo, Kamel, Dawson e Kakuda (1985) reportaram que encontraram 72,2% de ácido linoleico ( $\omega$ -6), 15,6% de ácido oleico ( $\omega$ -9) e 0,24% de ácido linolênico ( $\omega$ -3), no

óleo da semente de uvas *Vitis vinifera* extraído pelo método de Soxhlet. No que tange, exclusivamente, ao ácido linoleico extraído do óleo de semente de uva, Rothenbach et al. (2010) e Cao e Ito (2003), observaram quantidades similares às encontradas em óleos de girassol, soja, milho e algodão.

Este lipídio ainda atua como imunoprotetora, anticoagulante e antitrombótica, por conter em sua composição tocoferóis e tocotrienóis (ABIDI, 2000). Em virtude do potencial de inibição de radicais livres, a forma  $\alpha$ -tocoferol é considerada a mais significativa, uma vez que impossibilita a transformação dos ácidos graxos insaturados em aldeídos (RODRIGO et al., 2002).

Segundo os autores Oliveira, Echevengú e Messias (2003), para a indústria alimentícia o óleo de semente de uva é promissor por sua composição agregar valor nutricional e possuir odor característico e agradável. Ainda de acordo com os autores, pode ser substituto de qualquer óleo vegetal, inclusive o azeite de oliva. Em relação à digestibilidade do óleo de semente de uva é maior que o de soja sendo, respectivamente, 97,2% e 95%. Sobre sua composição química torna-se relevante para dietas que objetivam diminuir os níveis de colesterol no sangue, devido, principalmente, à presença de ácidos graxos insaturados e os fitoesteróis.

Os fitoesteróis são moléculas químicas definidas como álcoois triterpênicos, alifáticos de alta massa molecular, presentes na fração insaponificável dos óleos vegetais. Estas substâncias são extremamente sensíveis, capazes de se oxidarem facilmente quando expostos ao ar, calor, luz, radiações e processos catalíticos. Ou seja, durante o processo industrial de extração do óleo de semente de uva, pelo refinamento, esse composto pode vir a se decompor, perdendo suas propriedades (CERT et al., 1994).

A relevância deste óleo é além da alimentícia. Pode ser empregado, por exemplo, na indústria de cosméticos, na fabricação de sabonetes finos, xampus, óleos corporais e bronzeadores. Entre as vantagens de seu uso, Ecycle (2019) cita a substituição do óleo de amêndoas, auxiliando no tratamento para estrias, principalmente em gestantes, devido à presença de vitamina E e compostos fenólicos.

## 2.5 EXTRAÇÃO DE ÓLEO PELOS MÉTODOS DE SOXHLET E BANHO ULTRASSÔNICO

A extração de óleo de sementes pelo método em Soxhlet pode ser realizada por meio dos mais variados solventes. Este método pode ser vantajoso e eficiente

quando comparados a outros, principalmente se as amostras apresentarem pequenos teores de óleo (MORETTO; FETT, 1998).

Para o uso desse método no processo de extração de óleos vegetais, as sementes devem ser previamente moídas, e são utilizados solventes apolares, sendo o principal o hexano, devido ao seu ponto de ebulição máximo de 70 °C. O aumento da temperatura para além desta temperatura pode iniciar a formação de ácidos graxos livres, pela quebra dos ácidos graxos e o glicerol no óleo (MORETTO; FETT, 1998).

Apesar do uso de métodos tradicionais para extração de óleos, o banho ultrassônico vem sendo uma alternativa tão eficiente quanto à extração por solvente. A extração por ondas ultrassônicas pode extrair os mais variados compostos, inclusive os de baixa massa molecular, com grande eficiência e rendimento (MACÍAS-SÁNCHEZ; MANTELL; RODRIGUEZ, 2009). Esse fato ocorre devido às mudanças físico-químicas, no qual se gera pressão no solvente, fazendo com que ocorram cavitações e microfluxos no líquido, aquecimento e ruptura nos sólidos e instabilidade na superfície de contato das amostras moídas (BARBOZA; SERRA, 1992).

Breitbart, Barthen e Schmidt-Traub (2003) realizaram um estudo sobre a influência no processo de adsorção e dessorção na cavitação durante o processo de extração por banho ultrassônico. Os autores observaram que, fatores como a intensidade e a frequência das ondas produzidas, provocavam diferentes tamanhos de bolhas, ocorrendo maior ou menor erosão na superfície de contato, de forma que a transferência de massa seja menos ou mais eficiente.

A extração por banho ultrassônico desperta interesse por seus pontos positivos como tempo e temperatura menores que as convencionais, rendimento, simplicidade de equipamento, uso de diferentes solventes e também boa reprodutibilidade. Porém, vale ressaltar que os parâmetros devem ser otimizados, de acordo com a intensidade da cavitação, tempo e temperatura (BARBOZA; SERRA, 1992).

Em um comparativo de rendimento dos dois métodos, relacionando especificamente a extração do óleo de semente de uva, os dados obtidos por Oliveira, Echevengua e Messias (2003) e Bruni et al. (2014) são bastante similares. Enquanto no método Soxhlet é, em média, de 10 a 20%, no banho ultrassônico esse valor gira em torno de 15%.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de uvas da cultivar Isabel (*Vitis labrusca*) são provenientes da produção de vinho tinto seco artesanal e foram doadas, na forma de bagaço, pelo senhor Luís Brocco, proprietário do sítio Nossa Senhora das Graças, situado no norte do Paraná, na cidade de Santa Cecília do Pavão. A matéria-prima do estudo foi de, aproximadamente, 35 kg de bagaço oriunda da produção do início do ano de 2018 (Figura 3).

O bagaço apresentava como característica odor forte e textura encorpada, devido ao processo fermentativo do vinho. Assim sendo, houve a necessidade de se fazer uma lavagem para a separação da parte de interesse, sendo essa as sementes, além de retirar as cascas e também os engaços.

Figura 3 – Produto residual do vinho tinto

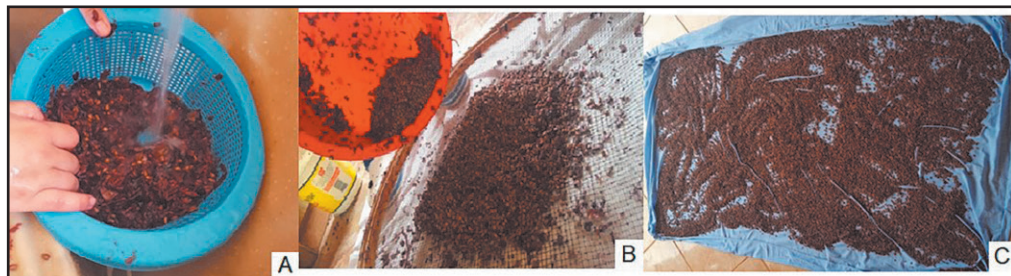


Fonte: autoria própria (2018).

A primeira lavagem ocorreu com o auxílio de uma peneira e água corrente (Figura 4A) de forma que a textura densa era dissolvida e, manualmente, uma a uma as grainhas foram sendo separadas. Na etapa seguinte, foi retirada manualmente a água superficial. O resíduo restante foi transferido para uma peneira (Figura 4), fazendo a separação entre as cascas e as sementes. Após o peneiramento, com separação das sementes, restando poucas cascas, então, realizou-se

a pré-secagem das mesmas em terreiro, como demonstra a Figura 4C, para a retirada de umidade superficial.

Figura 4 – Preparação das sementes



A= lavagem das amostras. B= separação das cascas e sementes. C= secagem.

Fonte: autoria própria (2018).

Na sequência da pré-secagem, as sementes foram manualmente separadas das cascas (Figura 5) e armazenadas a  $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$  para manutenção de suas características físicas e químicas, até o momento das análises.

Figura 5 – Separação manual de sementes e cascas



Fonte: autoria própria (2018).

O procedimento da secagem, em uma parcela das amostras, teve como referência o método estabelecido por Freitas (2007) com ligeiras modificações. As sementes foram secas por 4 horas a 70 °C, em estufa com circulação de ar e revolvimento das mesmas a cada uma hora.

### 3.1 MÉTODOS

As sementes úmidas e secas foram analisadas quanto à umidade e quantificação lipídica. O óleo das sementes de uva secas foi extraído pelo método de Soxhlet e em banho ultrassônico, e avaliado quanto ao Índice de peróxido (IP), Índice de acidez (IA), Índice de iodo (II), Índice de saponificação (IS) e cor. Essas determinações foram realizadas em amostras de óleo após a extração e também após 30 dias de exposição à luz e oxigênio.

#### Determinação de umidade das sementes de uva úmidas e secas

Para a quantificação do teor de umidade, foi realizado de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (1985) em que as cápsulas de porcelana foram desidratadas por 3 horas a 105 °C, esfriadas em dessecador e pesadas, e então pesados de 3 a 5 g de amostra e secas em estufa por 5 horas a 105 °C. Estas resfriaram-se em dessecador e foram pesadas.

#### Extração do óleo de semente de uva pelo método Soxhlet

As extrações em Soxhlet foram realizadas com o solvente hexano. Primeiramente, as sementes foram moídas, e pesadas aproximadamente 13 g para serem adicionadas nos cartuchos. Em cada uma das vidrarias, foram adicionados 4 cartuchos, obtendo-se no total 55 g de amostras, adicionando nos balões aproximadamente 300 mL de solvente. A temperatura utilizada foi 70 °C, ou seja, o ponto de ebulição do hexano. O período de duração da extração do óleo foi de 6 horas com, aproximadamente, 6 a 10 ciclos por hora do solvente. Após as 6 horas, o extrato passou por rotaevaporador com temperatura máxima de 60 °C, fazendo a separação do hexano e do óleo, o qual foi centrifugado a 3900 rpm, com intuito de separar qualquer grânulo das sementes que ainda restava na amostra.

## Extração do óleo de semente de uva pelo método de banho ultrassônico

Orientado pelo estudo realizado por Bruni et al. (2014), após a otimização de todo o processo de tempo, a extração pelo método do banho ultrassônico sofreu pequenas adaptações. Utilizou-se 45 minutos de acordo com os resultados dos testes realizados. As sementes foram moídas, pesadas 25 g em balão com fundo chato, e posteriormente adicionados 250 mL de solvente (hexano), para uma proporção amostra: solvente de 1:10. As sementes e o solvente extrator ficaram em íntimo contato para extração do óleo por 45 minutos. A água do banho ultrassônico, com o decorrer do seu uso, elevava levemente sua temperatura, porém, esta não ultrapassou de 35 °C. Na Figura 6 pode-se observar o equipamento montado para extração.

Após o processo extrativo do óleo, a fase líquida e as sementes eram separadas por meio de filtração, com papel filtro em funil de Buchner e pressão negativa. Obtendo-se, somente a fase líquida, esta foi submetida ao processo de separação de hexano e óleo em rotaevaporador com temperatura máxima de 60 °C, o óleo foi centrifugado a 3900 rpm, com intuito de separar qualquer grânulo das sementes que ainda restava na amostra.

Figura 6 – Extração de óleo em banho ultrassônico



Fonte: autoria própria (2019).



## Índice de peróxido (IP)

Realizada de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2008), a amostra (óleo de semente de uva) foi dissolvida por completa em ácido acético-clorofórmio sob agitação. Posteriormente, foi adicionada à solução saturada de iodeto de potássio, deixando a solução ao abrigo da luz por um minuto. Então acrescentou-se água, solução indicadora de amido, dando início à titulação, utilizando tiosulfato de sódio como titulante, agitando-a, fazendo com que a coloração amarelada desapareça, até viragem para a coloração azul.

## Índice de acidez (IA)

O procedimento ocorreu por meio da dissolução do óleo da semente de uva em éter etílico, álcool e indicador fenolftaleína. Imediatamente essa solução foi titulada sob agitação com hidróxido de sódio até o ponto de viragem da solução na coloração rósea (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

## Índice de iodo (II)

A determinação do II foi constituída da adição à amostra de óleo, ciclohexano e solução de Wijs, sob agitação até a completa homogeneização. Em seguida, a solução ficou ao abrigo da luz por 30 minutos. Prontamente, adicionou-se iodeto de potássio, água e solução indicadora de amido, prosseguindo com titulação com tiosulfato de sódio, sob agitação até a coloração se tornar incolor (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

## Índice de saponificação (IS)

A metodologia foi realizada de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2008), onde consistiu na adição de hidróxido de potássio e etanol 95% em amostra (óleo), deixando a mistura sob refluxo em rotaevaporador por uma hora. Posteriormente com a solução ainda quente, adicionou-se à mistura indicador fenolftaleína e então foi titulado com ácido clorídrico.

## Cor do óleo das sementes de uva

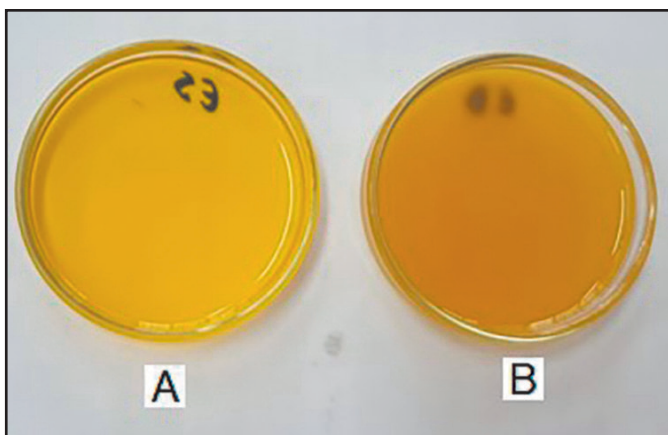
Para a determinação de cor nas amostras de óleo de semente de uva, foi utilizado o sistema CIELab. Primeiramente o colorímetro Konica Minolta

(modelo 440) foi calibrado com fundo branco, e posteriormente, realizada a leitura direta de cada uma das amostras depositada em placas de Petri, com um fundo branco.

### 3.2 ARMAZENAMENTO DO ÓLEO SOB LUZ E OXIGÊNIO

Após a extração do óleo em ambos os métodos (Soxhlet e banho ultrassônico), sem adição de conservantes, parte do conteúdo foi depositado em placa de Petri (Figura 7), a qual foi tampada para armazenar o óleo sob exposição à luz e oxigênio pelo período de 30 dias, para que então fossem submetidos às mesmas análises descritas.

Figura 7 – Óleos de semente de uva submetidos ao armazenamento



A= óleo extraído por Soxhlet. B= óleo extraído em banho ultrassônico

Fonte: autoria própria (2019).

### 3.3 TRATAMENTO DOS DADOS

Todas as análises foram realizadas em duplicata e avaliadas por análise de variância (ANOVA) e o teste t-Student para identificar as diferenças significativas entre as médias por meio do *software* Statistica 10.0. O nível de significância considerado para a diferença entre as médias foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final das quatro etapas de preparação da amostra (primeira lavagem, retirada manual da água, peneiramento e pré-secagem) foram obtidos, no total, 4,163 kg de sementes de uva, proveniente da produção de vinho tinto seco artesanal, correspondente a 12% do total do bagaço.

As análises de umidade foram realizadas nas sementes úmidas e após o processo de secagem, obtendo-se respectivamente um teor de 31,2% e 6,7%. Segundo Crexi et al. (2013), as sementes de uva possuem um alto teor de umidade, aproximadamente 42%, e por consequência suas características químicas se tornam altamente mutáveis. Portanto, a secagem das amostras é imprescindível para o aumento de sua vida útil e como método de facilitação no momento de extrair o óleo nela contida (GARCIA-PEREZ et al., 2010).

Os resultados dos testes realizados para a averiguação de melhor extração de óleo nas sementes úmidas e secas, nos métodos extrativos em Soxhlet e banho ultrassônico, estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Extração de óleo nas sementes de uva por dois métodos

<b>AMOSTRAS</b>	<b>SOXHLET (%)</b>	<b>BANHO ULTRASSÔNICO (%)</b>
Sementes Úmidas	6,91 ± 0,42 <sup>aB</sup>	5,91 ± 0,03 <sup>aB</sup>
Sementes Secas	12,02 ± 0,28 <sup>aA</sup>	9,90 ± 0,76 <sup>bA</sup>

Valores médios ± desvio padrão (n=2). Letras minúsculas iguais na mesma linha e maiúsculas nas colunas não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ).

Fonte: autoria própria (2019).

A extração nas sementes úmidas, nos métodos Soxhlet e banho ultrassônico, não diferiram estatisticamente; já para as sementes secas sim, onde o método tradicional, com extrator Soxhlet retirou maior quantidade de óleo das sementes. Observando os resultados para os métodos extrativos, a extração em Soxhlet, diferiu estatisticamente, sendo a extração com sementes secas mais relevantes, ocorrendo da mesma forma com a extração em banho ultrassônico. Ambos os métodos extrativos no teste, revelaram que a melhor prática para extração, havendo maior rendimento de óleo extraído são com sementes secas.

Freitas (2007) reporta em seu trabalho, para a mesma variedade de uva do estudo aqui proposto, um teor de 7,4% de óleo em sementes secas, extraído por solvente hexano em Soxhlet por 20 horas. Comparativamente, para o

mesmo equipamento, obteve-se um teor de extração maior, em torno de 12%, estando este valor satisfatório, considerado de bom rendimento e comparável ao dos óleos comerciais, os quais reportam teores de 10 a 20% de rendimento na extração.

O mesmo estudo de Freitas (2007) analisou amostras de sementes de uva da variedade Isabel com extração de óleo em banho ultrassônico, obtendo-se uma porcentagem de óleo extraído de 10%, utilizando a proporção semente:solvente de 1:100 por 30 e 120 minutos em equipamento. Neste estudo o teor foi de 9,90%, porém com proporção entre semente:solvente de 1:10 no tempo de 45 minutos, indicando que a proporção entre a amostra e extrator, e os três tempos analisados, não se tornaram relevantes, extraíndo uma quantidade de óleo, em ambos os estudos, muito próximos.

Quando relacionada à porcentagem extraída entre os equipamentos Soxhlet e banho ultrassônico, a quantidade de óleo diferiu entre as amostras, com teor de 12,02% e 9,90%, respectivamente. Bruni et al. (2014) realizando a mesma comparação, obtiveram resultados mais elevados nos dois métodos, com teores de 15,50% para extração em Soxhlet e 15,15% em banho ultrassônico. É relatado em literatura que, a eficiência na extração por meio de ondas ultrassônicas é dependente da potência do equipamento, na geração de cavitação e ruptura na superfície da amostra e solvente (BREITBACH; BARTHEN; SCHMIDT-TRAUB, 2003). Há também fatores relevantes e desconhecidos no plantio e uso das sementes na preparação do vinho, nos quais podem vir a influenciar no momento da extração do óleo.

O Índice de peróxido mede o estado de oxidação de óleos e gorduras, sendo os peróxidos os primeiros compostos formados no processo de deterioração, e este está intimamente ligado aos ácidos graxos insaturados, onde reagem com o oxigênio (MORETTO; FETT, 1998). Os resultados da análise de índice de peróxido (IP) realizada no dia 1 e 30 após a extração estão descritas na Tabela 3.

**Tabela 3 – Índice de peróxido (meq/1000 g amostra) do óleo de semente de uva**

<b>Dia</b>	<b>OES</b>	<b>OEB</b>
1	90,33 ± 0,96 <sup>aB</sup>	18,48 ± 1,26 <sup>bB</sup>
30	138,02 ± 5,29 <sup>aA</sup>	92,84 ± 1,82 <sup>bA</sup>

Valores médios ± desvio padrão (n=2). OES = Óleo extraído em Soxhlet. OEB = Óleo extraído em banho ultrassônico. Letras minúsculas iguais na mesma linha e maiúsculas nas colunas não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ).

Fonte: autoria própria (2019).

Os dados abordados revelam que os métodos extrativos diferiram estatisticamente em ambos os dias (1 e 30). Percebe-se que há grande diferença entre os resultados da análise de IP, resultando em alto teor de peróxidos em extração por Soxhlet. Araújo (1995) afirma que, além da temperatura, o tempo longo de extração e o contato com o solvente, podem ser propícios para causar alterações na composição do óleo. Isso ocorre devido à presença dos ácidos graxos, que se decompõem em virtude da temperatura e também pela reação entre óleo e solvente. Esse processo de deterioração, de acordo com Cecchi (2003), tem influência determinante na diminuição e destruição de vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais.

Em relação ao tempo de armazenamento os IP demonstraram diferença estatística entre os tempos inicial e final. Ambos os óleos extraídos por banho e com o Soxhlet, tiveram alterações significativas; este fenômeno pode ser explicado pelo fato de ocorrer à exposição do óleo à oxigênio e luz, de forma que o processo autocatalítico, da oxidação, se desenvolveu em aceleração crescente, uma vez que esta já estava instalada. Esse processo pode ter influência da matéria-prima e suas reações enzimáticas, por esta ser proveniente de processos fermentativos na produção do vinho (BRUNI et al. 2014).

A legislação internacional *Codex Alimentarius International Foods Standards* (1999) permite um valor para óleo de semente de uva refinado de 10 meq/1000 g de amostra. Portanto, a elevada formação de peróxidos, para o óleo submetido à extração pelo método Soxhlet, se justifica pelo fato das condições de processamento, luz, oxigênio, tempo prolongado e temperatura, influenciarem na formação de mais peróxidos em comparação com o método de banho ultrassônico.

Em um estudo sobre deterioração de óleos vegetais expostos, Thode Filho et al. (2014) relataram, que o índice de peróxido está extremamente ligado às altas concentrações de ácidos graxos insaturados, uma vez que estes são mais instáveis, devidos às suas duplas ligações, onde o torna sensível em relação à sua estabilidade físico-química.

O índice de acidez é um parâmetro utilizado como referência na detecção analítica do estado de conservação dos óleos e gorduras (MORRETO; FETT, 1998). A decomposição destes, seja por oxidação, fermentação ou hidrólise, interfere na concentração dos íons hidrogênio. Com auxílio da lipase, a decomposição dos lipídeos pode ser acelerada, com o tempo pelo processo de exposição à luz e calor, formando ácidos graxos livres que causam a rancidez (CECCHI, 2003).

A legislação internacional *Codex Alimentarius* (1999) declara que para uma boa conservação de óleo de semente de uva, os refinados devem estar com um valor de 0,6 mg KOH/g. Já a legislação brasileira BRASIL (2005) permite no máximo 0,3 mg KOH/g. Os resultados para comparação dos Índices de Acidez (IA) estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Índice de Acidez do óleo de semente de uva

<b>Dias</b>	<b>OES (mg KOH/g)</b>	<b>OEB (mg KOH/g)</b>	<b>OES (% ác. Oleico)</b>	<b>OEB (% ác. Oleico)</b>
1	0,25 ± 0,01 <sup>aA</sup>	0,14 ± 0,01 <sup>aA</sup>	0,13 ± 0,01 <sup>aA</sup>	0,07 ± 0,01 <sup>aA</sup>
30	0,25 ± 0,04 <sup>aA</sup>	0,15 ± 0,01 <sup>aA</sup>	0,13 ± 0,01 <sup>aA</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>aA</sup>

Valores médios ± desvio padrão (n=2). OES = Óleo extraído em Soxhlet. OEB = Óleo extraído em banho ultrassônico. Letras minúsculas iguais na mesma linha e maiúsculas nas colunas não diferiram entre si ( $p>0,05$ ).

Fonte: autoria própria (2019).

Os índices de acidez das amostras nos dias analisados e em ambos os métodos não diferiram significativamente, e estão dentro dos padrões internacionais e nacionais. Os dois métodos de extração de óleo conferem um óleo em bom estado de conservação, com pouca presença de ácidos graxos livres, mesmo não sendo um óleo submetido ao processo de refino.

Bruni et al. (2014) reportaram em seu trabalho, extraíndo óleo em banho ultrassônico, índice de acidez fora dos limites máximos permitidos pela legislação, 0,85 g de ác. Oleico/100 g, correlacionando o motivo com as condições desconhecidas na coleta da amostra e também, à fermentação do processo vitivinícola.

A análise do índice de iodo está relacionada ao grau de insaturação do óleo, ou seja, quanto maior o número de insaturações presente na amostra, maior é a absorção do iodo (Instituto Adolfo Lutz, 1985). Quanto maior for esse índice, mais susceptível à rancidez oxidativa se torna o óleo (CECCHI, 2003).

A legislação internacional *Codex Alimentarius* (1999) estabelece, para o óleo de semente de uva valores de 128-150 I<sub>2</sub>/100 g. Esse índice na legislação brasileira (BRASIL,2005) estabelece limites de 130-138 I<sub>2</sub>/100 g. A Tabela 5 demonstra os resultados pertinentes a este estudo.

Tabela 5 - Índice de Iodo (I2/100g) do óleo de semente de uva

Dias	OES	OEB
1	124,36 ± 3,23 <sup>bB</sup>	140,19 ± 0,16 <sup>aB</sup>
30	173,54 ± 0,48 <sup>aA</sup>	172,50 ± 5,41 <sup>aA</sup>

Valores médios ± desvio padrão (n=2). OES = Óleo extraído em Soxhlet. OEB = Óleo extraído em banho ultrassônico. Letras minúsculas iguais na mesma linha e maiúsculas nas colunas não diferiram entre si ( $p>0,05$ ).

Fonte: autoria própria (2019).

Na análise de II, encontra-se um resultado, em ambos os processos extrativos de óleo dentro dos parâmetros da legislação vigente no dia 1. Com relação aos métodos o resultado diferiu significativamente, sendo que a extração por banho obteve maior número de moléculas com grau de insaturação. Este fator pode ser explicado pela quantidade de ácido linoleico (18:2 n-6), no qual é o predominante no óleo de semente de uva (MENEZES et al., 2014).

Freitas (2007) descreve em seu estudo, com uvas Isabel e Herbemont um percentual de 68,7% de ácido linoleico presente no óleo de semente de uva, extraído por meio do equipamento Soxhlet. Já os autores Bruni et al. (2014) reportaram um valor de 70,13% para a variedade de uva *Cabernet sauvignon*, extraído em banho ultrassônico.

Com o passar do tempo no armazenamento das amostras de óleo, ao analisar o II, verificou-se que os óleos extraídos em ambos os equipamentos, Soxhlet e banho ultrassônico, tiveram diferença significativa. Porém, verifica-se o aumento do índice, não sendo um resultado característico, pois com o tempo de armazenamento, com exposição à luz e oxigênio, o óleo, devido às duplas ligações das moléculas, fica susceptível à oxidação, ocorrendo a diminuição da absorção do iodo, quando realizada a análise, diminuindo o resultado final do II. Para tal resultado, não houve correlações bibliográficas, havendo necessidade de repetição de análise para verificação da veracidade dos resultados, contudo, pela falta de amostra foi inviável a realização da mesma.

A determinação do índice de saponificação tem por objetivo indicar a quantidade relativa de ácidos graxos de alta e baixa massa molecular, sendo a quantidade de hidróxido de potássio necessária para neutralizar os ácidos graxos, como resultado da hidrólise de um grama de amostra (CECCHI, 2003).

Sabendo que a legislação internacional, *Codex Alimentarius* (1999), permite o limite de 188-194 mg KOH/g, os resultados estatísticos das extrações por

métodos diferentes no dia 1 (Tabela 6) estão dentro da faixa de limite estabelecido pela legislação, porém diferem significativamente seu resultado, onde o banho ultrassônico, possui pequena quebra de seus ácidos graxos. É possível observar que no dia 30, ambas as amostras não diferiram significativamente, porém, o valor do IS demonstra, os óleos extraídos por ambos os métodos, já estão no início da degradação dos ácidos graxos de alta massa molecular.

Tabela 6 - Índice de Saponificação (mg KOH/g) do óleo de semente de uva

<b>DIAS</b>	<b>OES</b>	<b>OEB</b>
1	171,14 ± 0,58 <sup>bB</sup>	195,03 ± 2,33 <sup>aB</sup>
30	220,11 ± 1,61 <sup>aA</sup>	223,42 ± 6,65 <sup>aA</sup>

Va = Valores médios ± desvio padrão (n=2). OES = Óleo extraído em Soxhlet. OEB = Óleo extraído em banho ultrassônico. Letras minúsculas iguais na mesma linha e maiúsculas nas colunas não diferiram entre si ( $p>0,05$ ).

Fonte: autoria própria (2019).

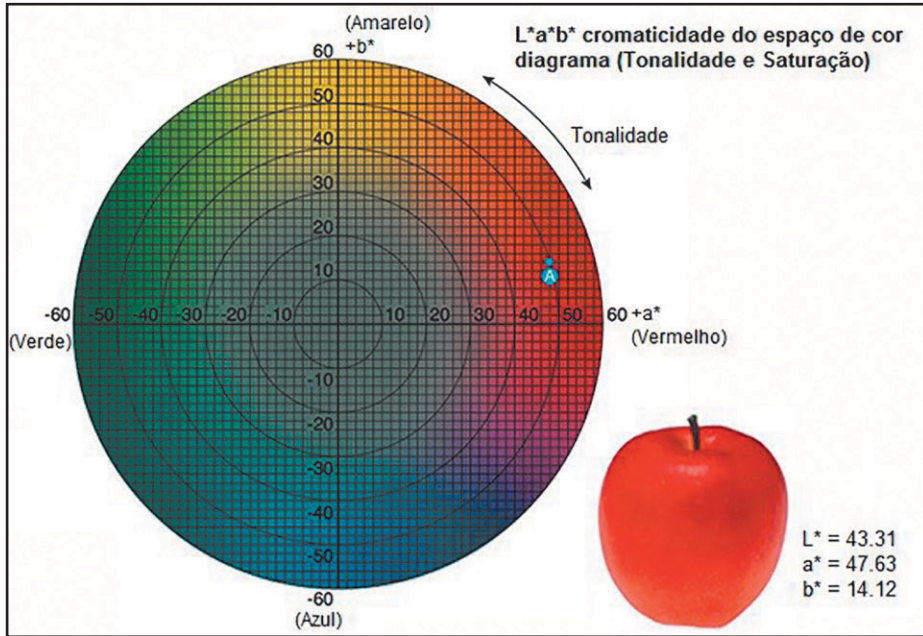
Menezes et al. (2014) reportaram em seu trabalho, que para óleo de sementes uvas da variedade Cabernet e Bordô extraídos por Soxhlet, um índice de saponificação muito semelhante ao do estudo aqui proposto, com 190,60 e 188,81 mg KOH/g respectivamente.

Esse início de degradação dos compostos de alta massa molecular, se deve ao fato das amostras permanecerem por 30 dias à exposição de luz, oxigênio e temperatura média de 25 °C, exatamente com este propósito, para verificar a possível oxidação de compostos.

A determinação de cor em alimentos pode ser realizada por meio de um colorímetro, obtendo o resultado de coloração mediante a transmitância ou reflexão de luz. No método CIELab (Figura 8) as cores são descritas por luminosidade ( $L^*$ ) com valor máximo de 100, representando a perfeita reflexão, enquanto o valor mínimo de zero é constituído pela cor preta. Há também variação nas tonalidades sendo a coordenada  $a^*$  (conteúdo de cor do vermelho ao verde) e a coordenada  $b^*$  (conteúdo de cor do amarelo ao azul) (SHINAGAWA, 2015).



Figura 8 – Sistema CIELab de cor



Fonte: Konica Minolta (2019).

O método Lovibond analisa cores de amostras sólidas, líquidas ou pastosas por meio da luz transmitida ou refletida. Este método considera valores em uma escala de coloração própria do equipamento, assim as amostras podem ser expressas pelos resultados de acordo com a Tabela 7. As medidas são reportadas em termos da escala de cores primárias Lovibond, referente às cores vermelho, amarelo e azul e, por isso, não podem ser transpostas para coordenadas cromáticas dos sistemas C.I.E. (Commission Internationale de L'Eclairage). (FRANÇA; SANTOS; LIMA, 2010).

Tabela 7- Expressão de valores das cores no colorímetro Lovibond E AF 900

<b>CORES/ESCALAS</b>			
<b>VERMELHO</b>	<b>AZUL</b>	<b>AMARELO</b>	<b>NEUTRO</b>
0,1-0,9	0,1-0,9	0,1-0,9	0,1-0,9
1,0-9,0	1,0-9,0	1,0-9,0	1,0-2,0-3,0
10,0-70,0	10,0-70,0	10,0-40,0	-

Fonte: França; Santos; Lima (2010).

Atualmente o mais popular dos espaços de cores uniformes usados para avaliar as cores nos alimentos é o espaço de cor  $L^*a^*b^*$ , também conhecido como espaço de cor CIELab. Esse espaço de cor é amplamente utilizado, pois correlaciona consistentemente os valores de cor com a percepção visual. Indústrias como as de alimentos e universidades, utilizam este espaço para identificar, comunicar e avaliar os atributos da cor além das inconsistências ou desvios de uma cor padrão (KONICA MONILTA, 2019).

De acordo com os resultados da Tabela 8, as amostras de óleo extraídas pelos dois métodos, Soxhlet e banho ultrassônico, diferiram significativamente quanto à luminosidade. A extração em banho ultrassônico resultou em óleo com aspecto mais claro, e de acordo com a avaliação estatística, não houve diferença significava entre o dia 1 e 30. Para a extração com o método Soxhlet, relacionando os dois dias (1 e 30), verificou-se que houve diferença significativa nas cores dos óleos, e que, com o armazenamento e o passar dos dias, houve uma tendência de clareamento.

Tabela 8 - Determinação de cor CIELab pela Luminosidade ( $L^*$ )

<b>DIAS</b>	<b>OES</b>	<b>OEB</b>
1	29,56 ± 0,42 <sup>bB</sup>	38,79 ± 0,86 <sup>aA</sup>
30	31,98 ± 0,49 <sup>bA</sup>	38,36 ± 0,91 <sup>aA</sup>

Valores médios ± desvio padrão (n=8). OES = Óleo extraído em Soxhlet. OEB = Óleo extraído em banho ultrassônico. Letras minúsculas iguais na mesma linha e maiúsculas nas colunas não diferiram entre si ( $p>0,05$ ).

Fonte: autoria própria (2019).

A determinação de cor quando relacionada com a coordenada  $a^*$ , verifica-se na Tabela 9, que no dia 1, os métodos diferiram significativamente entre si, de modo que, a extração em banho ultrassônico resultou no óleo com tendência maior para a cor vermelha que o outro método.

Passados os dias de armazenamento, observou-se que no dia 30, a tendência de cor dos óleos mudou, independentemente do método de extração utilizado, havendo diferença significativa, sendo que o óleo extraído por meio de Soxhlet apresentou uma intensidade menor da cor verde que o óleo extraído em banho ultrassônico.

Tabela 9 - Determinação de cor CIELab pela coordenada a\*

<b>DIAS</b>	<b>OES</b>	<b>OEB</b>
1	2,16 ± 0,09 <sup>bA</sup>	3,51 ± 0,30 <sup>aA</sup>
30	- 0,86 ± 0,42 <sup>aB</sup>	-1,80 ± 0,52 <sup>bB</sup>

Valores médios ± desvio padrão (n=8). OES = Óleo extraído em Soxhlet. OEB = Óleo extraído em banho ultrassônico. Letras minúsculas iguais na mesma linha e maiúsculas nas colunas não diferiram entre si ( $p>0,05$ ).

Fonte: autoria própria (2019).

A diferença significativa estatística, em ambas as extrações, refere-se principalmente pelo fato das amostras, no dia 1 tenderem para a cor vermelha, e com o armazenamento, no dia 30 tenderem para cor verde. De acordo com os dados da Tabela 10, para a coordenada b\*, pode-se concluir que ambos os métodos têm tendência para a cor amarela nos dois dias analisados, porém com intensidades diferentes, os quais diferiram significativamente. O óleo extraído em banho ultrassônico, nos dias 1 e 30, apresentou uma intensidade maior que o óleo da extração em Soxhlet. Os óleos extraídos pelo método Soxhlet, não diferiram significativamente, mantendo a intensidade da cor durante o armazenamento. Já as amostras extraídas por banho ultrassônico, diferiram estatisticamente, sendo que no final do armazenamento (dia 30) a intensidade da cor amarela diminuiu.

Tabela 10 - Determinação de cor CIELab pela coordenada b\*

<b>DIAS</b>	<b>OES</b>	<b>OEB</b>
1	15,64 ± 0,87 <sup>bA</sup>	35,14 ± 2,14 <sup>aA</sup>
30	16,63 ± 0,81 <sup>bA</sup>	29,81 ± 1,28 <sup>aB</sup>

Valores médios ± desvio padrão (n=8). OES = Óleo extraído em Soxhlet. OEB = Óleo extraído em banho ultrassônico. Letras minúsculas iguais na mesma linha e maiúsculas nas colunas não diferiram entre si ( $p<0,05$ ).

Fonte: autoria própria (2019).

Um estudo realizado com vários óleos de semente de uva, comercializados no Brasil, verificou que estes possuem predominância da coordenada b\* sobre o componente a\* (verde). Os resultados indicaram que a cor amarela é a característica entre os óleos brasileiros que foram analisados (SHINAGAWA, 2015). Assim como o óleo de semente de uva extraído e avaliado neste experimento.

## 5. CONCLUSÃO

As sementes de uva foram obtidas do resíduo da produção de vinho artesanal e apresentaram umidade elevada, a qual foi reduzida após a secagem. O óleo extraído por meio de banho ultrassônico comparado ao Soxhlet, mesmo sem refino e adição de conservantes, nas análises no dia 1, esteve dentro dos parâmetros de qualidade, provando que o método é promissor, pelo fator de economia de reagente, temperatura amena, menor exposição à luz, tempo de extração viável e equipamento de simples manuseio.

Com o armazenamento e a exposição à luz e oxigênio durante 30 dias, observou-se que em ambas as extrações ocorreram o início da peroxidação e a quebra da cadeia de ácidos graxos de alta massa molecular, porém o índice de acidez demonstrou que ambas as amostras ainda estavam em bom estado de conservação, não gerando ácidos graxos livres, mesmo não sendo refinados e não contendo nenhum conservante e antioxidante.

A cor do óleo de semente de uva apresentou-se com luminosidade tendendo ao escuro, a coordenada  $a^*$  mostrou a tendência da cor vermelha logo após a extração e após 30 dias de armazenamento, tendência para a cor verde. E a coordenada  $b^*$  demonstrou que a cor predominante é o amarelo, cuja intensidade é maior no óleo extraído em banho ultrassônico.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Departamento Acadêmico de Alimentos e de Química da UTFPR Câmpus Londrina.

## REFERÊNCIAS

ABE, L. T. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.

ABIDI, S. L. Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants. **Journal of Chromatography A**, v. 881, p.197-216, 2000.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos – Teoria e Prática – Óleos Essenciais**. Ed. Impr. Univ. UFV: Viçosa, MG, 1995.

BARBOZA, J. C. S.; SERRA, A. A. Ultra-som (I): influência do ultra-som na química. **Química Nova**, v.15, n. 4, p. 302-316, 1992.

BIOVEA BRASIL. **Biovea**. 2019. Disponível em: <https://www.biovea.net/br/>. Acesso em: 16 set. 2019.

BOZAN, B.; TEMELLI, F. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of flaxseed. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 79, n. 3, p. 231-235, 2002.

BRASIL. Instrução Normativa nº14, de 8 de fevereiro de 2018. Padrões de Identidade e Qualidade do Vinho, dos Derivados de Uva e do Vinho. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 09 mar. 2018. Seção 1, p. 4.5.6.

\_\_\_\_\_. Resolução-RDC Nº 270, de 22 de setembro de 2005. **Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal**. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0270\\_22\\_09\\_2005.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0270_22_09_2005.html). Acesso em: 27 jun. 2020.

BREITBACH, M.; BARTHEN, D.; SCHMIDT-TRAUB, H. Effect of Ultrasound on Adsorption and Desorption Processes. *Ind. Eng. Chem. Res.*, v.42, n.22, p.5635-5646, out., 2003.

BRUNI, G. P. et al. Estudo do método de ultrassom para a extração de óleo de sementes de uva provenientes de rejeitos do processo vitivinícola. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2014, Florianópolis, **Anais...XX COBEQ**, Florianópolis, 2014. p. 1-8.

CABRITA, M. J.; SILVA, J. R.; LAUREANO, O. Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos. In: I SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE VITIVINICULTURA. **Anais...Ensenada**, México, 2003.p.61-100.

CAMPOS, L. M. A. S. **Obtenção de extratos de bagaço de uva cabernet sauvignon (*Vitisvinifera*): parâmetro de processo e modelagem matemática.** 2005. 121 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

CAO, X.; ITO, Y. Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1021, p. 117-124, 2003.

CATALUÑA, E. História e panorama vitivinícola mundial. In: \_\_\_\_\_. **Uvas e vinhos.** 1ºed. Rio de Janeiro: Globo, 1984. p. 17-27.

CECCHI, H. M. Lipídeos. In: \_\_\_\_\_. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos.** 2 ed. Campinas, SP: Unicamp, 2003, p. 86-96.

CERT, A. et al. Formation of stigmasta-3, 5-diene in vegetable oils. *Food Chemistry*, v.49, p.287-293, 1994.

CODEX ALIMENTARIUS INTERNATIONAL FOOD STANDARDS. Codex Stan 210-1999. Standard for named vegetable oils. 1999. p. 1-13.

CREXI, V. T. et al. Caracterização química da semente de uva da variedade *Cabernet Sauvignon*. In: XXV Congresso Regional de Iniciação Científica e Tecnológica em Engenharia, 2013, Passo Fundo. **Anais...CRICTE.** Passo Fundo-RS. 2013.

DAMASCENO, K. S. F. S. C.; ANDRADE, A. C.; STAMFORD, T. L. M. Aproveitamento do Resíduo de Camarão. **Digital Library of Journals**, Curitiba, v.27, n.2, p.213-224, jul./dez. 2009.

DANTAS, F. R. et al. Composição química e características fermentativas de silagens de maniçoba (*Manihot* sp.) com porcentuais de co-produto de vitivinícolas desidratado. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, p.247-257, 2008.

ECYCLE. **Óleo de semente de uva: benefícios e como usar**. Disponível em: <https://www.ecycle.com.br/2594-oleo-de-semente-de-uva.html>. Acesso em: 18 set. 2019.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Inteligência de mercado de uva e vinho**. 2018. Disponível em :<https://www.embrapa.br/cim-inteligencia-e-mercado-uva-e-vinho/a-viticultura-no-brasil>. Acesso em: 16 set. 2019.

FRANÇA, Silvia Cristina Alves. **Tratamentos de Minérios**. 5ªed. Rio de Janeiro. CETEM/MCT. 2010. p. 543-557.

FRANÇA, S. C. A.; SANTOS, S. F.; LIMA, S. R. M. Ensaio para medidas de cor em colorímetros Lovibond e ASTM. In: LUZ, Adão Benvindo da; SAM-PAIO, João Alves;

FREITAS, L. S. **Desenvolvimento de procedimentos de extração do óleo de semente de uva e caracterização química dos compostos extraídos**. Tese (Doutorado em química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, maio, 2007.

FRENCH, M. L.; LAFORGE, R. L. Closed-loop supply chains in process industries: An empirical study of producer re-use issues. **Journal of Operations Management**, v.24, p. 271-86, 2006.

GARCIAPEREZ, J. V. et al. Extraction kinetics modeling of antioxidants from grape stalk (*Vitis vinifera* var. Bobal): influence of drying conditions. **Journal of Food Engineering**, v.101, n.1, p.4958, 2010.

GOKTURK-BAYDAR, N.; AKKURT, M. Oil content and oil quality properties of some grape seeds. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v.25, n.1, p.163-168, 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v.1: Métodos físicos e químicos para análise de alimentos, 3 ed. São Paulo: Imesp, 1985, p. 21-22.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Óleos e gorduras. In: \_\_\_\_\_. **Métodos físicos-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 589-625.

KAMEL, B. S.; DAWSON, H.; KAKUDA, Y. Characteristics and composition of melon and grape seed oils and cakes. **JAOCs.**, v.62, n.5, p.881-883, maio, 1985.

KONICA MINOLTA. **Entendendo o espaço de cor L\* a\* b\***. 2019. Disponível em: <http://sensing.konicaminolta.com.br/2013/11/entendendo-o-espaco-de-cor-lab/>. Acesso em: 09 nov. 2019.

LAZARINI, F. C.; FALCÃO, T. **Composição da uva**. 1999. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/alimentus1/feira/prfruta/vinhotin/prfuva.htm>. Acesso em: 12 ago. 2019.

MACÍAS-SÁNCHEZ, M. D.; MANTELL, C.; RODRÍGUEZ, M. Comparison of supercritical fluid and ultrasound-assisted extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Dunaliellasalina*. **Talanta**, v. 77, n. 3, p. 948-952, 2009.

MELLO, L. M. R. Panorama da Produção de Uvas e Vinhos no Brasil. **Campos e Negócios Hortifrutti**. p.54-56, abr. 2017.

MENEZES, L. M. de et al. Estudo do processo de extração por Soxhlet do óleo de semente de uva. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2014, Florianópolis. **Anais: COBEQ**, Florianópolis: SC, 2014, p.1-8.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais na Indústria de Alimentos**, 1 ed., Varela: São Paulo, 1998.



OLIVEIRA, G. P.; ECHEVENGUÁ, M. M.; MESSIAS, R. S. **Processo de extração e caracterização do óleo de semente de uva**, UFSC, Santa Catarina, 2003.

ROCKENBACH, I. I. Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas (*Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*). 2008. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

ROCKENBACH, I. I. et al. Composição de ácidos graxos de óleo de semente de uva (*Vitis vinifera* L. e *Vitis labrusca* L.). In: III Simpósio de Segurança Alimentar, 2010. Campinas. **Braz. J. Food Technol.** Campinas: ITAL, 2010. p. 23-26.

\_\_\_\_\_. Characterization of flavan-3-oils in seeds of grape pomace by CE, HPLC-DAD-DMS and LC-ESI-FTICR-MS. **Food Research International**. v.48, n.2, p. 848-855, out. 2012.

RODRIGO, N. et al. High-performance liquid chromatographic determination of tocopherols in infant formulas. *Journal of Chromatography A*, v.947, n.1, p. 97-102, fev. 2002.

ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 53-60, jan/mar, 2007.

SEBRAE. **O cultivo e o mercado de uva**. 2016. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-da-uva,ae8da-5d3902e2410VgnVCM100000b272010aRCRD>. Acesso em: 10 set. 2019.

SHINAGAWA, F. B. **Avaliação da composição química de semente de uva (*Vitis Vinifera* L) e seu efeito sobre parâmetros bioquímicos e inflamatórios em ratos**. 2015. 165 f. Tese (Doutorado em Ciência de alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

SILVA, L. M. L. R. Caracterização dos Subprodutos da Vinificação. **Revista Milleniun**, n. 28, p. 123-133, 2003.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

THODE FILHO, S. et al. Deterioração de óleos vegetais expostos a diferentes condições de armazenamento. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, p. 07-13, maio, 2014.

VERDÉLIO, A. **EBC Agência Brasil**. Química Verde: projeto da Embrapa agrega valor ao bagaço de uva. Publicado em: novembro de 2014. Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/pesquisa-e-inovacao/noticia/2014-11/quimica-verde-projeto-da-embrapa-agrega-valor-ao-bagaco-de-uva>. Acesso em: 17 set. 2019.



# Capítulo 10

## **OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FARINHA DAS CASCAS DE BANANAS VERDES E MADURAS**

*Anyketlen Valério Seret Lion  
Rafaelli Yumi Yanaze  
Diovana Dias Rodrigues  
Caroline Maria Calliari  
Neusa Fátima Seibel*

### **1. INTRODUÇÃO**

A fome e o desperdício no Brasil é um grande problema, já que o país é um dos maiores exportadores de produtos agrícolas do mundo e produz cerca de 140 milhões de toneladas de alimentos por ano, e ainda assim milhões de pessoas não possuem acesso a alimentos de qualidade e em quantidade suficiente (BARROS; LOPES; WANDERLEY, 2008).

O Brasil é um dos principais produtores de banana, produzindo mais de seis milhões de toneladas por ano (DIAS; BARRETO, 2011). A fruta é bastante consumida *in natura* e sua boa aceitabilidade se dá pelo fato das características sensoriais e nutricionais. Além disso, é comercializada a preço acessível (SILVA et al., 2013).

As cascas de bananas apresentam quantidades significativas de fibras e minerais, porém são pouco exploradas pelas indústrias devido à falta de conhecimento das possíveis aplicações e benefícios. O processamento destas se torna uma alternativa a fim de aproveitar o valor nutritivo e diminuir o desperdício, visto que a banana é uma das frutas mais consumidas nacionalmente

(GONÇALVES et al., 2016). Além disso, as cascas de bananas permitem grande variedade de aplicação na indústria alimentícia como ingredientes substitutos de farinha de trigo e/ou amido e agentes espessantes.

Uma das formas utilizadas para o aproveitamento desses resíduos orgânicos é a elaboração de farinhas, produtos de fácil obtenção e que possuem elevadas quantidades de nutrientes quando comparadas às próprias partes comestíveis (GONDIM et al., 2005). As farinhas são obtidas por meio de secagens e moagens, onde retira-se grande quantidade de água contida no vegetal, desfavorecendo o desenvolvimento de micro-organismos, aumentando a vida útil do produto.

Análises químicas de lipídeos, proteínas, fibras, cinzas e atividade de água podem diferenciar uma banana de outra, além de destacar diferenças de composição entre as cascas das bananas verdes e maduras. Estes valores são determinados para avaliar se as cascas dessa fruta podem ser consideradas boas fontes nutricionais (GONDIM et al., 2005).

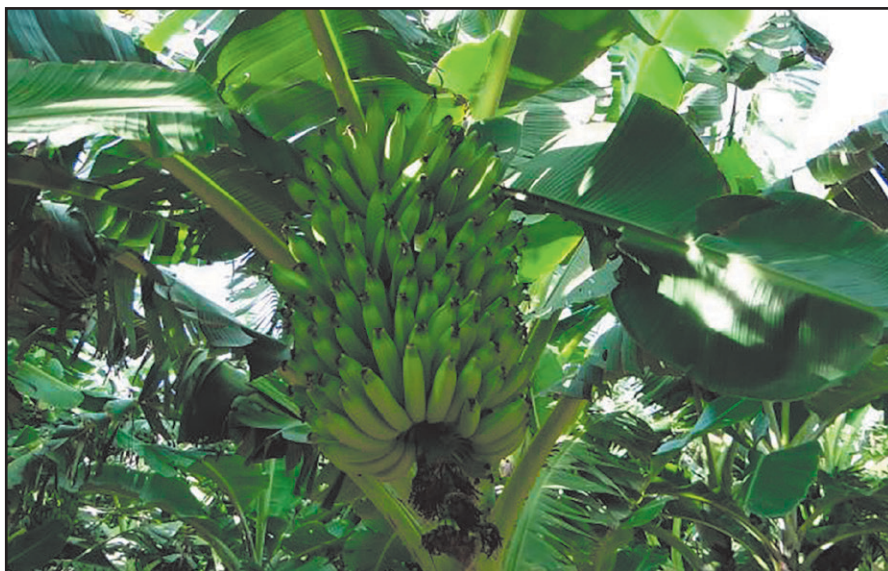
Diversas variedades de bananas são cultivadas mundialmente, porém a escolha de qual vai ser consumida/utilizada é realizada através da avaliação sensorial ou tipo de produto alimentício a ser produzido. A cultivar Nanica foi escolhida para o presente estudo, decorrente de apresentar bom rendimento, ser de fácil acesso e ser bastante comercializada no país, gerando grande quantidade de resíduos (BARROS; LOPES; WANDERLEY, 2008). A elaboração das farinhas das cascas das bananas verdes e maduras foi realizada com objetivo de diferenciá-las de acordo com seus valores nutricionais e análises de composição proximal. O objetivo deste trabalho foi caracterizar cascas de bananas verdes e cascas de bananas maduras para obtenção de farinhas.

## 2. BANANA

A bananeira é originária do continente Asiático e é produzida em países tropicais, tais como: Índia, Brasil e Equador. Pertencem à família *Musaceae* que, por sua vez, possui três subfamílias, sendo estas *Musa*, *Musoidea* e *Ensete*. A subfamília *Musa* é composta por *Australimusa*, *Callimusa*, *Rhodoclamyse* e *Eumusa* (SILVA et al., 2013). Porém, somente a *Eumusa* é comestível e sendo classificada em *Musa acuminatacolla* e *Musa balbisianacolla*, que também incluem várias espécies. As bananeiras produzem frutas conhecidas como banana (Figura 1), que é a fruta mais comercializada no mundo (DIAS; BARRETO,

2011). No entanto, por ser altamente perecível, a banana deve ser consumida em poucos dias, e por este fato a comercialização deve ser rápida (BARROS; LOPES; WANDERLEY, 2008).

Figura 1- Bananeira com bananas verdes



Fonte: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2015).

Conforme o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2016), o Brasil produziu mais de 6 milhões de toneladas de bananas em 2016, obtendo rendimento de 14.686 kg por hectares. Em escala mundial, acredita-se que produziu mais de 69 milhões de toneladas de bananas. Os brasileiros consomem mais de 20 quilos de banana por ano (FASOLIN et al., 2007), principalmente na forma *in natura*, sendo uma pequena parcela deste consumo de banana submetida a algum tipo de processamento (SILVA et al., 2013). No Brasil, o alimento mais produzido a partir do processamento da banana é o purê, seguido respectivamente da bananada, banana passa, flocos e chips (PEREIRA et al., 2010).

Muitos autores têm estudado a composição química da banana. Em geral, a banana é uma fruta de alto valor nutricional, constituída de fibras, proteínas, amidos, açúcares, vitaminas A, B<sub>6</sub>, C e minerais como potássio, fósforo, cálcio, sódio e magnésio, entre outros (SILVA et al., 2013).

O desenvolvimento da banana consiste em três fases: crescimento, maturação e amadurecimento. Inicialmente, na fase de crescimento, há o aumento

irreversível de atributos físicos, e nesta fase a banana se apresenta na coloração verde. Por ser uma fruta muito rica em amido, os teores de sólidos solúveis aumentam, e devido à ação da enzima poligalacturonase e das pectinas-metil esterases que degradam a pectina da parede celular, há perdas de firmeza. A maturação corresponde ao estágio de desenvolvimento que leva à maturidade fisiológica, e nesta fase ocorrem diversas transformações bioquímicas, físicas e físico-químicas. Também é a etapa em que a firmeza diminui e junto ocorre mudança de cor na casca, ocasionada pela degradação de clorofila e a síntese de carotenoides, acompanhada pelo aumento de sólidos solúveis e acidez (SILVA et al., 2013). Além disso, compostos voláteis são produzidos, tais como ésteres, responsáveis pelo odor característico da fruta (SILVA et al., 2013), além de álcoois, aldeídos, cetonas, aminas e fenóis. Entre os compostos gerados destacam-se a luteína,  $\alpha$  e  $\beta$ -caroteno e catecolaminas, que agem como antioxidantes (NUNES, 2017). Também há o desaparecimento de adstringência e degradação rápida do amido, resultando em acúmulo de açúcares (SILVA et al., 2013). Por fim, o amadurecimento é constituído de uma série de processos que afetam as características sensoriais e físicas como aroma, cor, sabor e textura da banana. Como amadurecimento, a fruta atinge a senescência e tem um decréscimo na atividade respiratória, resultando em morte das células (NUNES, 2017).

Quanto à composição das cascas de bananas, temos os flavonoides, ácidos graxos comolinoleico e  $\alpha$ -linolênico, fitoesteróis como  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, campesterol, cicloeucalenol, cicloartenol, e 24-metileno cicloartanol, além dos carotenoides, como alguns dos compostos já identificados (PEREIRA et al., 2010), além de teores consideráveis de vitaminas A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e C, além de minerais como magnésio, fósforo, potássio, cálcio e sódio (GONDIM et al., 2005). As cascas de banana também são constituídas de altas concentrações de taninos, que contribuem para um sabor adstringente, bastante comum em frutas verdes. Esta adstringência pode afetar a elaboração da farinha de cascas de bananas verde (OLIVEIRA et al., 2009).

## 2.1 FARINHA DE CASCA DE BANANAS

Segundo a Resolução RDC nº 263 de setembro de 2005, farinhas são “produtos obtidos de partes comestíveis de uma ou mais espécies de cereais, leguminosas, frutos, sementes, tubérculos e rizomas por moagem e outros processos tecnológicos considerados seguros para produção de alimentos”.

As cascas de bananas representam 47 a 50% em peso da fruta madura, porém o seu aproveitamento é pouco explorado (MORAIS NETO et al., 1998). Para minimizar o desperdício, pode-se aproveitar as cascas de banana para produzir farinhas. Pereira et al. (2010) citam que na Costa Rica é comum o descarte excessivo de partes rejeitadas de banana nos rios, e que o elevado teor de carboidratos da cultura resulta em elevadas taxas de oxigênio, produzindo desequilíbrio nesse cenário e reduzindo chances de sobrevivência dos animais aquáticos.

O avanço constante nos estudos e pesquisas, tanto acadêmico quanto da indústria alimentícia tem apresentado diversas aplicações para as cascas de bananas, com destaque para a utilização destas como melhoradores da qualidade nutricional dos alimentos. As cascas das bananas adquiridas para a produção das farinhas devem passar pelo processo de higienização, secagem e trituração e, por fim, acondicionamento em embalagens hermeticamente fechadas (CARVALHO et al., 2012).

A secagem é uma técnica bastante antiga, que visa reduzir a atividade de água e conseqüentemente a alta pericibilidade. A atividade de água mede a quantidade de água disponível para reações químicas, bioquímicas e microbiológicas, sendo um parâmetro importante para a vida útil do produto. Quanto maior o conteúdo de água livre, menor é a vida útil do produto, pois esta pode ser afetada principalmente por micro-organismos deteriorantes (PESSOA et al., 2009).

Dentre os diversos tipos de secagem empregados, está a secagem por circulação forçada, que consiste em dispor o produto sobre telas planas e submetê-lo à secagem em estufa com ventilação de ar forçada, com medição do peso até que este permaneça constante (GONÇALVES et al., 2016). Silva et al. (2013) ressaltam que para submeter um alimento à secagem, deve-se ter conhecimento de suas características e propriedades, para que se tenha uma secagem eficiente.

Quando há emprego de altas temperaturas, têm-se altas taxas de secagem, pois há aumento no coeficiente de difusão da umidade, e assim o teor de umidade desejado é rapidamente alcançado. Porém, há diminuição das dimensões do produto, devido à alteração na microestrutura do tecido fresco, aumentando o número de cavidades e células alongadas, entre outras alterações (SILVA et al., 2013).

A moagem é o processo em que o produto seco é reduzido por forças de cisalhamento, compressão ou impacto. Os diferentes métodos de redução de tamanho podem ser: corte, fatiamento, trituração, corte em cubos, moagem e homogeneização. Por apresentarem característica fibrosa, para as cascas de



bananas é necessário utilizar forças combinadas de impacto e cisalhamento para reduzir o tamanho de suas partículas (SILVA et al., 2013).

Conforme Carvalho et al. (2012), é possível a aplicação de farinha da casca de banana para elaboração de *cupcakes*. Existem também relatos da utilização da farinha de banana em produtos dietéticos, alimentos infantis e ração animal (MORAIS NETO et al., 1998).

## 2.2 FIBRAS ALIMENTARES

A fibra alimentar é formada por um grupo de compostos heterogêneos. Seus constituintes, à exceção da lignina, são polissacarídeos como as pectinas, as mucilagens, as hemiceluloses, as gomas, as celuloses e, em alguns casos, também os oligossacarídeos, o amido resistente e os polissacarídeos não vegetais. Pode ser classificada em fibra solúvel e insolúvel, de acordo com o comportamento físico destes compostos em meio aquoso (OLIVEIRA; ROMAN; SEIBEL, 2018).

A quantidade de fibras totais em 100g de farinha oriunda da casca da banana é de 22,64%, sendo 12,76% insolúveis e 9,88% de fibras solúveis (NUNES, 2017). Para os consumidores, esses valores são de suma importância, pois a ingestão de fibras beneficia o trato gastrointestinal e controla algumas doenças crônicas degenerativas (CATALANI et al., 2003).

As fibras solúveis aumentam o tempo do trânsito intestinal, diminuem o esvaziamento gástrico e retardam a absorção da glicose, gerando um maior volume fecal devido ao acúmulo de massa bacteriana durante sua degradação. Já as fibras insolúveis contribuem para o aumento do bolo fecal, e consequentemente diminuem o tempo de trânsito intestinal, retardando a absorção do amido que por fim, irá reter água. Dessa forma, deve-se consumir os dois tipos de fibras, pois cada uma delas exerce papel importante para um melhor funcionamento do intestino, evitando a constipação intestinal com abundância de ingestão hídrica. A diminuição da obesidade também é beneficiada com a adsorção das fibras, pois as mesmas provocam a sensação de saciedade. Também o controle do diabetes é outra enfermidade que usufrui das funções das fibras (CATALANI et al., 2003).

As fibras alimentares têm um importante papel nas propriedades tecnológicas dos alimentos processados, como: produtos panificáveis, lácteos, carnes, geleias e sopas; modificando as propriedades de textura, evitando a sinérese e

estabilizando emulsões em produtos com alto teor de gordura, consequentemente, aumentando a vida útil dos alimentos. Isso é possível porque as fibras alimentares têm alta capacidade de retenção de água e/ou óleo, e de formar e estabilizar emulsões e géis (OLIVEIRA; ROMAN; SEIBEL, 2018).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

As bananas escolhidas para a pesquisa foram da cultivar Nanica, sendo as verdes doadas em cachos por um produtor local, e as maduras adquiridas no comércio do município de Londrina. Tanto as análises das cascas *in natura* quanto a elaboração das farinhas e caracterização deste produto foram realizadas nos laboratórios do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina.

#### 3.1 ANÁLISE DAS CASCAS DAS BANANAS VERDES E MADURAS *IN NATURA*

Inicialmente as cascas das bananas verdes e maduras foram avaliadas pela cor, utilizando o colorímetro digital (KONICA MINOLTA – Chroma Meter CR-400). Em 45 bananas verdes e 45 bananas maduras foram realizadas as medidas de cor, em quatro pontos diferentes de cada fruta, sendo dois pontos no côncavo e outros dois no convexo da fruta. O sistema de avaliação utilizado foi o CIELAB da Commission Internationale de l’Eclairage, que utiliza a avaliação do espaço de cor  $L^*a^*b^*$ , que correlaciona os valores de cor com a percepção visual. Para que a cor avaliada seja objetiva, é preciso ordená-las em termos de tonalidade, luminosidade e saturação, através de escalas (KONICA MINOLTA, 2018).

Em seguida, as bananas maduras foram descascadas manualmente e as bananas verdes foram cortadas com auxílio de uma faca e retiradas as polpas com uma espátula. Em todas as cascas, cortes verticais e horizontais de aproximadamente 1 centímetro foram realizados para padronização do tamanho para o processo de secagem. Para as determinações de atividade de água e composição química, segundo a AOAC (1995), em triplicada, as cascas foram trituradas em liquidificador doméstico.

## Atividade de Água

As leituras, em triplicata, foram determinadas a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1$  utilizando o higrômetro elétrico de medida direta (AQUALAB 4TE, Decagon CX-2, Pullman, Estados Unidos) aferido com água destilada.

## Umidade

A determinação de umidade foi realizada imediatamente após o descasamento das frutas, para evitar possível desidratação. As cápsulas de porcelana foram secas em estufa por 3 horas a  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ , resfriadas em dessecador e pesadas. Pesou-se 5 gramas de amostra na cápsula, que foi submetida ao aquecimento em estufa a  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 5 horas. Em seguida, as cápsulas foram resfriadas em dessecador até atingir a temperatura ambiente e pesadas.

## Proteínas

A determinação das proteínas foi realizada pelo método Microkjeldahl, que determina a porcentagem de nitrogênio das amostras. Foram pesados 0,2 g de amostras, seguidos da adição de aproximadamente 1 grama de catalisador e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Os tubos foram agitados para homogeneização da amostra, e colocados para digestão com temperatura crescente e máxima de  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Na etapa de destilação, adicionou-se 10 mL de água destilada nos tubos com o material previamente digerido. Em Erlenmeyer de 125 mL adicionou-se 10 mL de ácido bórico 2% e 3 gotas de indicador vermelho de metila. Com o tubo contendo o material digerido e diluído já conectado no local de encaixe do destilador, adicionou-se hidróxido de sódio 50% até neutralizar as amostras, e realizou-se o processo de destilação para arraste do nitrogênio na forma de amônia, que foi coletada no Erlenmeyer previamente acoplado ao equipamento. Coletou-se aproximadamente 50 mL do destilado, e titulou-se com ácido sulfúrico 0,01 M fatorado.

## Lipídios

Para a determinação de lipídios, os balões foram previamente secos em estufa por 3 horas a  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  e pesados. As amostras foram pesadas e acondicionadas

em sachês e em seguida esses sachês foram inseridos no aparelho Soxhlet por 6 horas sob aquecimento e refluxo contínuo com éter de petróleo. Ao final do processo, os balões foram retirados de cada conjunto extrator e submetidos à secagem em estufa a 105 °C por 1 hora. Após esse tempo, os balões foram resfriados à temperatura ambiente em dessecador e pesados.

## Cinzas

Para a determinação das cinzas foram pesados 5 gramas de amostra em cadinho, previamente seco e pesado. Em seguida, carbonizou-se as amostras em bico de Bunsen até adquirir coloração acinzentada, e logo após os cadinhos foram submetidos à incineração na mufla com temperatura crescente e máxima de 550 °C. Após 5 horas, os conjuntos foram resfriados à temperatura ambiente em dessecador e pesados.

## Fibras Alimentares

As fibras insolúveis foram determinadas após digestão das amostras com enzimas  $\alpha$ -amilase, protease e amiloglicosidase, seguida de filtração e lavagens com água aquecida a 70 °C e 2 porções de 15 mL de etanol 78%, etanol 95% e acetona. O filtrado e as águas de lavagem foram guardados para determinação de fibras solúveis. As amostras filtradas foram submetidas à secagem em estufa a 105 °C *overnight*. Após a secagem, os cadinhos foram resfriados em dessecador e pesados. Uma das duplicatas de cada amostra foi destinada para determinação de cinzas por 5 horas a 525 °C, e a outra para determinação de proteínas.

Para determinação das fibras alimentares solúveis, utilizou-se o filtrado obtido no processo de lavagens, que foi medido e adicionado a 4 volumes de etanol 95% pré-aquecido a 60 °C, permanecendo em descanso por cerca de 1 hora. Em seguida, a solução em repouso foi filtrada sob vácuo em cadinhos. Lavou-se o resíduo sucessivamente com 2 porções de 15 mL das soluções de etanol 78%, etanol 95% e acetona. Em seguida, os cadinhos contendo o resíduo foram submetidos à secagem em estufa a 105 °C *overnight*. Os cadinhos foram novamente resfriados em dessecador e pesados, sendo uma replicata de cada amostra destinada para determinação de cinzas por 5 horas a 525 °C, e a outra para determinação de proteínas. Para a quantificação das fibras totais, realizou-se a soma das duas frações.

### 3.2 ELABORAÇÃO DAS FARINHAS

A elaboração das farinhas iniciou-se com a seleção e toailete das frutas, seguido de lavagem e sanitização por imersão em solução sanificante de hipoclorito de sódio (100 mg/L por 15 minutos). Em seguida, as frutas foram enxaguadas em água corrente, as cascas foram separadas da polpa, cortadas e submetidas à secagem para obtenção das farinhas. A secagem foi realizada em estufa com circulação de ar a 105 °C por 5 horas. Após a secagem, as cascas secas foram trituradas em liquidificador doméstico e acondicionadas em potes de polipropileno (PP) com tampa (CARVALHO et al., 2012).

As farinhas das cascas das bananas verdes e maduras foram avaliadas quanto à atividade de água e composição proximal, em termos de umidade, cinzas, proteínas, lipídios e carboidratos, seguindo a metodologia descrita para a análise das cascas.

### 3.3 TRATAMENTO DOS DADOS

A partir da realização das análises, os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) no software Statistica 10.0 e as médias foram comparadas pelo teste t de Student ao nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Existem vários métodos para detectar o amadurecimento da banana, sendo que o principal é a coloração da casca. Durante o amadurecimento, a alteração da coloração de verde para amarelo depende da perda de clorofila, e seu conteúdo pode ser utilizado para caracterizar a variação de cor (ÁLVARES et al., 2003). A caracterização das cascas das bananas iniciou-se com a análise de cor por meio de colorímetro, no qual foram avaliados os parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  em 45 bananas verdes e 45 bananas maduras, totalizando 90 bananas.

A coordenada  $L^*$  está relacionada com a luminosidade, a coordenada  $a^*$  corresponde à intensidade da cor vermelho/verde e a coordenada  $b^*$  com a intensidade da cor amarelo/azul. Os resultados médios das leituras encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Análise de cor das cascas das bananas verdes *in natura*

<b>Cor</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
Banana Verde (Côncavo)	45,13±4,69 <sup>b</sup>	-13,77±1,16 <sup>a</sup>	31,97±1,76 <sup>a</sup>
Banana Verde (Convexo)	50,24±2,41 <sup>a</sup>	-13,36±1,58 <sup>a</sup>	32,21±0,95 <sup>a</sup>

Médias±desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste t de Student. L\* - Luminosidade, a\* - Verde/Vermelho, b\* - Azul/ Amarelo.

Fonte: Autoria própria (2018).

O valor de luminosidade (L\*) nas bananas verdes foi de 45,13 no côncavo e 50,24 no convexo da fruta, enquanto que na coordenada a\* encontrou-se valor médio de -13,77 no côncavo e -13,36 no convexo, indicando que no côncavo a cor se apresentou mais verde do que no convexo da fruta, que apresentou coloração mais clara, devido à exposição solar. Na coordenada b\* encontrou-se o valor médio de 31,97 no côncavo e 32,21 no convexo.

Do mesmo modo, realizou-se a análise de cor nas cascas das bananas maduras obtendo resultados das coordenadas L\*, a\* e b\*, conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2 - Análise de cor das cascas das bananas maduras *in natura*

<b>Cor</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
Banana Madura (Côncavo)	52,57±3,59 <sup>a</sup>	7,42±1,47 <sup>b</sup>	36,86±3,65 <sup>a</sup>
Banana Madura (Convexo)	51,84±4,90 <sup>a</sup>	8,50±1,24 <sup>a</sup>	35,62±3,52 <sup>a</sup>

Médias±desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem entre si (p<0,05 t de Student). L\* - Luminosidade, a\* - Verde/Vermelho, b\* - Azul/ Amarelo.

Fonte: Autoria própria (2018).

O valor médio de luminosidade (L\*) no côncavo das cascas de bananas maduras foi de 52,57, indicando maior luminosidade comparada com a parte convexa da fruta, que foi de 51,84. O convexo das bananas maduras apresentou valor médio de a\* de 8,58, e o côncavo de 7,42, sendo o convexo apresentando coloração mais avermelhada em relação à parte côncava da fruta. O aumento da cor vermelha é em virtude da formação de compostos de coloração marrom, sendo o convexo mais exposto à radiação solar. A degradação da clorofila ocorre a partir da atividade enzimática, tendo a clorofilase como responsável pelos pigmentos amarelos, além dos carotenoides, caracterizando a coloração

da banana madura. Na coordenada  $b^*$  foram obtidos valores médios de 36,86 no côncavo e 35,62 no convexo na casca de banana madura (ÁLVARES et al., 2003).

Ao comparar a cor das cascas das bananas verdes e maduras notou-se que nas primeiras, a luminosidade tendeu para o escuro, enquanto que o parâmetro  $a^*$  indicou cor verde e o parâmetro  $b^*$  indicou cor amarela. Com o amadurecimento das frutas, a cor das cascas tem grande alteração, como foi observado nas cascas das bananas maduras, onde a luminosidade aumentou e tendeu ao claro, o parâmetro  $a^*$  indicou cor vermelha e o parâmetro  $b^*$  indicou cor amarela, mas com maior intensidade das cascas das bananas verdes.

Após a leitura no colorímetro, as bananas foram preparadas para as cascas *in natura* serem submetidas à determinação da atividade de água presente conforme a Tabela 3.

Tabela 3 - Atividade de água das cascas de bananas *in natura*

<b>Parâmetro</b>	<b>Atividade de Água</b>
Casca de Banana Verde	0,9952±0,00b
Casca de Banana Madura	0,9891±0,00a

Médias±desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si ( $p < 0,05$  t de Student).

Fonte: Autoria própria (2018).

Pelos resultados obtidos de atividade de água nas cascas das bananas verdes e maduras, observa-se que estas são ingredientes muito perecíveis e propícios a diversas alterações, microbiológicas, químicas e enzimáticas, pois apresentaram alta atividade de água. Estes valores representam que a maioria das moléculas de água não está ligada química ou fisicamente e encontra-se livre, sendo estas passíveis de serem utilizadas em reações de degradações.

Conforme Morais Neto et al. (1998), a maioria dos micro-organismos é capaz de se desenvolver em meio com atividade de água entre 0,90 a 0,99. A maioria das leveduras e fungos se desenvolvem em meio com atividade de água entre 0,86 a 0,88, porém alguns fungos filamentosos podem se desenvolver em meio com atividade de água até 0,80, com exceção para as leveduras osmofílicas e fungos xerofílicos, que se desenvolvem em atividade de água menor que 0,60. Pessoa et al. (2009) afirmam que produtos com atividade de água acima de 0,70 estão propícios a reações enzimáticas ou não, e estas causam modificações na cor, *flavor* e estabilidade do mesmo.

Nos resultados da composição proximal das cascas das bananas verdes e maduras (Tabela 4) não foi verificada diferença significativa nos teores de proteínas e lipídios, se diferindo apenas no teor de umidade e cinzas. Pelos valores obtidos, percebe-se uma maior vantagem de utilização das cascas das bananas maduras, já que estas são abundantemente descartadas e apresentam fácil separação entre casca e polpa. Este processo demanda um menor tempo em comparação à casca de banana verde, que possui maior adesão à polpa, além da possibilidade de aproveitar o sabor e aroma da casca madura.

Tabela 4 - Composição proximal das cascas das bananas verdes e maduras *in natura*

<b>Parâmetros (%)</b>	<b>Casca Banana Verde</b>	<b>Casca Banana Madura</b>
Umidade	91,03±0,08 <sup>a</sup>	87,86±0,04 <sup>b</sup>
Proteínas	0,17±0,04 <sup>a</sup>	0,18±0,00 <sup>a</sup>
Lipídeos	1,25±0,13 <sup>a</sup>	1,31±0,06 <sup>a</sup>
Cinzas	1,59±0,09 <sup>b</sup>	1,76±0,04 <sup>a</sup>
Carboidratos	6,05	8,89

Médias±desvio padrão. Carboidratos calculados por diferença. Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si ( $p < 0,05$  t de Student).

Fonte: Autoria própria (2018).

Os teores de umidade das cascas foram de 91,03% nas cascas de bananas verdes e 87,86% nas cascas de bananas maduras, valores estes que se diferiram significativamente. O teor de umidade das cascas de bananas maduras deste estudo se apresentou próximo ao resultado de Gondim et al. (2005) e Storck et al. (2013) que obtiveram respectivamente 89,47% e 89,82% de umidade.

Para as proteínas, os valores encontrados na presente pesquisa foram de 0,17% nas cascas de bananas verdes e 0,18% nas cascas de bananas maduras, não se diferindo significativamente e bem abaixo dos valores encontrados por Storck et al. (2013) (0,51%) e Gondim et al. (2005) (1,69%) que também avaliaram cascas de bananas maduras, isso pode ser explicado por que a variedade das bananas e local de plantio eram diferentes.

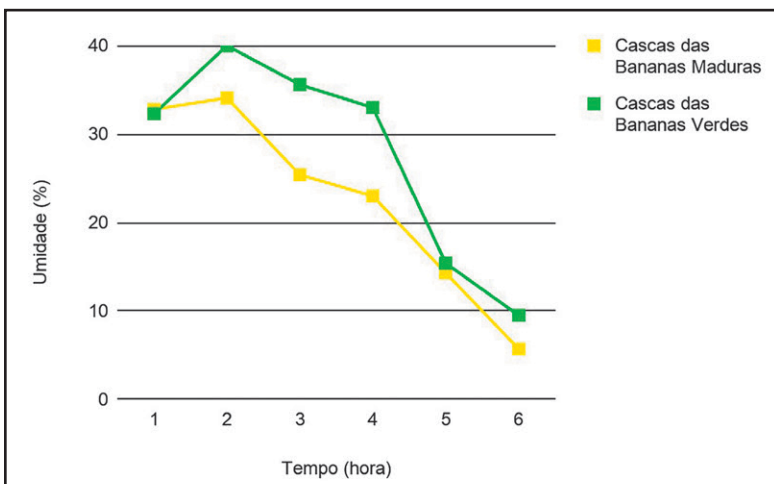
Quanto ao teor de lipídios, os valores obtidos foram de 1,25% nas cascas de banana verde e 1,31% nas cascas maduras, valores estes bem próximos um ao outro, não diferindo entre si significativamente. Gondim et al. (2005) e Storck et al. (2013) apresentaram valores menores, de 0,99% e 0,35% de lipídeos na casca da banana madura, respectivamente.



Os valores de cinzas encontrados foram de 1,59% nas cascas de bananas verdes e 1,76% nas cascas de bananas maduras. Storek et al. (2013) e Gondim et al. (2005) encontraram, respectivamente, 1,29% e 0,95% de cinzas nas cascas de bananas maduras. O teor de cinzas nas cascas de bananas maduras encontrado neste estudo apresentou-se maior quando comparado aos teores relatados pelos autores, mas quando se compara as cascas de bananas verdes e cascas de bananas maduras deste estudo, estas diferiram entre si e esses valores são satisfatórios, pois sabe-se que nestas se encontram quantidades significativas de potássio, cálcio, magnésio, zinco, entre outros de menores quantidades (GONDIM et al., 2005).

Durante a secagem das cascas das bananas verdes e maduras para a elaboração das farinhas foram obtidas as curvas de secagem (Gráfico 1). Como pode ser observado, tanto nas cascas das bananas verdes quanto nas cascas das bananas maduras, após a primeira leitura o valor de umidade se elevou, o que pode ser atribuído à forma de coleta das amostras para pesagem, já que as mesmas são retiradas do fundo, meio, frente e laterais da estufa. E também se sabe que o ar de secagem que circula pelo equipamento não passa por todos esses pontos com a mesma frequência e intensidade (BORGES et al., 2010). Outro fator que influencia no aumento de umidade é a saída de grande quantidade de água dos produtos no começo da secagem, saturando o ar dentro do equipamento de secagem, o qual pode ser condensado na superfície do alimento com a abertura da estufa para a retirada das amostras.

Gráfico 1 - Curva de secagem das cascas das bananas verdes e maduras



Fonte: Autoria própria (2018).

A partir de 3 horas de secagem verificou-se que a porcentagem de umidade decresce gradativamente nas cascas das bananas, ou seja, as cascas estão sendo secas pela corrente de ar quente da estufa. Já que a secagem envolve simultaneamente a aplicação de calor e a remoção de água dos alimentos (FELLOWS, 2006). A perda de água ocorreu através das fibras, sendo que as cascas das bananas maduras perdem umidade mais rapidamente em comparação às cascas das bananas verdes, que possuem fibras mais compactas e resistentes devido à sua incompleta maturação. Segundo Fellows (2006), a taxa de secagem é dependente de vários fatores, entre eles: as condições de processamento, o tipo do equipamento utilizado e as características dos alimentos.

A atividade de água para a farinha das cascas de bananas verdes foi 0,3482, e diferiu significativamente do valor encontrado para a farinha das cascas de bananas maduras 0,4119 (Tabela 5). Este valor ficou bem próximo ao encontrado por Rodrigues et al. (2016), de 0,403, que elaboraram a farinha de cascas de bananas maduras por meio de secagem solar.

Tabela 5 - Atividade de água das farinhas das cascas das bananas verdes e maduras

<b>Parâmetro</b>	<b>Atividade de Água</b>
Farinha de Casca de Banana Verde	0,3482±0,00 <sup>b</sup>
Farinha de Casca de Banana Madura	0,4119±0,00 <sup>a</sup>

Médias±desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si ( $p < 0,05$  t de Student).

Fonte: Autoria própria (2018).

A secagem das cascas proporcionou uma queda brusca na atividade de água das farinhas, o que é benéfico, uma vez que em atividade de água inferior a 0,60 não há crescimento microbiano (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). Ferreira Neto, Figueiredo e Queiroz (2005) citam que valores abaixo de 0,60 são recomendáveis para produtos desidratados, e, portanto, os resultados obtidos se encontram dentro do limite recomendável para ambas as farinhas. Sendo assim, provavelmente essas farinhas terão longa vida de prateleira sem alterações, pois o conteúdo de água restante está associado com outras moléculas.

Na Tabela 6, se encontram os resultados da análise de composição proximal das farinhas de cascas de bananas verdes e farinhas de cascas de bananas maduras, expressas em porcentagens.

Tabela 6 - Composição proximal das farinhas das cascas das bananas verdes e maduras

<b>Parâmetros (%)</b>	<b>Farinha de Casca Banana Verde</b>	<b>Farinha de Casca Banana Madura</b>
Umidade	20,26±0,13 <sup>a</sup>	12,72±1,97 <sup>b</sup>
Proteínas	0,67±0,02 <sup>a</sup>	0,68±0,02 <sup>a</sup>
Lipídeos	6,52±0,66 <sup>a</sup>	6,89±1,25 <sup>a</sup>
Cinzas	11,34±0,08 <sup>a</sup>	10,84±0,12 <sup>b</sup>
Carboidratos	61,21	68,87

Médias±desvio padrão. Carboidratos calculados por diferença. Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem entre si ( $p < 0,05$  t de Student).

Fonte: Autoria própria (2018).

Os teores de umidade foram de 20,26% na farinha de cascas de bananas verdes e 12,72% na farinha de cascas de bananas maduras, diferindo entre si significativamente. Comparando-se estes valores aos apresentados na curva de secagem, percebe-se um aumento significativo, explicado pelo fato de que estes resultados foram obtidos após um período de 30 dias de armazenamento das farinhas obtidas, onde as mesmas podem ter absorvido umidade do meio ambiente. Além disso, após a moagem das cascas houve uma homogeneização das mesmas, as quais poderiam ter percentuais de umidade diferentes, devido ao processo de secagem, especialmente porque as cascas das bananas verdes possuem parede celular mais rígida do que as cascas de bananas maduras. Por essa razão, o valor apresentado para a farinha de casca verde não cumpre o requisito estabelecido pela RDC nº263, de 22 de setembro de 2005 que determina a umidade máxima de farinhas em 15%.

Os teores de proteínas e de lipídio das farinhas de cascas de bananas verdes e maduras não diferiram significativamente entre si. O oposto ocorreu nos teores de cinzas que foram de 11,34% na farinha das cascas de bananas verdes e 10,84% na farinha das cascas de banana madura. Rodrigues et al. (2016) encontraram valor próximo no teor de cinzas (11,96%) na farinha de casca de bananas maduras.

No presente estudo, também foram analisadas as fibras alimentares solúveis, insolúveis e totais das farinhas de cascas das bananas maduras (Tabela 7). O teor das fibras insolúveis foi maior do que o encontrado por Storck et al. (2013) nas cascas de bananas maduras (22%). O total de fibras na farinha de cascas de bananas maduras foi de 38,04%, portanto o maior percentual é de fibras insolúveis, as quais são benéficas, pois elas têm capacidade de adsorver

moléculas de água, permitindo um amaciamento do bolo fecal e um aumento de volume, facilitando e reduzindo o tempo de trânsito intestinal (OLIVEIRA; ROMAN; SEIBEL, 2018).

Tabela 7 - Fibras alimentares solúveis, insolúveis e totais das farinhas de cascas das bananas maduras

<b>Parâmetro (%)</b>	<b>Farinha das Cascas de Bananas Maduras</b>
Fibras Solúveis	4,51±0,92
Fibras Insolúveis	33,53±0,88
Fibras Totais	38,04±1,80

Médias±desvio padrão.

Fonte: Aatoria própria (2018).

Os valores de ingestão recomendados de fibras solúveis estão relacionados com a diminuição do esvaziamento gástrico e também são responsáveis pelo aumento do trânsito intestinal. Essas fibras são fermentadas no cólon por bactérias do intestino que produzem ácidos graxos de cadeias curtas, que por sua vez, são responsáveis por diversos efeitos benéficos, entre eles é exercer efeito sobre o metabolismo glicídico e lipídico (CATALANI et al., 2003).

As cascas e farinhas de banana se tornam muito interessantes para doces e produtos panificáveis, com a possibilidade de obtenção de produtos enriquecidos nutricionalmente, além de diminuir grandes quantidades de cascas que são descartadas diariamente, já que a casca da banana equivale a 50% do peso da fruta. Oliveira et al. (2009) utilizaram as cascas de bananas maduras *in natura* para fabricação de doce de banana. Carvalho et al. (2012) e Silva et al. (2013) elaboraram *cupcakes* e biscoitos com a farinha da casca de banana.

A farinha das cascas das bananas maduras apresentou-se como um ingrediente fonte de fibras alimentares, cujo consumo adequado é relacionado com: melhora do metabolismo da glicose; redução do risco de câncer do cólon e de doenças coronárias; previne problemas intestinais e reduz ou mantém o peso corporal. A recomendação de consumo diário é de 38g/dia para homens adultos até 50 anos e de 25g/dia para mulheres adultas até 50 anos. Sendo que a sugestão é de 20 a 30% de fibras solúveis e a maior fração deve ser constituída das fibras insolúveis, de 70 a 80% (OLIVEIRA; ROMAN; SEIBEL, 2018).

## 5. CONCLUSÃO

A luminosidade das cascas das bananas verdes tendeu para o escuro, o parâmetro  $a^*$  indicou cor verde e o parâmetro  $b^*$  indicou cor amarela, mas com o amadurecimento, a luminosidade aumentou e tendeu ao claro, o parâmetro  $a^*$  indicou cor vermelha e o parâmetro  $b^*$  indicou cor amarela com maior intensidade. A umidade constitui o maior percentual da composição das cascas, que juntamente com a alta atividade de água comprovam que as cascas são ingredientes muito perecíveis e propícios a diversas alterações.

Por meio de processamentos tecnológicos como secagem e moagem foi possível obter farinhas das cascas de bananas verdes e maduras, sendo verificado uma queda brusca na atividade de água das farinhas ao comparar com as cascas. A farinha das cascas de bananas verdes apresentou maior teor de umidade comparada à farinha das cascas de bananas maduras, devido à rigidez da parede celular. A farinha das cascas de bananas maduras elaborada é uma ótima fonte de fibras alimentares, principalmente da fração insolúvel, podendo ser utilizada em diversos produtos alimentícios.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Departamento Acadêmico de Alimentos e ao Laboratório Multiusuário da UTFPR Câmpus Londrina.

## REFERÊNCIAS

ÁLVARES, V. de S. et al. Análise da coloração da casca de banana 'Prata' tratada com etileno exógeno pelo método químico e instrumental. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 5, n. 2, 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 16 ed. Arlington: AOAC International, v.1-2, 1995.

BARROS, M. A. B.; LOPES, G. M. B.; WANDERLEY, M. B. Cadeia Produtiva da Banana: consumo, comercialização e produção no estado de Pernambuco. **Revista Econômica do Nordeste**, Fortaleza, v.39, n°1, p 357, 2008.

BORGES, S. V. et al. Secagem de bananas prata e d'água por convecção forçada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas - SP, 2010.

CARVALHO, K. H. et al. Desenvolvimento de cupcake adicionado de farinha da casca de banana: características sensoriais e químicas. **Alimentos e Nutrição, Araraquara**, v. 23, n. 3, p. 475-481, 2012.

CATALANI, L. A. et al. Fibras alimentares. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Nutrição Parenteral e Enteral, 2003. p. 178-182.

DIAS, J. do S. A.; BARRETO, M. C. **Aspectos agrônômicos, fitopatológicos e socioeconômicos da sigatoka-negra na cultura da bananeira no Estado do Amapá**. Macapá: Embrapa Amapá. 2011. 95p.

FASOLIN, L. H. et al. Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações química, física e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 524-529, 2007.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602p.

GONÇALVES, J. Q. et al. Secagem da casca e polpa da banana verde (*Musa acuminata*): propriedades físicas e funcionais da farinha. **Global Science and Technology**, v. 9, n. 3, 2016.

GONDIM, J. A. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 825-827, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil**. Rio de Janeiro, v.29, n.12, p.1-82, dezembro 2016.

JAY, J.M.; LOESSNER, M.J.; GOLDEN, D.A. **Modern Food Microbiology**. 19.ed. New York: Springer, 2005.

KONICA MINOLTA. **Entendendo o Espaço de Cor L\*a\*b\***. Disponível em: <http://sensing.konicaminolta.com.br/2013/11/entendendo-o-espaco-de-cor-lab/>. Acesso em: 22 out. 2018.

FERREIRA NETO, C. J. F.; FIGUEIREDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Avaliação sensorial e da atividade de água em farinhas de mandioca temperadas. **Ciência e Agrotecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, p. 795-802, 2005.

MORAIS NETO, J. M. et al. Componentes químicos da farinha de banana (*Musa sp.*) obtida por meio de secagem natural. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 2, n. 3, p. 316-318, 1998.

NUNES, S. M. G. C. **Estudo das propriedades da farinha de banana da Madeira (“Dwarf Cavendish”) e a sua incorporação em trufas de chocolate**. 2017. 69f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar)- Universidade de Lisboa, Lisboa, 2017.

OLIVEIRA, A. F.; ROMAN, J. A.; SEIBEL, N. F. Fibras Alimentares. In: OLIVEIRA, A.F.; ROMAN, J.A. **Nutrição para Tecnologia e Engenharia de Alimentos**. Curitiba : CRV, 2018. 208p.

OLIVEIRA, L. F. et al. Utilização de casca de banana na fabricação de doces de banana em massa – avaliação da qualidade. **Alimento Nutricional**, v.20, n.4, p. 581-589. Araraquara, 2009.

PEREIRA, A. et al. **Avaliação das atividades cicatrizante e antitumoral de extratos provenientes da casca de banana cultivar Prata Anã (*Musa sp.*)** 2010. 154 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

PESSOA, T. R. B. et al. **Avaliação do processo de obtenção de farinha da casca de banana (*Musa sapientum*) das variedades Prata, Pacovan e Maçã**. 2009.

RODRIGUES, H. G. A. et al. Utilização da secagem solar para produção de farinha de resíduo da casca da banana. In: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia em Alimentos, 2016, Gramado. **Anais...** Gramado: FAURGS, 2016. p. 1-7.

SILVA, L. M. S. et al. **Aproveitamento da casca de banana para produção de farinha destinada à formulação de biscoitos.** 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia em Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2013.

STORCK, C. R. et al. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. **Ciência Rural**, v. 43, n.3, 2013.





## DESENVOLVIMENTO DE DOCE PARA DIABÉTICOS UTILIZANDO MATCHÁ (*CAMELLIA SINENSIS*)

*Ioshimi Lilian Watanabe Hasunuma  
Nolam Ryuki Miazato Suenaga  
Juliany Piazzon Gomes  
Amélia Elena Terrile*

### 1. INTRODUÇÃO

Substâncias que possam agregar valor nutricional com redução de açúcares, gorduras, adição de fibras e substâncias bioativas são de interesse para propor uma melhor qualidade de vida. O Matchá, obtido das folhas de *Camellia sinensis*, contém substâncias bioativas como flavonoides presentes na forma de catequinas (C) e ácidos fenólicos. Dentre elas, a epigalocatequina galato (EGCG) é o composto mais abundante e contribui com 50 a 80% do total das catequinas, usado como indicador na prevenção de doenças metabólicas, com propriedades fisiológicas e benéficas à saúde (ANANINGSIH; SHARMA; ZHOU, 2013; SONG et al., 2012).

Matcha (抹茶) ou Matchá (chá verde moído) é o nome dado ao pó fino e peneirado, inserido diretamente na tigela de cerâmica. A água é aquecida separadamente e misturada na tigela com um batedor de bambu. O resultado é uma bebida com espuma, o que a torna delicada e aerada. Tradicionalmente, a cultura japonesa incentivou o preparo e a degustação da bebida. No século III, o chá também era considerado medicinal. O Tong Jun Cai Yao Lu ou “Registros

do Príncipe Tong sobre a Coleta de Remédios” descrevia suas propriedades para a saúde, associado à medicina taoísta. O chá era considerado como remédio de interdependência entre saúde do corpo com virtude mental, e da necessidade de balanço dos elementos alquímicos que trouxessem vida longa (BOIKO, 2011).

Nos últimos anos, o interesse pelo Matchá tem aumentado pelos seus efeitos medicinais e farmacológicos atribuídos aos compostos polifenólicos. Esses efeitos biológicos provêm da atividade antioxidante na captura de radicais livres, especialmente flavonoides, que auxiliam na prevenção de doenças cardiovasculares, câncer, aplicação como hipoglicemiante, anti-hipertensiva, anti-inflamatória, antiobesidade e antienvelhecimento, além de possuir metabólitos como cafeína, clorofila, compostos voláteis, oligoelementos, entre outros (SENANAYAKE, 2013; PAULI, 2015). Porém, ainda há poucos estudos sobre sua aceitação sensorial pelo sabor, aroma, cor e adstringência em alimentos elaborados com Matchá.

O presente trabalho visou desenvolver um doce destinado a diabéticos com adição de Matchá e avaliar se há perdas de EGCG durante o processo de cocção utilizando espectroscopia na região do infravermelho médio.

## 2. MATCHÁ

O Matchá é um chá em pó solúvel, produzido de forma artesanal, a partir da moagem das folhas da *Camellia sinensis*. Os arbustos são cultivados em abrigo do sol ou cobertos por tela de junco e, posteriormente, palha (IBEROQUÍMICA, 2020). Devido à baixa incidência solar, há um aumento de clorofila e as folhas mais novas se tornam mais largas para capturar maior quantidade de radiação solar, tornando-se verdes e brilhantes. Este método controla a adstringência e melhora o sabor característico do chá, conferindo-lhe um caráter mais encorpado. As folhas são colhidas à mão, pois são moles. Devem ser submetidas ao processo de vaporização para interromper a fermentação, retendo assim a cor verde. As folhas são secadas e dispersadas igualmente em um forno de tijolos chamado Hoiro (ホイロ”), para a retirada de toda a umidade. As folhas secas do chá não sortido são chamadas de Tencha (甜). Neste estado, as folhas são armazenadas em caixas de madeira e seladas, onde são mantidas sob refrigeração até o processamento posterior (MARUKYU-KOYAMAEN CO. LTD, 2018).

Segundo Marukyu-Koyamen Co. Ltd. (2018), as folhas secas de Tencha são cortadas uniformemente, sendo os talos e veias removidos por ventilação. Após

peneiração, os restos são cortados e secos novamente, removendo-se folhas, caules e veias através de um processo eletrostático. Desta maneira, as folhas de Tencha são submetidas à moagem em moinhos de pedra, obtendo-se o Matchá, cujo pó tem uma granulometria da ordem dos microns.

Os compostos orgânicos e inorgânicos presentes nas folhas e talos utilizados na preparação do chá verde e os processos aos quais são submetidos influenciam na qualidade final da bebida. Os atributos sensoriais como a cor, o sabor e o aroma do chá verde estão associados principalmente aos polifenóis presentes que definem a adstringência e amargor do chá verde. Outros compostos como aminoácidos, catequinas, açúcares e degradação de carotenoides influenciam na doçura e produção de voláteis agradáveis durante o aquecimento. Compostos voláteis indesejáveis como o trans-2-hexenal podem também serem formados a partir da ação das lipases não inativadas sobre os ácidos graxos insaturados (LIMA et al., 2008; FIRMINO, 2011).

## 2.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO MATCHÁ

A busca de um melhor conhecimento dos efeitos do chá verde, vindo da sua complexa composição química, tem sido estudada através de métodos analíticos e quimiométricos. Os principais compostos presentes na *Camellia sinensis* são os polifenóis da classe dos flavonoides (flavan-3-óis), originados das epicatequinas e seus derivados, além dos ácidos como gálico e cumárico. Eles se encontram tanto nas folhas frescas como nas processadas (chás verde, *oolong* e preto), sendo exemplos destes compostos a miricetina, a quercetina e o kaempferol e seus respectivos glicosídeos, bem como ácidos fenólicos e taninos (KHAN; MUKHTAR, 2007). Durante o processo de oxidação para a produção dos chás, as enzimas polifenoloxidasas transformam as catequinas em teaflavinas (estrutura dímica), bisflavonóis e ácidos epiteaflavílicos, cuja posterior oxidação origina tearubiginas (SCOPARO, 2011).

A composição química dos chás difere pela sua concentração. No chá verde encontra-se alta concentração de catequinas que confere pela sua adstringência, amargor e baixo teor de teaflavinas (BRAIBANTE et al., 2014). Dentro da sua composição encontram-se compostos polifenólicos como Catequinas (C), Epicatequina (EC), Epicatequina galato (ECG), Epigalocatequina galato (EGCG) e Epigalocatequina (EGC) além de cafeína, clorofila, compostos voláteis, aminoácidos, carboidratos, proteínas, minerais, e oligoelementos entre outros. A EGCG constitui 50 a 80% das catequinas totais presentes no chá verde, as quais são

sensorialmente responsáveis pelo amargor, adstringência e propriedades benéficas à saúde (PAULI, 2015).

Labbé et al. (2008) analisaram o conteúdo de catequinas presentes em três marcas japonesas diferentes de chá verde, encontrando valores de 969,3, 853,8 e 934,6 µg/mL de bebida, respectivamente. Morais-de-Souza (2007) achou valores entre 57,6 e 104,17 mg EGCG.g<sup>-1</sup> de amostra. Em estudo realizado por Nishiyama et al. (2010), utilizando a erva a granel, foram encontrados valores de compostos fenólicos totais de, aproximadamente, 125 mg por grama de erva. Na Tabela 1, são apresentados os principais componentes bioativos encontrados em folhas de chá verde.

Tabela 1- Principais componentes bioativos do chá verde e suas proporções em % em peso seco

<b>Classe</b>	<b>Compostos relevantes</b>	<b>% peso seco</b>
Polifenóis	Catequinas, flavonoides, ácidos gálico e cumárico, taninos	20-30
Metilxantinas	Cafeína	3-5
Mínerais	Fluoreto	2-4
Aminoácidos	Teamina	1-4
Vitaminas	Ácido ascórbico	0,6-1

Fonte: Adaptada de Hilal (2017).

Tem-se comprovado que o consumo regular de chá verde traz benefícios fisiológicos para a saúde devido aos compostos bioativos presentes na sua composição. Dentre estes compostos bioativos presentes na *Camellia sinensis* destacam-se os polifenóis, principalmente catequinas e flavonoides, conhecidos pela sua ação como antioxidante, uso tópico para prevenção de fotoenvelhecimento provocado por radiação UV, ação anti-inflamatória, redução da glicemia e de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), controle do peso corporal, diminuição do risco de desenvolver hipertensão, doenças cardiovasculares e osteoporose (SENGER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010).

A atividade antioxidante das catequinas é caracterizada pela ação sequestradora de radicais livres, ação quelante de metais de transição como ferro e cobre, impedindo a formação de espécies reativas de oxigênio, tais como o radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e o radical hidroxila (OH<sup>-</sup>), além de ação inibidora da lipoperoxidação. Sua atuação consiste em transferir elétrons para as espécies reativas de oxigênio, estabilizando-as e

formando, com os radicais livres capturados, um radical flavínico, bem menos reativo. Destaca-se o papel regulador que a EGCG exerce sobre algumas enzimas relacionadas ao anabolismo e catabolismo lipídico, como a acetilCoA carboxilase, ácido graxo sintetase, lipase pancreática, lipase gástrica e lipoxigenase (SENGER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010; PAULI, 2015).

Wu et al. (2004a) demonstraram que o chá verde, incorporado na dieta de ratos, estimulava o ingresso da glicose aos adipócitos pela ação da insulina, aumentando a sensibilidade a este hormônio. O fato foi associado ao conteúdo dos polifenóis. Em outro estudo, observou-se que o chá verde diminuiu a resistência à insulina pelo aumento da atividade do transportador de glicose GLUT4 quando ratos eram alimentados com frutose. Consequentemente, não se observou um rápido aumento da glicemia, da insulina e da pressão arterial (Wu et al., 2004b).

Em estudos realizados por Chen et al. (2001) foi demonstrado que a concentração das catequinas é menor em bebidas industrializadas comparados ao chá tradicional por infusão. Sabe-se que bebidas prontas são submetidas a tratamento térmico com o objetivo de resistir ao armazenamento e aumentar a vida de prateleira, o que pode ter aumentado a instabilidade das catequinas.

O aquecimento a altas temperaturas pode ocasionar a epimerização das catequinas, dependendo das condições de aquecimento, alterando sua composição de forma qualitativa e quantitativa. Segundo Bazinet et al. (2010), as catequinas do chá verde são epimerizadas em aproximadamente 50% durante o tratamento térmico em bebidas prontas para o consumo, perdendo assim metade das suas propriedades benéficas.

## 2.2 DIABETES MELLITUS

*Diabetes mellitus* é uma doença crônica descrita por uma série de desordens metabólicas e caracterizada pela alta taxa de glicose no sangue (hiperglicemia), devido a que o corpo não produz insulina ou não consegue empregá-la adequadamente. A insulina é um hormônio produzido por células especiais, chamadas células betas, localizadas nos ilhotas de Langerhans do pâncreas, capaz de controlar a quantidade de glicose no sangue (ASMAT; ABAD; ISMAIL, 2016). A anomalia na produção ou ação da insulina origina-se a partir de condições genéticas e biológicas. Se não houver um controle adequado, o quadro clínico pode evoluir para complicações agudas como hiperglicemia com cetoacidose (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014). Segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) (2017), o Brasil possuía em 2015, 14,3 milhões de pessoas

diabéticas, ocupando o 4º lugar no mundo, tendo uma previsão de 23,3 milhões de casos em 2040.

Existem dois tipos de diabetes a Tipo 1 e a Tipo 2. No Tipo 1, há uma destruição autoimune das células beta do pâncreas. A maioria dos casos aparece na infância ou adolescência, pela qual é denominada Diabetes infanto-juvenil, podendo derivar em cetoacidose. Essa variedade é tratada com insulina (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2018a).

A Tipo 2 ou diabetes não insulino dependente é frequentemente detectada em adultos, sendo a maioria obesos. Neste caso, o organismo apresenta resistência à insulina ou produz insulina insuficiente para controlar a glicemia. O tratamento deste tipo de diabetes pode ser realizado apenas com atividades físicas e dieta alimentar. Dependendo da gravidade, o paciente deve ser tratado com hipoglicemiantes orais ou, em casos mais graves, com o uso de insulina (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2018a).

Em ambos os casos, é importante realizar o controle glicêmico periodicamente e a contagem de carboidratos ingeridos na dieta além de acompanhamento médico. Sem um tratamento adequado, a hiperglicemia pode favorecer o desenvolvimento de complicações, tais como nefropatias, neuropatias, retinopatia, aparecimento de feridas em membros inferiores com redução de sensibilidade o que pode levar à amputação (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2018b).

## 2.3 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

A espectroscopia na região do infravermelho vem sendo incorporada no controle da qualidade de produtos alimentícios, sendo utilizada como técnica analítica de compostos orgânicos (LIU; YU, 2016). A técnica baseia-se na vibração dos átomos nas moléculas, o que permite uma ampla diversidade de matrizes de interesse, apresentando-se precisa, rápida e segura (WOJCIECHOWSKI et al., 1998; SANSAL; SOMER, 1999; MORENO et al., 2002; CHEN et al., 2008).

Na região do infravermelho médio, cada grupo funcional orgânico origina bandas que ocorrem em frequências específicas, independentemente da estrutura da molécula. É justamente a presença dessas bandas características que permite-se fazer a identificação de estruturas (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2015). As variedades de substâncias bioativas encontradas no Matchá,

tais como os flavonoides e outros compostos, além das variações na sua composição são passíveis de serem identificados nos espectros na região do infravermelho médio (SIVAKUMAR et al., 2014).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste trabalho realizou-se uma pesquisa experimental, com elaboração de um doce com adição de Matchá, destinado à população diabética. Foram realizadas análises da composição proximal e espectrais na região do infravermelho médio, objetivando se há perda de catequinas pela ação do calor. As atividades de pesquisa foram iniciadas em 06 de agosto e finalizadas em 31 de outubro de 2018.

Foram adquiridas duas amostras do Matchá, uma de origem nacional e uma importada no comércio local. Antes da elaboração do doce, os dois tipos de Matchá foram analisados por espectroscopia na região do infravermelho médio para verificar qual dos dois apresentava o maior teor de catequinas.

A preparação do doce foi feita no Laboratório de Análise Sensorial (A301) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Londrina. Os ingredientes utilizados para a formulação do doce e suas respectivas quantidades estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2- Ingredientes e quantidades para a elaboração do doce

<b>Ingredientes</b>	<b>Quantidade</b>
Manteiga sem sal (g)	9,07
Leite condensado diet (g)	335
Água (mL)	10
Matchá (g)	9,37

Fonte: Autoria própria (2018).

Em panela antiaderente despejou-se a manteiga sem sal, o leite condensado diet e o Matchá dissolvido em água. A mistura foi homogeneizada por cerca de 20 minutos em fogo baixo. Após o término da cocção, os doces foram armazenados ainda quentes em recipientes de louça redondas e resfriados por 6 horas, a temperatura ambiente.



O doce foi guardado sob refrigeração (4 °C) até o momento de serem realizadas as análises, no Laboratório de Análise de Alimentos (B302) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Londrina. A determinação da composição proximal foi realizada em triplicata para cada análise e os resultados expressos como a média aritmética dos valores encontrados.

### 3.1 DETERMINAÇÃO DE UMIDADE

O método utilizado foi o de secagem em estufa 105 °C ( $\pm$  5 °C), baseado na remoção da água por aquecimento. Foi pesado 5 g das amostras do doce em triplicata e colocados em cadinhos de porcelana previamente secos e tarados. Os cadinhos contendo a amostra foram colocados em estufa, até peso constante. As amostras foram resfriadas à temperatura ambiente, em dessecador, tendo sua massa final determinada por diferença de peso (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). A partir deste valor foi calculada a porcentagem de umidade do doce.

### 3.2 DETERMINAÇÃO DE CINZAS

Para análise de cinzas da amostra foi pesado 5 g do produto em um cadinho previamente tarado. As amostras foram carbonizadas em bico de Bunsen até não eliminarem mais fumaça. As amostras carbonizadas foram submetidas ao processo de calcinação a 550 °C. A incineração foi considerada finalizada quando o material se tornou completamente branco ou cinza claro. A amostra foi resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). O teor de cinzas foi expresso em porcentagem.

### 3.3 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS

A análise do teor de proteína bruta foi baseada no processo microKjedahl, conforme as instruções do Manual de Normas do Instituto Adolfo Lutz (2008), utilizando o equipamento Tecnal TE 0363. Pesou-se aproximadamente 0,2 g da amostra, colocou-se 1 g da mistura catalítica (sulfato de cobre 95% + sulfato de potássio 5%) que acelera a oxidação da matéria orgânica e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado, em um tubo de microKjedahl. Agitou-se cuidadosamente para misturar a amostra. Colocou-se para digerir em um bloco digestor a 400 °C, para decomposição da matéria orgânica. Aqueceu-se o bloco digestor, a princípio

lentamente, mantendo a temperatura de 50 °C por 1 hora. A temperatura foi elevada gradativamente até atingir 350-400 °C. Após a digestão iniciou-se o processo de destilação. O sulfato de amônio obtido foi tratado com hidróxido de sódio (NaOH) 40%, ocorrendo a liberação de amônia (NH<sub>3</sub>).

Acoplou-se ao destilador o Erlenmeyer de 125 mL contendo 10 mL de solução de ácido bórico 2%, com 3 gotas da solução de indicador misto. A amônia liberada na reação foi coletada no frasco contendo ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) com o indicador, previamente adaptado ao conjunto da destilação. A solução contendo ácido bórico com o indicador que no início apresentava coloração vermelha adquiriu cor verde à medida que foi se formando o borato de amônio (NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>BO<sub>3</sub>).

A última etapa do processo correspondeu à titulação. O borato de amônio foi titulado com uma solução padrão de ácido clorídrico (HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>) padronizado, até a viragem do indicador, a partir do volume gasto até a viragem foi o cálculo para determinação de proteína, no qual foi usado o fator de conversão 6,38.

### 3.4 DETERMINAÇÃO DE LIPÍDIOS TOTAIS

Para a determinação de lipídios utilizou-se o método idealizado por Soxhlet, utilizando o extrator automático Soxtec 2050 da marca Foss, localizado no Laboratório Multiusuários (A303) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Londrina.

Para determinação, foi pesado 5 g da amostra do doce em papel filtro com as bordas amarradas para a extração de lipídios. Transferiu-se a amostra para o cartucho de extração de lipídios, fazendo a lavagem com solvente e iniciou-se a extração. Foi utilizado como solvente, éter de petróleo p.a (faixa de ebulição 30-60 °C). O equipamento foi programado da seguinte forma: temperatura de 135 °C e, nos estágios, tempos de 1 hora e 30 minutos para a primeira etapa e 45 minutos para a segunda. Ao final da extração, retirou-se os copos com o material extraído, esfriou-se em dessecador e foi feita a pesagem. O teor de lipídios foi expresso em porcentagem.

### 3.5 DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS TOTAIS

O teor de carboidratos totais foi calculado por diferença entre 100% e a soma das porcentagens de umidade, cinzas, proteínas e lipídios.

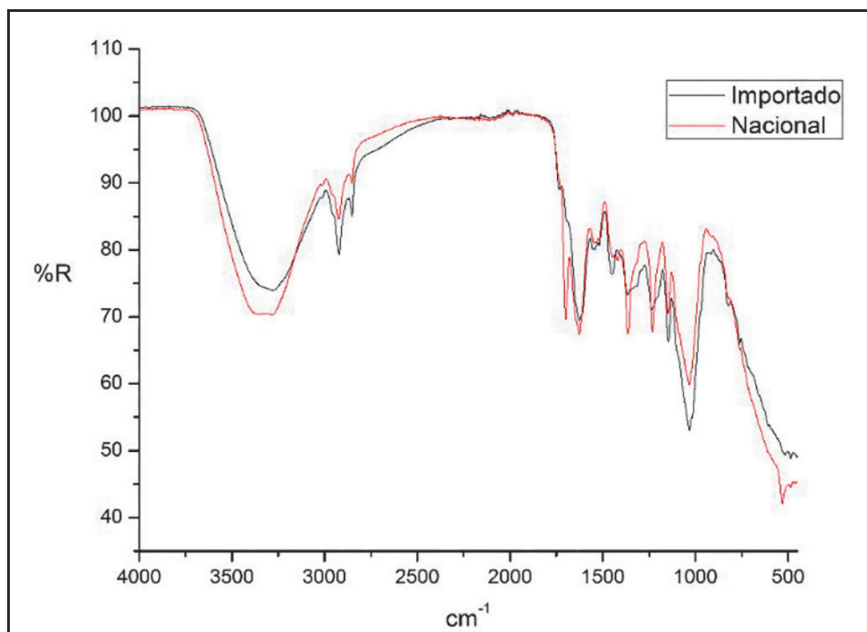
### 3.6 ANÁLISES NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO

No caso do doce elaborado, a análise nesta região foi realizada para comprovar se houve perda ou não de catequinas durante o processamento térmico na elaboração do produto. Os espectros na região do infravermelho ( $4000-450\text{ cm}^{-1}$ ) da matéria-prima (Matchá nacional e importado) e do doce foram obtidos com espectrômetro Perkin Elmer modelo UATR Two, usando acessório de refletância total atenuada (ATR) com janela de diamante e probe L160-1743, localizado no Laboratório K011 da UTFPR, câmpus Londrina. As medidas foram coletadas no modo reflectância, com 64 *scans* e  $4\text{ cm}^{-1}$  de resolução, utilizando o programa Spectrum. O programa Origin Pro 8 foi utilizado para processar os espectros.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta os espectros na região do infravermelho do Matchá nacional e importado.

Figura 1 – Espectros na região do infravermelho dos Matchá nacional e importado



Fonte: Autoria própria (2018).

Os dois espectros apresentam semelhanças ao longo da região analisada. A existência de uma banda larga na região entre 3100 e 3600  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída à presença de grupos O-H existentes nos polifenóis e catequinas além dos grupos N-H (MISTRY, 2009). As bandas em 2919 e 2856  $\text{cm}^{-1}$  correspondem ao estiramento da ligação C-H dos grupos  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$ , respectivamente, presentes nos compostos orgânicos tais como lipídios, cafeína e catequinas (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 1996). A banda a 1446  $\text{cm}^{-1}$  corresponde à deformação destes grupos além da banda a 1614  $\text{cm}^{-1}$ , correspondente ao estiramento simétrico do  $\text{CH}_2$  (MATSUURA, 2017).

O espectro do Matchá nacional apresenta uma banda a 1698  $\text{cm}^{-1}$ , ausente no Matchá importado. Esta banda caracteriza a presença do grupo carbonila que poderia ser atribuída a um aldeído conjugado com uma dupla ligação. A presença da dupla ligação conjugada desloca a banda do aldeído de 1725  $\text{cm}^{-1}$  para valores menores em 25 a 45  $\text{cm}^{-1}$  (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 1996). Isto poderia confirmar a presença do trans-2-hexenal no Matchá nacional, composto indesejável como citado por Firmino (2011).

A banda mais intensa próxima de 1030  $\text{cm}^{-1}$  pode ser atribuída à EGCG que, como foi citado, é a catequina mais abundante no Matchá. Outras bandas que podem ser atribuídas a este composto é a correspondente ao estiramento simétrico do  $\text{COO}^-$  a 1369  $\text{cm}^{-1}$  (MATSUURA, 2017).

A presença da banda mais intensa a 1030  $\text{cm}^{-1}$  no Matchá importado do que no nacional, indicando que o primeiro tem mais EGCG que o segundo, e a possibilidade de existência de trans-2-hexenal no Matchá nacional, determinaram a escolha do Matchá importado para a elaboração do doce.

A Tabela 3 apresenta os resultados da composição proximal do doce de Matchá.

Tabela 3- Composição proximal do doce de Matchá

<b>Parâmetros</b>	<b>Composição (%)</b>
Umidade	23,72 ± 0,02
Cinzas	2,76 ± 0,02
Proteína	0,99 ± 0,17
Lipídios Totais	4,78 ± 0,26
Carboidratos	68,71 ± 0,29

Fonte: Autoria própria (2018).

O teor de umidade do doce elaborado neste trabalho (23,72%) está próximo do valor encontrado por Begali et al. (2016) em brigadeiro tradicional (18,77%), elaborado com leite condensado tradicional, achocolatado em pó e margarina. A diferença pode ser devida a tempos de cocção diferentes, processo durante o qual a água se evapora. Os mesmos autores obtiveram 2,15% para o teor de cinzas. O valor maior encontrado neste trabalho (2,76%) pode ser atribuído aos minerais adicionados através do Matchá.

Em relação ao teor proteico, observou-se perda de proteína pois o leite condensado diet utilizado informava, no seu rótulo, o valor de 16,75 g de proteína, presentes nos 335 g do produto utilizado no preparo do doce (Tabela 1). Isto indica que, antes da cocção, a massa de doce continha 4,61% de proteína. O valor de 0,99% encontrado na análise indica que houve perda durante o processo de cocção, provavelmente envolvendo a reação de Maillard entre a proteína do leite e a lactose. O teor proteico do doce está próximo do encontrado por Mayer; Chagas; Bernardi (2019), que foi de 0,8% em brigadeiro industrializado.

Os lipídios são componentes orgânicos dos alimentos que, por conterem menos oxigênio que os carboidratos e as proteínas, fornecem taxas maiores de energias. Para diabéticos, recomenda-se a ingestão diária de até 30% do valor calórico total. Na composição proximal do doce de Matchá, os lipídios totalizaram 4,78%. Deste valor, apenas 10% será convertido em glicose quando consumido, de acordo com o Manual Oficial de Contagem de Carboidratos para as Pessoas com Diabetes da SBD (2018b). O mesmo Manual recomenda que a ingestão diária de carboidratos seja 50% a 60% do valor calórico total, correspondendo isto a 375 g de carboidratos por dia. O doce de Matchá apresentou 68,71% de carboidratos, que derivam da composição dos ingredientes utilizados para a sua formulação, na qual podem ser listados a lactose, os polióis (sorbitol e sucralose) e fibras provenientes do Matchá. A sucralose não é metabolizada pelo organismo, não influenciando, portanto, a glicemia o que a torna segura para os diabéticos. O sorbitol também não aumenta a taxa de glicose (GUERREIRO, 2007).

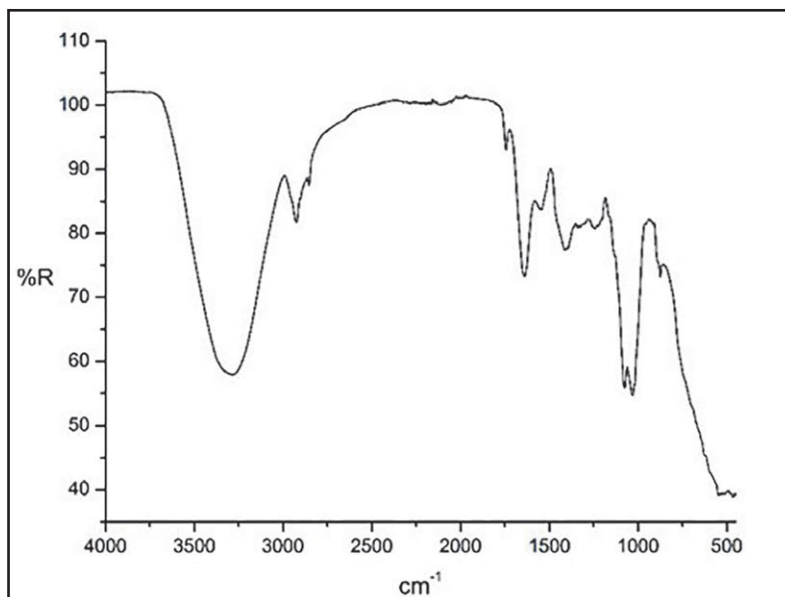
Desta maneira é importante fazer a contagem de carboidratos quando se utilize este doce para não ultrapassar a quantidade diária, além de realizar as análises glicêmicas em portadores de *Diabetes mellitus*, podendo demonstrar, mais precisamente o comportamento desses carboidratos no metabolismo.

A Figura 2 apresenta os espectros na região do infravermelho do doce elaborado com o Matchá importado. O objetivo da obtenção deste espectro foi verificar se há alteração no teor de EGCG durante o processo de cocção do doce. A presença da banda intensa a 1030  $\text{cm}^{-1}$  indica que este composto está presente

no doce praticamente sem alteração na sua quantidade. Isto garante que as propriedades desta catequina estarão presentes no produto.

A banda presente a  $1742\text{ cm}^{-1}$ , ausente nos espectros de Matchá, é atribuída à carbonila presente nos lipídios que foram introduzidos no doce através da manteiga e do leite condensado (DIMITRIĆ-MARKOVIĆ et al., 2001).

Figura 2 – Espectro na região do infravermelho do doce elaborado com Matchá importado



Fonte: Autoria Própria (2018).

## 5. CONCLUSÃO

O Matchá importado quando comparado ao nacional demonstrou possuir, por meio de análises espectroscópicas na região do infravermelho médio, maior teor de EGCG, fator que foi decisivo para a escolha do Matchá importado na elaboração do doce.

A composição proximal do doce elaborado apresentou teores de umidade e cinzas semelhantes aos do brigadeiro tradicional, apresentando perda de teor proteico. A quantidade de lipídios se apresentou baixa. No entanto, o elevado teor de carboidratos deve ser considerado quando este doce for incorporado numa refeição.

Para a análise do espectro, constatou-se que após a cocção do doce, as propriedades da EGCG não sofreram alterações.

Sugere-se que os dados obtidos neste trabalho sejam complementados com análise sensorial e acompanhamento da taxa de glicemia em portadores de *Diabetes mellitus*.

Ressalta-se a importância de dar continuidade a estudos de elaboração de produtos com Matchá sendo que foi comprovado que a EGCG não é destruída no processo térmico.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus. **Diabetes care**, USA, v. 37, n. 1, p. 581-590, 2014.

ANANINGSIH, V. K.; SHARMA, A.; ZHOU, W. Green tea catechins during food processing and storage: A review on stability and detection. **Food Res. Int.**, Amsterdam, v. 50, n. 2, p. 469-479, 2013.

ASMAT, U.; ABAD, K.; ISMAIL, K. Diabetes mellitus and oxidative stress – A concise review. **Saudi Pharm. J.**, Arábia Saudita, v. 24, p. 547-553, 2016.

BAZINET, L. et al. Effect of process unit operations and long-term storage on catechin contents in EGCG-enriched tea drink. **Food Res. Int.**, Amsterdam, v. 43, n. 6, p. 1692-1701, 2010.

BEGALI, D. O. et al. Características físicas e químicas do doce tipo brigadeiro com adição de casca de banana. **Braz. J. Food Res.**, Campo Mourão, v. 7, n. 3, p. 94-104, 2016.

BOIKO, L. **Breve história do chá no Japão**. 2011. Trabalho apresentado como requisito parcial para aprovação na Disciplina Cultura Japonesa II. Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

BRAIBANTE, M. E. F. et al. A Química dos Chás. **Quím. Nova Esc.**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 168-175, 2014.

CHEN, Q. et al. Nondestructive Identification of tea (*Camellia sinensis* L.) Varieties using FT NIR spectroscopy and Pattern Recognition. **Czech J. Food Sci.**, República Tcheca, v. 26, n. 5, p. 360-367, 2008.

CHEN, Z. et al. Degradation of Green Tea Catechins in Tea Drinks. **J. Agric. Food Chem.**, USA, v. 49, n. 1, p. 477-482, 2001.

DIMITRIĆ-MARKOVIĆ, J. M. et al. Study of the IR spectra of the copigments of malvin chloride with organic acids. **J. Serb. Chem. Soc.**, Sérvia, v. 66, p. 451-462, 2001.

FIRMINO, L. A. **Avaliação da qualidade de diferentes marcas de chá verde (*Camellia sinensis*) comercializadas em Salvador-Bahia**. 2011. 111f. Dissertação. (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal da Bahia, Bahia, 2011.

GUERREIRO, L. **Dossiê Técnico Adoçantes**. REDETEC – Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

HILAL, Y. Morphology, manufacturing, types, composition and medicinal properties of tea (*Camilla sinensis*). **J. Bas. Appl. Pl. Sci.**, USA, v. 1, n. 2, p. 107-116, 2017.

IBEROQUÍMICA. **Matchá extrato seco instantâneo**. Disponível em: <http://iberoquimica.com.br/Arquivos/Insumo/arquivo-113419.pdf>. Acesso em: 27 maio 2020.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 eds., 1 ed. Digital. São Paulo: IAL, 2008.

KHAN, N.; MUKHTAR, H. Tea polyphenols for health promotion. **Life Sci.**, USA, v. 81, p. 519-533, 2007.



LABBÉ, D. et al. Catechin stability of EGC- and EGCG- enriched tea drinks produced by a two-step extraction procedure. **Food Chem.**, Oxford, v. 111, p. 139-143, 2008.

LIMA, J. D. et al. Chá: aspectos relacionados a qualidade e perspectivas. **Ciênc. Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 4, p.1258-1266, 2008.

LIU, N.; YU, P. Recent Research and Progress in Food, Feed and Nutrition with Advanced Synchrotron-based SR-IMS and DRIFT Molecular Spectroscopy. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, Reino Unido, v. 56, n. 6, p. 910-918, 2016.

MARUKYU-KOYAMAEN CO. LTD. **Growing and processing of Matcha**. Disponível em: <http://www.marukyu-koyamaen.co.jp/about-tea/know-matcha.html>. Acesso em: 10 mar. 2018.

MATSUURA, E. N. **Espectroscopia no infravermelho como ferramenta para diferenciação de chá verde de agricultura orgânica e convencional**. 2017. 97f. Dissertação. (Mestrado em Bioengenharia) - Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2017.

MAYER, M.; CHAGAS, R. V.; BERNARDI, D. M. Brigadeiro de beterraba. **FAG Journal of Health**, Edição especial, Cascavel, p. 62, 2019.

MISTRY, B. D. **Handbook of Spectroscopy Data: Chemistry – UV, IR, PMR, CNMR and Mass Spectroscopy**. Jaipur, India: Oxford Book Company. 2009, 242 p.

MORAIS-DE-SOUZA, R. A. **Potencial antioxidante e composição fenólica de infusões de ervas consumidas no Brasil**. 2007. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciência, Área de Concentração Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

MORENO, I. et al. Propriedades físicas e composição química e bioquímica durante a maturação de queijo Prato de diferentes origens. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 57, n. 327, p. 270-273, 2002.

NISHIYAMA, M. F. et al. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 30, p. 191-196, maio 2010.

PAULI, E. D. **Análise exploratória de metabólitos extraídos das folhas de *Camellia sinensis* L. utilizando métodos quimiométricos.** 2015. 137f. Tese. (Doutorado em Química) -Curso de Doutorado em Química. Associação Ampla - UEL/UEPG/UNICENTRO, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction of Spectroscopy: A guide for students of organic chemistry.** 2. ed. Orlando, USA: Saunders College Publishing. 1996, 511 p.

SANSAL, Ü.; SOMER, G. Detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in food samples by FTIR. **Food Chem.**, Oxford, v. 54, n. 2, p. 259, 1999.

SCOPARO, C. T. **Análise dos polissacarídeos presentes em *Camellia sinensis* e desenvolvimento de cromatografia líquida bidimensional abrangente para compostos de baixa massa molecular.** 2011. 107f. Dissertação. (Mestrado em Ciências) - Bioquímica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

SENANAYAKE, S. N. Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications- A review. **J. Funct. Foods**, Amsterdam, v. 5, p. 1529-1541, 2013.

SENGER, A. E. V.; SCHWANKE, Carla H. A.; GOTTLIEB Maria Gabriela Valle. Chá verde (*Camellia sinensis*) e suas propriedades funcionais nas doenças crônicas não transmissíveis. **Sci. Medica**, Porto Alegre, v. 20 n. 4. p. 292-300. Porto Alegre, 2010.

SILVERSTEIN, R. N. et al. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** Rio de Janeiro: LTC, p. 70. 2015.

SIVAKUMAR, S. et al. FT-IR study of green tea leaves and their diseases of Arunachal Pradesh, North East, India. **The Pharmaceutical & Chemical Journal**, Índia, v. 1, n. 3, p. 17-24, 2014.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes 2017-2018**. São Paulo: Clannad, p.13. 2017.

\_\_\_\_\_. **Tipos de Diabetes**. Disponível em: <http://www.diabetes.org.br/publico/diabetes/diagnostico-e-tratamento>. Acesso em: 10 mar. 2018a.

\_\_\_\_\_. **Manual Oficial de Contagem de Carboidratos para as Pessoas com Diabetes**. Disponível em: <https://www.diabetes.org.br/publico/images/pdf/a-manual-carboidratos.pdf>. Acesso em: 04 nov. 2018b.

SONG, R. et al. Correlation between leaf age, shade levels, and characteristic beneficial natural constituents of tea (*Camellia sinensis*) grown in Hawaii. **Food Chem.**, Oxford, v. 133. p. 707-714, 2012.

WOJCIECHOWSKI, C. et al. Quantitative analysis of water-soluble vitamins by ATR-FTIR spectroscopy. **Food Chem.**, Oxford, v. 63, n. 1, p. 133, 1998.

WU, L. et al. Effect of green tea supplementation on insulin sensitivity in Sprague-Dawley rats. **J. Agric. Food Chem.**, USA, v. 52, n. 3, p. 643-648, 2004a.

WU, L. et al. Green tea supplementation ameliorates insulin resistance and increases glucose transporter IV content in a fructose-fed rat model. **Eur. J. Nutr.**, Darmstadt, v. 43, n. 2, p. 116-124, 2004b.

## **BISCOITO DOCE DE OKARA COM TOFU E FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS**

*Lívia Santos Tavares  
Neusa Fátima Seibel*

### **1. INTRODUÇÃO**

A soja é considerada um alimento funcional por sua composição quase completa, pois contém macromoléculas como proteínas, carboidratos e lipídios, além de vitaminas, diversos minerais e fitoquímicos importantes, como as isoflavonas, que auxiliam na redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas e degenerativas (ZAKIR; FREITAS, 2015). Os principais produtos derivados da soja consumidos pelos brasileiros são o extrato de soja, tofu e shoyu.

O extrato de soja é um produto de fácil obtenção, tem baixo custo e possui elevado valor nutricional. É elaborado a partir das etapas de maceração, drenagem e trituração dos grãos, seguido pela separação das porções extrato e *okara*, por filtração ou centrifugação. Da coagulação do extrato de soja obtém-se o tofu, um produto semelhante a um queijo branco, que possui em sua composição cerca de 50% de proteínas e 27% de lipídios e é livre de colesterol (SEIBEL, 2018). Sua adição em produtos traz enriquecimento de proteínas.

Biscoitos são altamente atrativos devido a sua boa aceitação sensorial (LAROSA et al., 2006). São obtidos pela “mistura de farinha(s), amido(s) e ou fécula(s) com outros ingredientes, submetidos a processos de amassamento e

cocção, fermentados ou não. Podem apresentar cobertura, recheio, formato e textura diversos” (BRASIL, 2005).

A adição de coprodutos como o *okara* na formulação de produtos pode trazer grande enriquecimento nutricional e funcional ao alimento desenvolvido. Segundo Seibel (2018), o *okara* seco contém entre 25,4% a 28,4% de proteínas, grande concentração de fibras alimentares insolúveis (40,2 a 43,6%), fibras alimentares solúveis que variam de 12,6 a 14,6%, proteínas (9,3 a 10,9%) e cerca de 3,8 a 5,3% de carboidratos solúveis.

Os frutooligossacarídeos (FOS) são carboidratos classificados como oligossacarídeos que têm ocorrência natural em produtos de origem vegetal. Possuem bons aspectos funcionais e tecnológicos. Os FOS são caracterizados como ingredientes e são GRAS (*Generally Recognized As Safe*). Ainda têm grandes benefícios à saúde humana, sendo considerados assistentes da flora intestinal (PASSOS; PARK, 2003).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e avaliar um biscoito doce de farinha de *okara* com tofu e frutooligossacarídeos.

## 2. SOJA

A soja (*Glycine max* [L.] Merrill) é uma planta herbácea pertencente à família *Leguminosa*, subfamília *Papilionoideae*, gênero *Glycine* L. Com mais de cinco mil anos de cultivo, a soja tem sua história originada na China, com muitas modificações tanto naturais como com a aplicação de várias tecnologias, a cultura evoluiu, resultando em aumento de produção em diversos países ocidentais (SEIBEL, 2018). Por ser um produto de alta demanda, a soja tem uma liquidez elevada e ainda apresenta preços considerados lucrativos para os produtores (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2018).

Segundo Brum et al. (2005), a soja teve sua importância econômica elevada quando seu cultivo começou a estimular as discussões sobre “pesquisa, tecnologia, agroindústria, cadeias produtivas e infraestrutura” no cenário brasileiro.

A soja é um alimento considerado funcional, e proporciona nutrientes necessários ao organismo e benefícios para a saúde, por conter cerca de 34% de proteínas, 20% de lipídeos, 30% de carboidratos, os quais incluem solúveis e insolúveis, além de apresentar isoflavonas, fitatos, saponinas, fitoesteróis, inibidores de protease, peptídeos de baixo peso molecular e diversos minerais e vitaminas do complexo B (O'TOOLE, 2016; PENHA et al., 2007).

Em sua composição, em geral, a soja apresenta elevado teor de proteínas que são consideradas superiores em qualidade em comparação a proteínas de outras fontes vegetais, por sua composição quantitativa de aminoácidos essenciais. Em sua parcela de lipídeos, 86% são ácidos graxos insaturados e, 60% desse valor são essenciais, como o linoleico e o linolênico. Os carboidratos dessa leguminosa são uma mistura de glicose, frutose e sacarose, fibras e os oligossacarídeos: rafinose e estaquiose (SEIBEL, 2018).

As vitaminas e os minerais são a menor parcela de nutrientes encontrados no grão de soja, ainda assim é fonte de vitaminas do complexo B (exceto a B12), sódio e potássio (SEIBEL, 2018). Já as isoflavonas da soja são fitoestrógenos por possuírem estrutura semelhante ao 17  $\beta$ -estradiol e têm a função de prevenir e/ou tratar doenças que são hormônio-dependentes como doenças cardiovasculares e osteoporose, além de reduzir os sintomas da menopausa (GENOVESE; LAJOLO, 2001).

Em 1999, o FDA (Food and Drug Administration), órgão regulamentador de alimentos estadunidense, reconheceu a funcionalidade da proteína da soja alegando que dietas contendo no mínimo 25 g de proteína de soja consumidos diariamente, fazendo parte de uma alimentação equilibrada, que contenha baixa quantidade de gorduras saturadas e colesterol, podem reduzir os riscos de doenças cardiovasculares (FDA, 1999; PENHA et al., 2007), no entanto, em 2017, o mesmo órgão regulamentador revogou provisoriamente a alegação de alimento funcional da soja, pois as atuais evidências científicas não suportam a declaração anterior (FDA, 2017). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), ainda considera a proteína da soja como um alimento funcional, utilizando-se da mesma alegação da FDA de 1999 (PENHA et al., 2007; SEIBEL, 2018).

A soja e seus derivados podem ser incorporados em uma variedade de produtos alimentícios, como biscoitos doces, bebidas à base de soja, kibe, *petit-suisse*, pão, pudim e maionese (LAROSA et al., 2006; BROCA et al., 2014; SEIBEL et al., 2015; ARDILES et al., 2016; PAVANELLO et al., 2016; SILVA et al., 2016; PAULO; SILVA, 2017). Os produtos não fermentados da soja mais comuns são o extrato de soja, tofu e *okara*, (SEIBEL, 2018).

## Extrato de soja e tofu

O extrato de soja é um produto obtido a partir da hidratação dos grãos em meio aquoso. A extração quando feita em temperaturas elevadas extrai

componentes nutricionais muito importantes, como a legumina, uma proteína semelhante à caseína encontrada no leite (PINTO; CASTRO, 2008).

A Resolução RDC nº 14 de 28 de junho de 1978 define extrato de soja como:

... produto obtido a partir da emulsão aquosa resultante da hidratação dos grãos de soja, convenientemente limpos, seguido de processamento tecnológico adequado, adicionado ou não de ingredientes opcionais permitidos, podendo ser submetido à desidratação, total ou parcial (BRASIL, 1978).

O extrato de soja é entre os produtos o que tem um maior destaque, por ser pronto para consumo, baixo custo, fácil obtenção e de alto valor nutritivo. Porém, apesar do alto valor nutritivo, o extrato de soja ainda não é muito aceito devido ao sabor e aroma desagradáveis desenvolvidos durante o processo de extração. Assim, na tentativa de reduzir este fator, são realizadas diversas tentativas de modificações em seu processo de obtenção que buscam a minimização desta característica indesejável (FELBERG et al., 2004).

Seibel (2018) descreveu os métodos de extração chinês, japonês, com maceração rápida e com maceração *overnight*. Um dos métodos mais utilizados é o que se utiliza de maceração rápida e é também descrito por Mandarino et al. (2003) em que a obtenção do extrato de soja é realizada pela inativação da enzima lipoxigenase em água na proporção de 1:5 (soja:água), e maceração sob fervura (1:10 soja:água), cada etapa durante 5 minutos. Os grãos e a água da maceração são triturados em temperatura ambiente por 90 segundos em liquidificador industrial. A massa obtida deve ser filtrada em peneira de 40 mesh para separar o extrato de soja do resíduo, o *okara*.

O extrato de soja apresenta em sua composição aproximadamente 93% de água, mínimo de 3% de proteínas, 1% de lipídeos, máximo de 2,8% de carboidratos de 0,6% de proteínas (MAIA; ROSSI; CARVALHO, 2006). O extrato de soja pode ser utilizado na fabricação de bebidas por seu grande valor nutricional agregado e não conter lactose e colesterol, sendo um produto ideal para consumidores com intolerâncias ao leite e necessidades de redução do LDL colesterol (BRUNELLI; VENTURINI FILHO, 2012).

Outro uso bastante comum do extrato é a produção de tofu, um produto que se assemelha a um queijo branco macio e pode ser definido como um extrato de proteínas de soja coagulado com sal ou ácido, contendo água, lipídeos e alguns outros nutrientes que ficaram presos na rede proteica (O'TOOLE, 2016).

Para a produção de tofu podem ser utilizados diversos tipos de coagulantes, como o Cloreto de Magnésio ( $MgCl_2$ ), o Sulfato de Cálcio ( $CaSO_4$ ) e a

Glucona-Delta Lactona (GDL), por exemplo (O'TOOLE,2016). Cada coagulante possui uma função específica que irá conferir ao tofu uma característica diferencial. A utilização de Cloreto de Magnésio produzirá um tofu mais firme e com menor capacidade de retenção de água (CRA), pois o coagulante tem reação rápida; já o Sulfato de Cálcio é de dissolução lenta, produzindo um tofu mais macio e com maior CRA (DANIELS, 2015).

O tofu pode ser comumente dividido em três tipos, a depender de sua textura: macio (*silken*), firme (*momen*) e extra firme. O tofu tipo *silken*, possui cerca de 88-90% de água em sua composição e 6% de proteínas (O'TOOLE, 2016). O tofu firme é resultante da drenagem do soro e prensagem dos coágulos em molde e o extra firme apresenta-se mais compacto, devido à maior força de prensagem (GURUNAVI, 2016).

## Okara

*Okara* é o produto resultante da soja triturada após a separação da fração aquosa solúvel utilizada para a produção do extrato de soja e do tofu (O'TOOLE, 1999). Diversos nomes para este produto podem ser encontrados na literatura como, *draff*, *tofukasu*, *soy pulp*, *douhza* (Chinês), *bejee* (Coreano) e até mesmo *tempe gembus* (Indonésio) (O'TOOLE, 1999; VONG; LIU, 2016).

Este produto vem ganhando cada vez mais destaque como um uso alternativo para a incorporação na alimentação humana e animal, apesar de poder apresentar o chamado *beany flavor*, a depender da forma de obtenção do *okara* (VONG; LIU, 2016). Na China, a partir da produção do tofu, anualmente, 2.800 toneladas de *okara* úmido são geradas, causando grandes problemas de descarte. Às vezes é utilizado para a alimentação animal, porém a maior parte é queimada como descarte (LU; LIU; LI, 2013).

Lu, Liu e Li (2013) afirmaram que o *okara* possui bioatividades que podem ajudar na prevenção de diabetes, hiperlipidemia e obesidade. Assim, ele pode ser utilizado como um ingrediente funcional com atributos promotores da saúde. O *okara* quando recém-obtido, contém grande quantidade de água, tornando-se um produto de rápida deterioração (VONG; LIU, 2016). Quando seco, o *okara* pode conter cerca de 50% fibras dietéticas, 25% de proteínas e 10% de lipídios, podendo ser considerado fonte destas fibras por ser sua maior constituinte e ter baixo custo (LU; LIU; LI, 2013). O *okara* seco pode ser utilizado como um ingrediente a ser incorporado em diversos produtos alimentícios, especialmente os que são assados (VONG; LIU, 2016).



## 2.1 FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS

Os frutooligossacarídeos (FOS) são oligossacarídeos de evento espontâneo em produtos vegetais, não sendo um tipo de açúcar tradicional. Eles são encontrados em diversas concentrações e estão inseridos na classe dos frutanos, fibras solúveis que se constituem de 1 a 70 unidades de frutose, que podem ou não estar ligados a uma molécula terminal de sacarose. Estas fibras não são digeríveis pela enzima  $\alpha$ -amilase e outras como a sacarase, a maltase e a iso-maltase, no trato gastrointestinal superior, composto por boca, faringe, esôfago e estômago (PASSOS; PARK, 2003; SAAD, 2006; SABATER-MOLINA et al., 2009; VIEIRA, 2014).

Apresentando-se como um pó branco, amorfo e higroscópico, os FOS têm sua solubilidade na faixa de 6% (m/V) quando em água a 10 °C, e pode aumentar para 35% (m/V) quando misturado em água a 90 °C. Essa mistura diminui o ponto de congelamento da água e também aumenta seu ponto de fusão (VIEIRA, 2014).

Podendo ser considerado como um prebiótico, os FOS têm efeito de fibra solúvel no organismo humano, também ajudando a aumentar o nível de bifidobactérias, bactérias anaeróbicas que atuam como probióticos (MONTAN, 2003). Tendo a capacidade de promover o crescimento e a estabilização dos probióticos, os FOS conseguem simultaneamente inibir o crescimento de bactérias patogênicas como *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens* (PASSOS; PARK, 2003).

Além dessas características, o FOS possui baixa carcinogenicidade, melhoria da absorção de minerais e diminuição dos níveis de colesterol sérico, fosfolípidios e do triacilglicerol (SABATER-MOLINA et al., 2009).

Segundo a revista Food Ingredients Brasil (2011), os FOS têm características como melhor solubilidade que a sacarose, 1/3 do poder adoçante da mesma, não cristalizam e não deixam a sensação de boca seca, permitindo assim aplicação tecnológica em diversos tipos de alimentos.

O consumo adequado de FOS, cerca de 10-12,5 g diários, traz um equilíbrio na flora intestinal, pois eles funcionam como prebióticos, aumentando o volume da massa microbiana resultante de sua fermentação, aumentando também a frequência de evacuação, os reafirmando dentro da classe de fibras (SAAD, 2006).

## 2.2 BISCOITOS

Em conformidade com a RDC nº 263, de 22 de setembro de 2015, biscoitos são “os produtos obtidos pela mistura de farinhas, amidos e ou féculas com outros ingredientes, submetidos a processos de amassamento e cocção, podendo ser fermentados ou não”, e podem se apresentar nas mais diversas formas, podendo ser recheados ou não (BRASIL, 2005).

Os biscoitos têm boa aceitação entre jovens e adolescentes e possuem atrativos para os produtores como, grande consumo e estendida vida de prateleira (LAROSA et al., 2006). Por possuir boa comercialização, a adição de novos ingredientes nos biscoitos pode aumentar seu valor nutricional sem perder sabor (FARINELI, 2014).

Os biscoitos são um bom veículo para a utilização de farinhas mistas, e para a substituição de farinhas, devem apresentar massa adequada, não sendo extremamente elástica. O nível de substituição de farinhas deve estar relacionado ao tipo e qualidade da farinha que se pretende incorporar, o tipo do biscoito, a formulação e o modo de preparação, que é praticamente a mesma para todos os biscoitos, constituindo de mistura, modelagem, cozimento, resfriamento e acondicionamento (RIBEIRO, 2014).

## 3. METODOLOGIA

Trata-se de um projeto de caráter experimental, dispondo de dados quantitativos, que envolvem a elaboração de dois tipos de biscoitos, um contendo somente *okara* em sua formulação e outro adicionado de tofu e FOS. Os ingredientes para a formulação dos biscoitos foram adquiridos no comércio local da cidade de Londrina/PR. A soja (*Glycinemax L. Merril*) usada foi da variedade BRS 232, safra 15/16, Ponta Grossa/PR, e os frutooligossacarídeos foram adquiridos no *site* NewNutrition. Todo o experimento foi realizado nos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina.

### 3.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO DE SOJA, DO OKARA E TOFU

O extrato de soja foi obtido seguindo a metodologia descrita por Seibel (2018) a qual se baseia na inativação enzimática, seguida de maceração *overnight*, trituração a 90 °C e a separação do extrato líquido do *okara*. O *okara*

obtido foi desidratado em estufa com circulação de ar a 60 °C, até umidade de 12% e depois foi triturado em moedor de café até a obtenção de farinha, a qual foi classificada em peneira de 40 *mesh* e acondicionada em embalagem plástica e armazenada sob refrigeração até o momento de sua utilização.

O tofu foi produzido utilizando-se de 0,5% de Sulfato de Magnésio em relação ao extrato de soja. O extrato foi aquecido a 75 °C e adicionado o coagulante diluído em água também aquecida, foi misturado rapidamente para que todo o extrato pudesse entrar em contato com o coagulante e colocado para descansar por 30 minutos. Os coágulos formados foram cortados utilizando-se de faca de aço inoxidável. Em seguida foi realizada a drenagem do soro em forma específica e aplicada pressão (DANIELS, 2015), para que se resultasse em um tofu do tipo *momen*.

### 3.2 ELABORAÇÃO DOS BISCOITOS

Foram elaborados dois tipos de biscoitos, um com uma formulação padrão adaptada de Farinelli et al. (2014), onde substituiu-se o polvilho doce por farinha de *okara*, e uma formulação contendo FOS e tofu. A Tabela 1 mostra as quantidades dos ingredientes em cada formulação.

Tabela 1 – Formulações dos biscoitos(g)

<b>Ingredientes</b>	<b>Formulação Padrão</b>	<b>Formulação 1 (F1)</b>
Ovos	50	50
Margarina	20	20
Açúcar	50	20
Farinha de trigo	100	100
Fermento químico em pó	5	5
Farinha de <i>Okara</i>	25	25
FOS	--	30
Tofu	--	50
<b>TOTAL</b>	<b>250</b>	<b>300</b>

-- ausência do produto

Fonte: Autoria própria (2018).

Após a separação e pesagem de cada ingrediente, prosseguiu-se com a homogeneização dos ovos com o açúcar e a margarina. Foram acrescentados a farinha de *okara* e a farinha de trigo e misturados à mão. Para a formulação padrão, prosseguiu-se com a adição de fermento químico em pó e para a formulação contendo FOS e tofu, adicionou-se o fermento químico, o FOS e o tofu, e a mistura foi realizada manualmente para incorporação total dos ingredientes. Cada biscoito foi pesado com 10 g e moldado. Foram assados a 180 °C por 10 minutos em forno industrial.

### 3.3 ANÁLISES PARA CARACTERIZAÇÃO DOS BISCOITOS

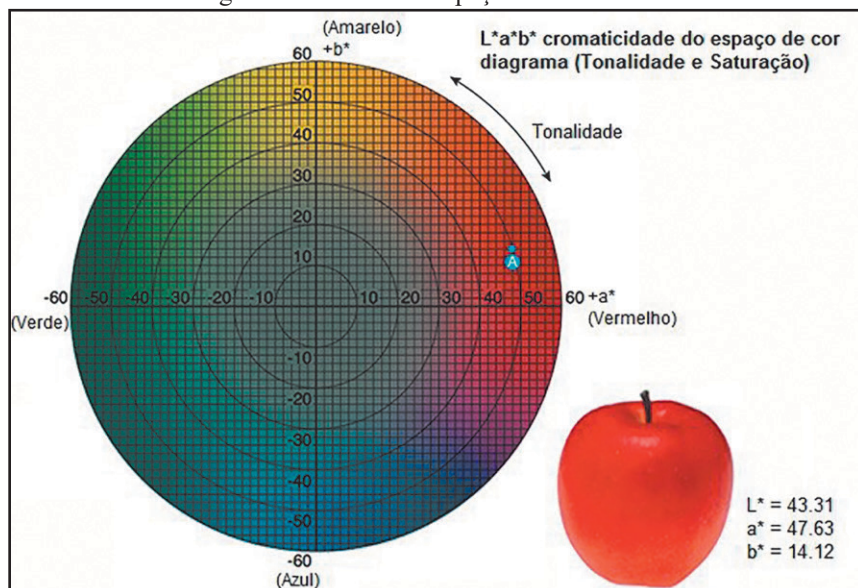
Todas as análises foram realizadas seguindo a metodologia da AOAC (1995) e realizadas para as duas formulações de biscoitos. As amostras foram coletadas em triplicata e determinou-se umidade por secagem em estufa a 105 °C com circulação de ar, proteínas pelo método de Kjeldahl utilizando o fator de correção 6,25; fibras foram quantificadas utilizando o kit enzimático SIGMA, lipídeos foram determinados pelo método de Soxhlet com éter de petróleo 30-60 °C; cinzas foram quantificadas por incineração da amostra seguida de mufla a 550 °C e os carboidratos foram calculados por diferença.

As análises de pH e acidez total titulável foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Adolfo Lutz (2005), em triplicata, utilizando o potenciométrico para pH, e para a acidez, uma suspensão do produto com água destilada para a titulação. A atividade de água ( $A_w$ ) dos biscoitos foi determinada a 25 °C $\pm$ 1 utilizando o higrômetro elétrico de medida direta (AQUALAB 4TE, Decagon CX-2, Pullman, Estados Unidos) aferido com água destilada.

A análise de expansão foi realizada nos biscoitos modelados ainda crus e também depois de assados, aleatoriamente em número correspondente à metade da produção, utilizando um paquímetro para as medições.

A análise de cor foi realizada utilizando-se um colorímetro digital (KONICA MINOLTA – Chroma Meter CR-400) em três pontos diferentes de cada amostra, em triplicata. O sistema de avaliação utilizado foi o CIELAB da Commission Internationale de l’Eclairage, que utiliza a avaliação do espaço de cor  $L^*a^*b^*$ , que correlaciona os valores de cor com a percepção visual. Para que a cor avaliada seja objetiva, é preciso ordená-las em termos de tonalidade, luminosidade e saturação, através de escalas (KONICA MINOLTA, 2018).

Figura 1 – Gráfico de espaço de cor CIELAB



Fonte: Konica Minolta (2018).

As análises microbiológicas realizadas foram de *Salmonella* sp., coliformes a 45 °C, *Staphylococcus aureus* coagulase positiva e bolores e leveduras. Todas as análises foram realizadas seguindo a metodologia descrita por Apha (2001) e para *Salmonella* sp. foi utilizado o método ISO 6579 (2007). Os resultados foram comparados com o padrão microbiológico descrito na Resolução 12/2001 (BRASIL, 2001).

A análise sensorial foi realizada por aceitação sensorial, para avaliar todos os atributos sensoriais presentes no produto, sendo eles: aroma, cor, sabor textura e aceitação global. Essa análise foi realizada seguindo a metodologia proposta por Dutcosky (2011) com 95 julgadores não treinados. Os julgadores voluntários foram orientados quanto à pesquisa e assinaram um termo de consentimento esclarecido (TCLE) antes do teste voluntário. A inclusão para participação desta análise sensorial foi aberta a todos os participantes acima de 18 anos de todos os gêneros, alunos e servidores da UTFPR Câmpus Londrina.

### 3.4 TRATAMENTO DOS DADOS

Os dados obtidos foram avaliados pelo *software* Statistica TM versão 10.0 demo da TIBCO® (Palo Alto, CA), por meio da técnica de Análise de Variância

(ANOVA) e o teste de comparação de médias t de Student ao nível de significância de 5%.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato de soja obtido teve rendimento de 75% com diluição 1:10 (soja:água), em relação à quantidade inicial de 1000 g de soja limpa e seca, gerando 12,24% de *okara* úmido, o qual após a secagem rendeu 2,87%. Segundo Larosa et al. (2006), um quilo de soja pode render de 6 a 9 litros de extrato e cerca de 700 gramas de *okara* úmido. Daniels (2015) encontrou média de 77,42% para o extrato da mesma variedade de soja (BRS 232), e Pereira (2013) obteve rendimento médio de 72,72% para o extrato de soja centrifugado com diluição 1:10 e 66,65% para o extrato não centrifugado com a mesma diluição. Para o rendimento do *okara* a quantidade foi de 4,94% e 6,54% para o extrato com diluição 1:10, com centrifugação e sem centrifugação, respectivamente.

O tofu quando relacionado ao extrato de soja (ES), obteve um rendimento de 14,19%, que foi de 7,5 L; já quando comparado ao grão, o rendimento do tofu foi de 106,4%, considerando a utilização de 1000 g de grãos de soja limpos e secos. O rendimento encontrado para o tofu foi semelhante aos valores encontrados na literatura. Daniels (2015) relatou 14,68% de rendimento, em relação ao extrato de soja, utilizando Cloreto de Magnésio como coagulante e 13,30% de rendimento, em relação ao extrato, com o coagulante Sulfato de Cálcio. Cai et al. (1997) encontraram um rendimento que variou de 229 a 552 g de tofu para cada 100 g de soja crua. Lu, Carter e Chung (1980) obtiveram 225 g de tofu para cada litro de extrato coagulado com Sulfato de Cálcio e 210 g para o extrato coagulado com Glucona- $\delta$ -lactona, enquanto Benassi, Yamashita e Prudêncio (2011) encontraram uma variação de 173 a 308 g de tofu para cada 100 gramas de soja crua.

A Tabela 2 mostra a composição proximal de cada formulação de biscoito elaborado. A umidade encontrada para a formulação Padrão foi de 15,98% e para a F1 foi de 21,32%. Houve diferença estatística significativa, onde a F1 apresentou a maior média. Esse aumento de umidade de uma amostra em relação à outra se deve ao fato de a formulação padrão não possuir em sua composição tofu e FOS, dois ingredientes que possuem grande capacidade de retenção de água (YANG et al., 2007; MUDGIL; BARAK, 2013; LI et al., 2014).

Tabela 2 – Composição proximal dos biscoitos elaborados (%)

Formulações	Análises				
	Umidade	Cinzas*	Proteínas*	Lipídeos*	Carboidratos*
<b>Padrão</b>	15,98 ± 0,53 <sup>b</sup>	1,88 ± 0,04 <sup>a</sup>	10,91 ± 0,19 <sup>b</sup>	12,82 ± 2,05 <sup>a</sup>	58,41
<b>F1</b>	21,32 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,83 ± 0,02 <sup>a</sup>	12,83 ± 0,13 <sup>a</sup>	12,36 ± 1,32 <sup>a</sup>	51,66

Média em triplicata ± desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferiram entre si pelo teste t de Student ( $p \leq 0,05$ ). Carboidratos calculados por diferença. (\*) valores expressos em base seca.

Fonte: Autoria própria (2018).

Farinelli et al. (2014) encontraram valores de 6,59% e 10,69% de umidade em seus biscoitos padrão e com adição de casca de banana, respectivamente. Já Ribeiro (2014), encontrou o valor de 9,20 g/100 g em biscoitos contendo farinha de soja.

Os biscoitos produzidos neste estudo ficaram com os valores de umidade acima do máximo de 15% exigido pela RDC nº 263 de 22 de setembro de 2005, mostrando que, para a comercialização, os biscoitos ainda não estão aptos, necessitando maior tempo de forno ou ajustes na formulação.

Os valores de cinzas encontrados foram de 1,88% para a formulação Padrão e 1,83% para a F1, não apresentando diferença estatística significativa. Esses valores foram próximos aos encontrados por Larosa et al. (2006) para a formulação padrão (1,83%) e menores para a formulação contendo 40% de farinha de *okara* (2,95%), pois a farinha tem um teor de umidade menor ao tofu utilizado neste trabalho e, portanto, o teor dos seus compostos sólidos é maior.

Para proteínas, o valor encontrado foi de 10,91% e 12,83% nas formulações Padrão e F1, respectivamente. Os dois valores apresentaram diferença estatística significativa, sendo a maior quantidade de proteínas atribuída a F1, devido à presença de tofu na formulação, cujo produto é tradicionalmente conhecido como uma fonte proteica. Silva et al. (2015) notaram um aumento na porcentagem proteica de biscoitos formulados com farinha de semente de abóbora, conforme o aumento desta na formulação, sendo que a formulação contendo a menor quantidade de farinha de abóbora apresentou o valor de 13,36 g/100 g de proteínas e a formulação com maior quantidade dessa farinha apresentou o valor de 22,04 g/100 g. Larosa et al. (2006) encontraram o valor de 20,84% de proteínas para o biscoito contendo 40% de farinha de *okara* em comparação com a formulação padrão, que foi de 12,94%.

Os valores de lipídeos encontrados foram de 12,82% para a formulação Padrão e de 12,36% para a F1, sem diferença estatística entre eles. Os resultados estão inferiores aos valores encontrados por Ribeiro (2014) em biscoitos elaborados com farinha de soja, cujo teor lipídico foi 17,97 g/100 g, e Farinelli et al. (2014) que analisaram biscoitos contendo casca de banana, determinando 12,39% de lipídeos e nos biscoitos da formulação padrão encontraram 15,63%, com diferença estatística significativa entre as formulações. No entanto, Larosa et al. (2006) encontraram 9,16% de lipídeos para os biscoitos elaborados com 40% de farinha de *okara*, valor menor que o determinado neste trabalho.

As duas formulações não diferiram estatisticamente entre si quanto ao teor de fibras insolúveis, fibras solúveis e fibras totais (Tabela 3). Os valores encontrados para as fibras totais nos biscoitos elaborados foram muito próximos, 9,87% para a formulação Padrão e 9,75% para a F1, mas as fibras solúveis apresentaram um percentual maior na formulação F1, a qual se deve à presença dos frutooligossacarídeos (FOS) nesses biscoitos, cujo ingrediente representou 10% do total da formulação. Os FOS são considerados como um prebiótico, pois têm efeito de fibra solúvel no organismo humano e também ajudando a aumentar o nível de bifidobactérias, bactérias anaeróbicas que atuam como probióticos (MONTAN, 2003). Tendo a capacidade de promover o crescimento e a estabilização dos probióticos, os FOS conseguem simultaneamente inibir o crescimento de bactérias patogênicas como *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens* (PASSOS; PARK, 2003).

Tabela 3 – Fibras alimentares dos biscoitos elaborados (%)\*

Formulações	Fibras Insolúveis	Fibras Solúveis	Fibras Totais**
Padrão	9,38 ± 0,89 <sup>a</sup>	0,49 ± 0,34 <sup>a</sup>	9,87 ± 0,56 <sup>a</sup>
F1	8,40 ± 1,01 <sup>a</sup>	1,35 ± 0,16 <sup>a</sup>	9,75 ± 0,84 <sup>a</sup>

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais, em coluna, não diferiram entre si pelo teste t de Student ( $p \leq 0,05$ ). (\*) Valores expressos em base seca e desengordurada. (\*\*) Fibras totais= soma das frações solúvel e insolúvel.

Fonte: Autoria própria (2018).

Catarino (2016) encontrou porcentagens de fibras totais menores, de 4,01%, 4,48% e 5,54% para as formulações Padrão, Formulação 1 e 2, respectivamente, em biscoito contendo casca de maracujá. O mesmo foi relatado por Larosa et al. (2006), que encontraram 4,77% e 7,75% para as formulações controle e com 40%



de farinha de *okara*, respectivamente. Em contrapartida, Yoshida et al. (2014) encontraram valores de fibras totais maiores que neste trabalho, ao avaliar *cookies* contendo 50% de *okara* (12,49%).

Todas as diferenças apresentadas na composição dos biscoitos elaborados neste trabalho com os dados da literatura se devem aos diferentes ingredientes utilizados, ou de suas quantidades usadas nas formulações. Mesmo assim, ambos os biscoitos elaborados, contendo ou não FOS e tofu, contêm o valor mínimo de 6 g/100 g de produto preparado, exigido pela ANVISA, para ser considerado 'alimento fonte de fibras', o que provavelmente é devido à incorporação da farinha de *okara* nas formulações.

A Tabela 4 mostra os resultados obtidos nas análises de pH, acidez total titulável e atividade de água (*Aw*), onde foi verificada diferença estatística significativa em todas essas determinações. O biscoito padrão apresentou valor de pH de 9,01 e a amostra F1 apresentou pH de 8,45, caracterizando-se como um alimento básico, o que foi comprovado pela análise de acidez total titulável, com valores de 0,11% e 0,06%, para a amostra Padrão e F1, respectivamente. Esses resultados estão coerentes com os ingredientes utilizados nas formulações, já que não houve a incorporação de nenhum ingrediente com pH baixo, considerado ácido.

Tabela 4 – Análises físico-químicas dos biscoitos elaborados

Formulações	pH	Acidez Total Titulável (%)	Aw
Padrão	9,01±0,02 <sup>a</sup>	0,11±0,01 <sup>a</sup>	0,7411±0,0040 <sup>b</sup>
F1	8,45±0,02 <sup>b</sup>	0,06±0,01 <sup>b</sup>	0,8202±0,0004 <sup>a</sup>

Médias ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferiram entre si pelo teste t de Student ( $p \leq 0,05$ ).

Fonte: Autoria própria (2018).

Os valores para atividade de água (*Aw*) dos biscoitos foi de 0,7411 na amostra Padrão e 0,8202 na F1, representando um alimento perecível, pois a maioria das moléculas de água não está ligada química ou fisicamente e encontra-se livre, sendo estas passíveis de serem utilizadas em reações químicas, enzimáticas e no desenvolvimento de micro-organismos. A *Aw* dos biscoitos classifica-se como alta, sendo assim, esses alimentos deverão ser acondicionados corretamente para evitar alterações e seu prazo de validade poderá ser relativamente curto. Já que somente produtos com  $Aw < 0,6$  são considerados microbiologicamente estáveis (FOOD SAFETY BRASIL, 2016).

A Tabela 5 apresenta os valores obtidos pelas características de expansão. As medidas do diâmetro antes do forneamento (DAF), diâmetro depois do forneamento (DDF) e de espessura (E) dos biscoitos apresentaram diferença significativa. Os maiores valores são atribuídos à formulação Padrão, que se explica por não haver em sua composição a presença de tofu, que contém mais água, e durante o assamento essa é vaporizada. Porém, o Fator de Expansão (FE) não apresentou diferença estatística significativa.

Tabela 5 – Características de expansão dos biscoitos elaborados

Formulações	DAF <sup>1</sup> (cm)	DDF <sup>2</sup> (cm)	E <sup>3</sup> (cm)	FE <sup>4</sup>
Padrão	3,10 ± 0,12 <sup>aB</sup>	3,51 ± 0,13 <sup>aA</sup>	2,14 ± 0,10 <sup>a</sup>	1,64 ± 0,11 <sup>a</sup>
F1	3,01 ± 0,11 <sup>bB</sup>	3,35 ± 0,20 <sup>bA</sup>	2,03 ± 0,36 <sup>b</sup>	1,65 ± 0,26 <sup>a</sup>

Média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais, em coluna, não diferiram entre si e médias seguidas de letras maiúsculas iguais, em linha, não diferiram entre si pelo teste t de Student ( $p \leq 0,05$ ). DAF<sup>1</sup>= diâmetro antes do forneamento. DDF<sup>2</sup>= diâmetro depois do forneamento. E<sup>3</sup>= espessura. FE<sup>4</sup>= fator de expansão (DDF/E).

Fonte: Autoria própria (2018).

Feddern et al. (2011) encontraram valores de Fator de Expansão de 2,11 para o biscoito com 45% de farelo de trigo, enquanto Larosa et al. (2006) encontraram valor de 4,58 para os biscoitos com 40% de farinha de *okara* e o valor de 3,76 para o biscoito controle. Ambos os estudos obtiveram resultados superiores aos encontrados nesta pesquisa. Os autores Pinto, Malta e Cruz (2012) encontraram valores menores, sendo de 0,33, 0,39, 0,37 e 0,32 para os biscoitos Controle, e com adição de 10%, 15% e 20% de farinha de castanha de caju, respectivamente.

A Tabela 6 mostra os valores encontrados para a análise de cor dos biscoitos. Os parâmetros avaliados foram L\* (luminosidade), a\* (vermelho/verde) e b\* (amarelo/azul). Os resultados obtidos para L\* foram de 66,59 e 67,06 para as amostras do biscoito Padrão e F1, respectivamente. Para a\* os resultados foram de 11,93 para o biscoito Padrão e 11,71 para F1 e, para b\*, os resultados foram de 35,86 e 30,69 para as amostras Padrão e F1, nesta ordem.

Tabela 6 – Análise de cor dos biscoitos elaborados

Parâmetros	Padrão	F1
L*	66,59± 4,32 <sup>a</sup>	67,06±5,52 <sup>a</sup>
a*	11,93±2,04 <sup>a</sup>	11,71± 2,40 <sup>a</sup>
b*	35,86± 0,84 <sup>a</sup>	34,69±1,73 <sup>b</sup>

Médias ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma linha não diferiram entre si pelo teste t de Student ( $p \leq 0,05$ ).

Fonte: Autoria própria (2018).

Para os parâmetros L\* e a\* avaliados, não houve diferença estatística significativa, somente para o parâmetro b\*. Essa diferença pode ser explicada pela ausência de tofu e FOS, dois produtos que retêm bastante água, retardando o processo de caramelização e de reação de Maillard. Os biscoitos podem ser classificados como alimentos claros com a coloração amarela avermelhado, de acordo com os valores encontrados pelos parâmetros L\*, a\* e b\*, respectivamente.

Larosa et al. (2006) encontraram valores de 67,85 para L\*, 6,24 para a\* e 30,81 para b\*, em biscoito com 40% de farinha de *okara*. Para os biscoitos controle, o valor de L\* foi de 72,14, b\* foi de 3,24 e a\* foi de 29,81. Os autores Perez e Germani (2007) encontraram os valores de 45,95, 46,12 e 38,05 para o parâmetro L\*, 9,03, 8,94 e 10,42 para o parâmetro a\*, e 20,73, 20,55 e 18,85 para o parâmetro b\* em biscoitos salgados com níveis de 10%, 15% e 20%, respectivamente.

As análises microbiológicas para *Salmonella* sp., coliformes a 45 °C e *Staphylococcus aureus* coagulase positiva apresentaram-se conforme os padrões estabelecidos em lei, e bolores e leveduras apresentaram-se ausentes (Tabela 7). Para a análise de salmonela, a legislação determina que haja a ausência em 25 g do produto, para a análise de coliformes a 45 °C, é determinado que para a amostra indicativa haja até 10 NMP por grama, para *Staphylococcus aureus* coagulase positiva é determinado que haja até 10<sup>3</sup> NMP por grama e para bolores e leveduras a legislação não estabelece limites, então realizou-se análise visual.

Tabela 7 – Análise microbiológica dos biscoitos elaborados

<b>Análises</b>	<b>Padrão microbiológico</b>	<b>Padrão</b>	<b>F1</b>
Coliformes a 45 °C/g	10	2	Aus.
<i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positiva/g	5x10 <sup>2</sup>	Aus.	Aus.
<i>Salmonella</i> sp./25g	Aus.	Aus.	Aus.
Bolores e leveduras	--*	Aus.	Aus.

--\* valor não estabelecido.

Fonte: Autoria própria (2018).

A análise sensorial foi realizada em uma única sessão, com a participação de 95 julgadores, dos quais 52,13% eram do sexo feminino e 47,87% eram do sexo masculino. A maioria dos participantes apresentava idade entre 20 e 24 anos. Os julgadores foram questionados sobre gostar ou não de biscoitos doces, onde a maior parcela dos julgadores assinalou a opção ‘Sim’. Questionados sobre a frequência de consumo de biscoitos doces dentre as opções apresentadas (diário, semanal, mensal, eventualmente e nunca), a maior frequência foi a de eventualmente. Para o questionamento sobre gostar ou não de produtos à base de soja, a maioria dos julgadores assinalou a opção ‘Sim’.

As formulações não diferiram entre si quanto aos atributos cor, aroma e textura (Tabela 8). Já para os atributos sabor e aceitação global, houve diferença estatística significativa, onde a Formulação 1 obteve a menor média (7,47) para o atributo sabor e também para aceitação global (7,74).

Tabela 8 – Avaliação sensorial dos biscoitos elaborados

Formulações	<b>Atributos</b>				
	Cor	Aroma	Sabor	Textura	Aceitação Global
Padrão	8,07 ± 1,22 <sup>a</sup>	8,06 ± 1,22 <sup>a</sup>	7,96 ± 1,31 <sup>a</sup>	7,58 ± 1,50 <sup>a</sup>	8,08 ± 0,87 <sup>a</sup>
F1	7,92 ± 1,43 <sup>a</sup>	7,92 ± 1,43 <sup>a</sup>	7,47 ± 1,54 <sup>b</sup>	7,54 ± 1,51 <sup>a</sup>	7,74 ± 1,35 <sup>b</sup>

Média em triplicata ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferiram entre si pelo teste t de Student ( $p \leq 0,05$ ).

Fonte: Autoria própria (2018).

Para as amostras da F1 houve comentários de que não apresentavam sabor característico de tofu, o qual pode ter sido mascarado pelos demais ingredientes. Vale ressaltar que as amostras obtiveram ótima aceitação sensorial, comprovada pelas excelentes médias registradas a todos os atributos, que se concentraram entre 7,47 e 8,08 e de acordo com a escala utilizada, estes dois valores se encaixam na opção 'gostei muito'. Além disso, sabe-se que os produtos que apresentam 70% de aprovação ou mais, são alimentos considerados adequados para a comercialização. Nota-se que todos os atributos avaliados nos biscoitos tiveram aceitação sensorial maior do que a aprovação mínima.

Para biscoitos com adição de casca e banana, Farinelli et al. (2014) obtiveram valores menores de 6,55 para sabor e 6,23 para textura e similares para os biscoitos controle, 7,86 e 7,47 nos atributos sabor e textura, respectivamente. Larosa et al. (2006) obtiveram menor aceitação para o biscoito contendo 50% de farinha de *okara* em todos os atributos (aroma, sabor, cor e impressão global) ao comparar com o biscoito contendo 40% de farinha de *okara*, em todos os atributos. O menor valor foi o de 3,35 no atributo sabor e o maior foi o de 7,59, no mesmo atributo. Ribeiro (2014) avaliou quatro tipos de biscoito e obteve a melhor aceitação para o biscoito com farinha de trigo, com aceitação global de 9,09 e a menor aceitação para o biscoito com farinha de soja, com aceitação global de 7,53. Nota-se que todos os biscoitos tiveram boa aceitação sensorial.

A pesquisa e experimento de formulação de biscoitos de farinha de *okara* contendo tofu e frutooligossacarídeos mostrou-se interessante do ponto de vista nutricional e tecnológico, considerando todos os benefícios que o *okara*, o tofu e os FOS podem trazer, e a incorporação destes em um alimento bastante apreciado. Ainda deve-se testar o aumento da quantidade de FOS na formulação, para aumentar a quantidade de fibras, melhorando a qualidade nutricional. A produção destes biscoitos para escala industrial deve ainda avaliar as diferenças nas características sensoriais que estes podem ter quando produzidos com a umidade dentro dos padrões da legislação.

## 5. CONCLUSÃO

A elaboração de biscoitos contendo frutooligossacarídeos (FOS) e derivados de soja, farinha de *okara* e tofu, gerou benefícios nutricionais aos alimentos, pois a formulação contendo tofu e FOS apresentou maior teor de proteínas e maior percentual de fibras solúveis, as quais são classificadas como prebióticas. Os biscoitos apresentaram diferenças no pH e acidez total titulável, mas ambos

foram classificados como alimentos básicos. A atividade de água dos biscoitos foi alta, sendo assim, esses alimentos deverão ser acondicionados corretamente para evitar alterações e seu prazo de validade poderá ser relativamente curto. As medidas dos diâmetros antes e depois do forneamento apresentaram diferença significativa, assim como a expansão dos biscoitos, devido ao processo de assadura, no entanto, o fator de expansão foi similar para ambas as amostras. As duas formulações de biscoitos foram classificadas como alimentos claros com a coloração amarela avermelhado, de acordo com os valores encontrados pelos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , respectivamente. As análises microbiológicas para *Salmonella* sp., coliformes a 45 °C e *Staphylococcus aureus* coagulase positiva apresentaram-se conforme os padrões estabelecidos pela legislação vigente, e bolores e leveduras apresentaram-se ausentes. Os biscoitos obtiveram ótima aceitação sensorial, comprovada pelas excelentes médias registradas a todos os atributos, que se concentraram na opção ‘gostei muito’ de acordo com a escala utilizada. A formulação de biscoitos contendo farinha de okara, tofu e FOS mostrou-se vantajosa, mas ainda pode ser aperfeiçoada para diminuir o teor de umidade e aumentar os benefícios nutricionais.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa de Educação Tutorial (PET), ao Departamento Acadêmico de Alimentos e ao Laboratório Multiusuário da UTFPR Câmpus Londrina.

## REFERÊNCIAS

ADOLFO, LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Edição IV. 1º Edição, 2005.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4º ed., Washington, D.C, 2001.

AOAC. **Official methods of analysis**. Arlington: AOAC International. 16 ed, 1995.

ARDILES, N. E. et al. *Petit-Suisse* com extrato de soja – produção e avaliação. In: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM ALIMENTOS e X CIGR SECTION IV INTERNATIONAL TECHNICAL SYMPOSIUM. **Anais...** Gramado, 2016.

BENASSI, V. T.; YAMASHITA, F.; PRUDENCIO, S. H. A statistical approach to define some tofu processing conditions. **Food Science and Technology**, v. 31, n. 4, p. 897-904, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução CNNPA nº 14, de junho de 1978. Padrão de identidade e qualidade para farinha desengordurada de soja, proteína texturizada de soja, proteína concentrada de soja, proteína isolada de soja e extrato de soja. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 28 ago. 1978.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 23 set. 2005.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 13 nov. 2012.

BROCA, C. L. C. et al. Elaboração e Armazenamento de uma Bebida à Base de Soja Sabor Limão. **Uniciências (UNIC)**, v. 18, n. 1, p. 33-38, 2014.

BRUM, A. L. et al. A economia mundial da soja: impactos na cadeia produtiva da oleaginosa no Rio Grande do Sul 1970-2000. In: XLIII CONGRESSO DA SOBER EM RIBEIRÃO PRETO. **Anais dos Congressos**. São Paulo, 2005.

BRUNELLI, L. T.; VENTURINI FILHO, W. G. Caracterização química e sensorial de bebida mista de soja e uva. **Alimentos e Nutrição**, p. 467-473, 2012.

CAI, T. D. et al. Comparison of bench and production scale methods for making soymilk and tofu from 13 soybean varieties. **Food Research International**, v. 30, n. 9, p. 659-668, 1997.

CATARINO, R. P. F. **Elaboração e caracterização de farinha de casca de maracujá para aplicação em biscoitos**. 2016. 49. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2016.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. 2018. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 20 out. 2018.

DANIELS, J. **Desenvolvimento e caracterização de tofu defumado**. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 95 f., 2015.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 3. ed. Revista e ampliada. Curitiba: Editora Universitária Champagnat, 2011. 426p.

FARINELLI, B. C. F. et al. Elaboração, Análise Sensorial e Características Físico-Químicas do Biscoito Doce de Casca de Banana. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 18, n. 2, p. 77-82, 2014.

FDA. Food and Drug Administration – Department of Health and Human Services. Rules and Regulations: Docket No. 98P-0683, Tuesday, October 19, 1999. Food Labeling: Health Claims; Soy Protein and Coronary Heart Disease. **Federal Register**. United States, October 26, 1999. 21 CFR Part 101, vol. 64, No. 206, p. 57700-57733.

\_\_\_\_\_. Food and Drug Administration – Department of Health and Human Services. Docket No. FDA-2017-N-0763, Thursday, October 26, 2017. Food



Labeling: Health Claims; Soy Protein and Coronary Heart Disease. **Federal Register**. United States, October 31, 2017. 21 CFR Part 101, vol. 82, No. 209, p. 50324-50346.

FEDDERN, V. et al. Avaliação física e sensorial de biscoitos tipo cookie adicionados de farelo de trigo e arroz. **Braz. J. Food Technol.**, v. 14, n. 4, p. 267-274, out./dez. 2011.

FELBERG, I. et al. Bebida mista de extrato de soja integral e castanha-do-brasil: caracterização físico-química, nutricional e aceitabilidade do consumidor. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 15, n. 2, p. 163-174. 2004.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Probióticos, prebióticos e simbióticos**. 2011. Disponível em: [http://revista-fi.com.br/upload\\_arquivos/201606/2016060596087001465308998.pdf](http://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060596087001465308998.pdf). Acesso em: 20 out. 2018.

FOOD SAFETY BRASIL. A diferença entre Atividade de Água (Aw) e o Teor de Umidade nos alimentos. 2016. Disponível em: <https://foodsafetybrazil.org/diferenca-entre-atividade-de-agua-aw-e-o-teor-de-umidade-nos-alimentos/>. Acesso em: 23 out. 2018.

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Determinação de isoflavonas em derivados de soja. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 86-93, jan./abr., 2001.

GURUNAVI. **9 Types of Tofu: Uncovering the True Taste of Japanese Tofu**. Disponível em: [http://www.gurunavi.com/en/japanfoodie/2016/03/tofu.html?\\_\\_ngt\\_\\_=TT0ecb3802c008ac1e4ae205cskqxyTV0NeBucz31-YdCz](http://www.gurunavi.com/en/japanfoodie/2016/03/tofu.html?__ngt__=TT0ecb3802c008ac1e4ae205cskqxyTV0NeBucz31-YdCz). Acesso em: 20 out. 2018.

ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs – **Horizontal method for the detection of Salmonella spp.**, 4° ed., 2002. The International Organization for Standardization, amendment 1:15 / 07 / 2007.

KONICA MINOLTA. **Entendendo o Espaço de Cor L\*a\*b\***. Disponível em: <http://sensing.konicaminolta.com.br/2013/11/entendendo-o-espaco-de-cor-lab/>. Acesso em: 22 out. 2018.

LAROSA, G. et al. Aspectos sensoriais, nutricionais e tecnológicos de biscoito doce contendo farinha de 'okara'. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 17, n. 2, p. 151-157, abr./jun., 2006.

LI, T. et al. Water distribution in tofu and application of T 2 relaxation measurements in determination of tofu's water-holding capacity. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 34, p. 8594-8601, 2014.

LU, F.; LIU, Y.; LI, B. *Okara* dietary fiber ad hypoglycemic effect of *okara* foods. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre 2.**, p. 126-132, 2013.

LU, J. Y.; CARTER, E.; CHUNG, R. A. Use of calcium salts for soybean curd preparation. **Journal of Food Science**, v. 45, p. 32-34, 1980.

MAIA, M. J. L.; ROSSI, E. A.; CARVALHO, Maria Regina Barbieri de. Qualidade e rendimento do "leite" de soja da unidade de produção de derivados da soja – UNISOJA – FCF-Ar/UNESP. **Alim. Nutr.** Araraquara, v. 17, n. 1, p. 65-72, jan./mar., 2006.

MANDARINO, J. M. G.; BENASSI, V. T.; CARRÃO-PANIZZI, M. C. Manual de receitas com soja. Londrina: EMBRAPA, 2003.

MONTAN, M. As fibras invisíveis. **Brasil Alimentos**, São Paulo, n. 19., p. 28-29, mar./abr. 2003.

MUDGIL, D.; BARAK, S. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: a review. **International journal of biological macromolecules**, v. 61, p. 1-6, 2013.

O'TOOLE, D. K. Characteristics and use of *okara*, the soybean residue from soy milk production – a review. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 47, p. 363-371, 1999.

O'TOOLE, D. K. NON-WHEAT FOODS | Soybean: Soymilk, Tofu, and Okara. In: WRIGLEY, C.; CORKE, H.; SEETHARAMAN, K.; FAUBION, J., eds. **Encyclopedia of Food Grains, volume 3: Grain-based products and their**

**processing**, 2ed. London: Academic Press (Elsevier), 2016, part II: chapter 5, p. 134-143.

PASSOS, L. M. L.; PARK KUN, Y. Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, 2003.

PAULO, A. F. S.; SILVA, N. L. V. **Extrato de soja crioconcentrado aplicado na elaboração de maionese**. TCC (Graduação em Tecnologia em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 51 p., 2017.

PAVANELLO, A. C. L. et al. Pudim contendo *okara* úmido – desenvolvimento de caracterização. In: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM ALIMENTOS e X CIGR SECTION IV INTERNATIONAL TECHNICAL SYMPOSIUM. **Anais...** Gramado, 2016.

PENHA, L. A. O. et al. A soja como alimento: valor nutricional, benefícios para a saúde e cultivo orgânico. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 25, n. 1, p. 91-102, jan./jun., 2007.

PEREIRA, D. G. **Obtenção do extrato de soja e okara por diferentes métodos**. 2013. 33f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2013.

PEREZ, P. M. P.; GERMANI, R. Elaboração de biscoitos tipo salgado, com alto teor de fibra alimentar, utilizando farinha de berinjela (*Solanum melongena*, L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 186-192, 2007.

PINTO, D. D. J.; CASTRO, P. S. Estudo preliminar da secagem do *okara* (resíduo do extrato aquoso de soja) para inativação dos fatores antinutricionais e conservação. **Brazilian Journal of Food Technology**, n. 18, p. 125-131, 2008. Preprint Series.

PINTO, C. F.; MALTA, H. L.; CRUZ, R. S. Desenvolvimento e avaliação de biscoito enriquecidos com fibra de caju. 2012.

RIBEIRO, G. P. **Elaboração e caracterização de farinhas de quinoa, linhaça dourada e soja para aplicação em biscoitos doce sabor coco.** 2014. 50f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2014.

SAAD, S. M. I. Probióticos e Prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, jan./mar. 2006.

SABATER-MOLINA, M. et al. Dietary fructooligosaccharides and potential benefits on health. **Journal of physiology and biochemistry**, v. 65, n. 3, p. 315-328, 2009.

SEIBEL, N. F. et al. Incorporação de *okara* úmido em formulações de *kibe*. In: VII CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA e VI MERCOSOJA. **Anais...** Florianópolis, 2015.

SEIBEL, N. F. **Soja: cultivo, benefícios e processamento.** 1 ed. Curitiba: Editora CRV, 2018.

SILVA, J. B. de et al. Biscoitos enriquecidos com farinha de semente de abóbora como fonte de fibra alimentar. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 7, n. 4, p. 174-184, 2015.

SILVA, T. F. et al. Pão elaborado com farinha de *okara*. In: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM ALIMENTOS e X CIGR SECTION IV INTERNATIONAL TECHNICAL SYMPOSIUM. **Anais...** Gramado, 2016.

VIEIRA, C. K. O. F. Desenvolvimento de biscoito com queijo provolone. 2014. TCC (Graduação em Química Industrial) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 51f., 2014.

VONG, W. C.; LIU, S. Biovalorisation of *okara* (soybean residue) for food and nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v. 52, p. 139-147, 2016.

YANG, H. et al. Textural and sensory properties of low fat pork sausages with added hydrated oatmeal and tofu as texture-modifying agents. **Meat Science**, v. 75, n. 2, p. 283-289, 2007.

ZAKIR, M. M.; FREITAS, I. R. Benefícios à saúde humana do consumo de isoflavonas presentes em produtos derivados da soja. **Journal of Bioenergy and Food Science**, Macapá, v. 2, n. 3, p. 107-116, jul./set. 2015.

## **BIOCONTROLE IN VITRO DE BOLORES DETERIORANTES POR TOXINA KILLER DE LEVEDURA ANTAGONISTA**

*Rafaela Alves Martins  
Douglas Rangel da Costa  
Fabiana Fiusa Ferreira  
Lyssa Setsuko Sakanaka  
Marianne Ayumi Shirai  
Alexandre Rodrigo Coelho*

### **1. INTRODUÇÃO**

A sociedade tem buscado uma rotina alimentar que se associe a hábitos mais saudáveis, o que reflete no aumento da comercialização de frutas e hortaliças frescas (VANDEKINDEREN et al., 2008). As frutas são compostas por vitaminas, minerais, carboidratos, proteínas, fibras e, principalmente, água. Portanto, são imprescindíveis para uma boa manutenção do funcionamento do organismo (ABREU; SPINELLI, 2014).

A alta atividade de água é um fator importante na vida útil das frutas, onde a  $A_a$  (atividade de água) se encontra em torno de 0,98, enquanto bolores e leveduras requerem um mínimo de  $A_a$  de 0,80 e 0,88, respectivamente, tornando as frutas altamente suscetíveis a deterioração por micro-organismos (HOFFMANN, 2001).

Dentre eles, os fungos filamentosos merecem especial atenção, pois além de deteriorarem o fruto, podem produzir micotoxinas, metabólitos secundários de caráter tóxico para homens e animais (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001;

RODRIGUEZ-AMAYA; SABINO, 2002). *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp. estão entre os fungos filamentosos de importância na deterioração de alimentos, incluindo frutos frescos e grãos (FARIAS et al. 2000).

A contenção da infecção fúngica se baseia no emprego de fungicidas sintéticos, que podem aumentar os níveis de compostos químicos nos frutos pós-colheita (WILSON; WISNIEWSKI, 1994). No contexto, o controle biológico vem ganhando importância, uma vez que a aplicação de compostos bioativos pode apresentar uma alternativa viável e inócua na prevenção de doenças pós-colheita (COELHO, HOFFMANN, HIROOKA, 2003).

Uma opção é o emprego de leveduras antagonistas produtoras de toxinas *killer*, proteínas extracelulares capazes de inibir o desenvolvimento de outros micro-organismos sensíveis (LIMA et al., 2013).

Vários gêneros de leveduras produtoras de toxina *killer* foram descritos, tais como *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* e *Hansenula*, embora a produção da toxina não seja característica da espécie e pode variar entre as diferentes cepas (PLATANIA et al., 2012; COELHO et al., 2011).

A capacidade antagonista de *Hansenula wingei* foi relatada por Gasperini (2011), cujo estudo mostrou ação efetiva da toxina *killer* sobre *Fusarium verticillioides*. Simer (2013) obteve altos índices de inibição no desenvolvimento de *P. expansum* e *A. ochraceus*. Fieira et al. (2013) obtiveram resultados satisfatórios no controle de *P. expansum* *in vivo*, com inibição de mais de 72% do desenvolvimento do fungo, quando utilizada uma combinação de células íntegras de *H. wingei* com tiabendazol (dosagem reduzida em 90%).

Considerando esse cenário, o estudo do efeito antifúngico *in vitro* de *H. wingei* sobre a germinação de esporos e o desenvolvimento micelial de *P. expansum* e *A. ochraceus* possibilitará fortalecer o controle biológico como estratégia racional no controle de fungos deteriorantes.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antifúngica da toxina de *Hansenula wingei* sobre a germinação de esporos e o desenvolvimento micelial de *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium expansum*.

## 2. PERDAS PÓS-COLHEITA E MEDIDAS DE CONTROLE

Dentre os segmentos existentes no cenário do agronegócio brasileiro, a fruticultura é um dos mais importantes, se estendendo por todo o território nacional em polos de produção que totalizam mais de 2 milhões de hectares de plantações

e geram mais de 5 milhões de empregos (CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL - CNA, 2017).

A fruticultura brasileira também tem forte participação no mercado internacional, tendo exportado mais de 861.063 toneladas de frutas frescas em 2017, sendo o terceiro maior produtor mundial, atrás apenas da China e Índia, respectivamente (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES EXPORTADORES DE FRUTAS E DERIVADOS - ABRAFRUTAS, 2018; SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO, 2017). Uva, banana, laranja e cacau estiveram entre os frutos mais produzidos em 2017 (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2018), ao passo que manga, melão, uva, limão/lima, maçã e mamão lideraram as exportações em 2017 (ABRAFRUTAS, 2018).

Com a grande produção também existe o problema de perdas pós-colheita, que podem chegar até 40% por motivos variados, como a colheita do produto em maturidade inadequada, danos mecânicos e falhas durante o transporte e armazenamento, deixando os frutos passíveis de deterioração (FACHINELLO; NATCHIGAL, 2009; GUSTAVSSON et al., 2011). Tais danos mecânicos causam injúrias às frutas que, em combinação com sua natureza suculenta, tornam-nas altamente suscetíveis à deterioração por micro-organismos, principalmente fungos filamentosos (FELIZIANI et al., 2013).

Dentre as doenças causadas por bolores em frutas pós-colheita, exemplificam-se a podridão em manga e citros por *Aspergillus* spp. (JOHNSON; COATES, 1993; WHITESIDE; GARNSEY; TRIMMER, 1988) e a podridão em maracujá e maçã por *Penicillium expansum* (FISCHER et al., 2007; COELHO et al., 2007).

## 2.1 BIOCONTROLE

A disponibilidade de produtos metabólicos de origem microbiológica em contrapartida ao atual uso de fungicidas de origem sintética, fornece um contexto para que o biocontrole seja o método a nortear as medidas a serem adotadas (CASTORIA et al., 2001).

O controle biológico tem se mostrado promissor por meio do uso de toxinas *killer* de leveduras para a contenção do desenvolvimento fúngico em frutas (COELHO et al., 2011). O estudo realizado por Oliveira et al. (2011) mostrou que diversas leveduras *killer* apresentaram antagonismo contra *Botrytis cinerea*,



causador de podridão cinzenta em morangos, por meio de competição por nutrientes e, em alguns casos, por antibiose.

Estudos também mostraram que o uso de um isolado de *Rhodotorula* sp. resultou em uma redução de 100% na incidência de podridão mole em pimentões (MELO et al., 1995) e redução de 21% da severidade da mesma doença em tomates (GOMES; SILVEIRA; MARIANO, 2005).

O estudo realizado por Moura (2017) mostrou efeito antagonístico da levedura *Saccharomyces cerevisiae* sobre o fungo *Penicillium digitatum*, responsável pela incidência de bolor verde em frutos cítricos.

Ferraz (2018) conduziu um estudo com *Sporobolomyces koalae* e encontrou atividade *killer* da mesma sobre células sensíveis de *Saccharomyces cerevisiae*, sugerindo potencial antagonista para uma levedura nova.

## 2.2 LEVEDURAS ANTAGONISTAS E CARACTERÍSTICA *KILLER*

Leveduras são micro-organismos encontrados amplamente na natureza, especialmente em frutas e hortaliças. São fungos unicelulares de alto interesse tecnológico para aplicação na indústria alimentícia, mais especificamente no emprego em fermentações (GAVA; SILVA; FRIAS, 2009).

O que confere a característica *killer* em leveduras é a sua capacidade de matar células vulneráveis de uma mesma espécie ou gênero por meio de exotoxinas de baixo peso molecular, de constituição proteica ou glicoproteica, sendo a levedura imune à sua própria toxina (MAGLIANI et al., 1997; SCHMITT; BREINIG, 2002).

O primeiro fenômeno *killer* foi reportado em 1963, por Bevan e Makower, que conduziram um estudo com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e apresentaram a proposta de que o efeito *killer* poderia ser dividido em fenótipos, sendo estes: *killer*, sensível e neutro. O fenótipo *killer* com a capacidade de matar o fenótipo sensível e o fenótipo neutro sem exercer nenhuma influência sobre os outros.

Não tardou a ser descoberto que outros gêneros, tais como *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Sporidiobolus*, *Tilletiopsis* e *Zygosaccharomyces*, também apresentavam característica *killer* (MARQUINA; SANTOS; PEINADO, 2002).

Em 1978, Young e Yagiú realizaram um estudo que consistiu na interação de 20 leveduras *killer* de vários gêneros e espécies, que resultou em uma

classificação em 10 categorias, denominadas K1 a K10, de acordo com a atividade de *killer* que possuíam, como mostra o Quadro 1 abaixo:

Quadro 1 - Classificação do fenótipo *killer*

<b>Classes killer</b>	<b>Levedura</b>	<b>Classe sensível</b>
K1	<i>S. uvarum</i> NCYC 190 <i>S. cerevisiae</i> A8209B, NCYC 232, 235, 631 e 663	K2, K3, K4
K2	<i>S. cerevisiae</i> NCYC 738 e 1001 <i>S. diastaticus</i> NCYC 713	K1, K4
K3	<i>S. capensis</i> NCYC 761	K1, K4
K4	<i>Torulopsis glabrata</i> NCYC 388	K1
K5	<i>Debaromyces vanriji</i> NCYC 577 <i>Hansenula anomala</i> NCYC 434 <i>H. subpelliculosa</i> NCYC 16	K1, K3, K4
K6	<i>Kluyveromyces fragilis</i> NCYC 587	K1, K2, K3, K4
K7	<i>Candida valida</i> NCYC 327 <i>Pichia membranaefaciens</i> NCYC 333	K1, K3, K4, K6
K8	<i>H. anomala</i> NCYC 435	K1, K2, K3, K4, K6
K9	<i>H. mrakii</i> NCYC 500	K1, K2, K3, K4, K5, K8
K10	<i>K. drosophilarum</i> NCYC 575	K1, K2, K3, K4, K5, K6, K7, K8

Fonte: Young e Yagiu (1978).

Apesar das diferenças existentes entre si, estudos comparativos entre a toxina K1 e as demais permitiu observar que o mecanismo de ação das mesmas é semelhante. Todas as *killers* estudadas mostraram-se sensíveis à protease e ao calor (MARQUINA; SANTOS; PEINADO, 2002).

O tamanho das moléculas de toxina *killer* variam entre os gêneros e espécies, encontrando-se entre 18 e 300 kDa (SOARES; SATO, 2000). Estima-se que o peso molecular da toxina *killer* de *Saccharomyces cerevisiae* encontra-se em 16 kDa (PFEIFFER; RADLER, 1982), enquanto as toxinas de *Hanseniaspora*

*uvarum* e *Hansenula anomala* foram estimadas em 18 e 300 kDa, respectivamente (RADLER; SCHMITT; MEYER, 1990; KAGIYAMA et al., 1988). Já a toxina de *Kluyveromyces lactis* foi relatada como sendo composta por duas subunidades de massa molecular de 27 kDa e acima de 80 kDa (SUGISAKI et al., 1984).

## 2.3 MECANISMOS DE AÇÃO DA TOXINA KILLER

Em 1972, Bussey descobriu que a exposição de células sensíveis de *Saccharomyces cerevisiae* à glucanase antes do tratamento com uma toxina *killer*, resultava em uma morte mais lenta das mesmas, dando início a uma série de estudos da relação da toxina com a parede celular da levedura.

Composta por polissacarídeos e proteínas, a parede celular constitui uma rígida estrutura de recobrimento para a membrana plasmática e, para a *S. cerevisiae*, sua constituição se baseia em três principais componentes: 48-60% de  $\beta$ -1,3 e  $\beta$ -1,6 glucanas, seguido de 20-30% de manose-proteínas e por fim 0,6-2,7% de quitina (FLEET, 1985).

A ação da toxina se dá em função da ligação inicial a um sítio ativo ( $\beta$ -[1,6] D-glucana) causando desestabilização na membrana por meio da abertura de um canal iônico, fazendo com que íons  $K^+$  e ATPs sejam conduzidos para o exterior das células, posteriormente inibindo o processo de síntese de macromoléculas e causando a morte da célula sensível (HUTCHINS; BUSSEY, 1983). Entretanto, nem todas as leveduras farão ligação com o mesmo sítio ativo, como no caso de *S. cerevisiae* KT28, cujo receptor é uma manoproteína, na *Kluyveromyces lactis*, que aparentemente liga-se a quitina e na *Hansenula mrakii*, que interage com a  $\beta$ -1,3 glucana (SCHMITT; PFEIFFER, 1990; BUTLER; WHITE; STARK, 1991; TAKITA; CASTILHO-VALAVICIUS, 1993; KASAHARA et al., 1994).

## 2.4 APLICAÇÕES

Consideráveis esforços vêm sendo aplicados nos últimos anos para a inserção de novos processos biológicos na cadeia de produção da indústria alimentícia, de modo que se possa obter produtos provenientes de etapas fermentativas, tais como vinhos, sucos de uva e cervejas, com qualidade elevada. Para isso, leveduras de caráter *killer* já estão sendo visadas como cultura starter

em processos de fermentação, algumas já inseridas na produção e outras em fase experimental. Inclusive, o aparecimento de leveduras *killer* na fermentação espontânea de uvas em vinícolas é extremamente comum e, buscando um padrão de qualidade mais padronizado, algumas empresas já adotaram o uso de tais leveduras (MAGLIANI et al., 1997). Por exemplo, a utilização de *Tetrapisispora phaffi* na fabricação de vinhos concluiu que a levedura mostrou ação inibitória contra *Hanseniaspora uvarum*, dominante em uvas e suco de uva e que pode surgir nas etapas de fermentação e pós-fermentação de vinhos, causando redução da qualidade sensorial pelo desenvolvimento de sabores e odores indesejáveis, além de produzir uma toxina *killer* letal à *Saccharomyces cerevisiae*, principal levedura usada na fermentação de vinhos (CIANI; FATICHENTI, 2001; WEDRAL; SHEWFELT; FRANK, 2010). Sugere-se que a aplicação dessa levedura pode substituir o uso de SO<sub>2</sub>, comumente aplicado, e prevenir a presença de resíduos nocivos ou indesejados no produto final (CIANI; FATICHENTI, 2001; COMITINI et al., 2004).

Já o estudo realizado por Liu e Tsao (2009) mostrou uma atuação eficiente da levedura *killer* *Willopsis saturnus* sobre as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyvomyces marxianus*, precursoras de deterioração em queijos.

Outras aplicações incluem o campo da medicina, com grande potencial para desenvolvimento de produtos antimicóticos para tratamento de infecções (MARQUINA; SANTOS; PEINADO, 2002), a taxonomia, onde culturas padrão de sensibilidade *killer* são utilizadas como indicativo de parentesco filogenético, bem como em tecnologias de DNA recombinante (SCHMITT; BREINIG, 2002).

### 3. METODOLOGIA

O trabalho desenvolvido foi de caráter científico e experimental, e consistiu em um ensaio antifúngico utilizando toxina *killer* obtida do cultivo estático de levedura antagonista. Os testes foram realizados no Laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina.

*Hansenula wingei* AM2<sub>2</sub> foi utilizada como cultura antagonista, para produção de toxina *killer*. *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium expansum* consistiram de fungos filamentosos testes, para os ensaios antifúngicos. Os micro-organismos foram gentilmente cedidos pelo Professor Doutor Alexandre Rodrigo Coelho e mantidos em Ágar Batata Dextrose, sob refrigeração.

## 3.1 MÉTODOS

O trabalho abordou o cultivo de levedura antagonista para obtenção de extrato bruto, etapas de purificação parcial do composto antifúngico por ultrafiltração e ensaio antifúngico contra fungos filamentosos, por meio de análise microscópica (porcentagem de esporos germinados e medição de comprimento de hifas).

### Cultivo de *Hansenula wingei* para obtenção de extrato bruto

Baseando-se na metodologia utilizada por Simer (2013), para obtenção do extrato bruto, a levedura previamente isolada e mantida em tubos com ágar Meio Para Levedura – MPL (constituído de 2% glicose, 0,5% extrato de levedura, 1% cloreto de sódio, 0,5% sulfato de amônio, 1,8% ágar, não acidificado) foi reativada em Caldo MPL (de mesma formulação, com exceção do ágar), por meio da transferência de uma alçada do tubo para um Erlenmeyer com 25 mL de caldo. O Erlenmeyer foi incubado a 25 °C por 24 horas.

Após incubação, foi realizada a padronização do inóculo de aproximadamente  $3,0 \times 10^6$  células, utilizando a Escala de MacFarland (número 1). O inóculo foi transferido para 20 Erlenmeyers com 50 mL de Caldo MPL cada (almejando obtenção de 1 Litro de cultivo) e incubado por 96 horas a 25 °C. Em seguida, o cultivo foi submetido a remoção de células por meio de centrifugação a 10.000 rpm por 15 minutos e filtração, utilizando membranas de 0,20  $\mu\text{m}$ . Um volume de 200 mL do extrato bruto foi reservado para o antifungigrama e o restante (800 mL) seguiu para ultrafiltração.

### Purificação parcial

A purificação parcial foi realizada por meio da utilização de membranas de exclusão molecular de 30, 10, 5, 3 e 1 kDa, que retiveram moléculas de massa superior e possibilitou separar o extrato bruto em cinco frações, denominadas de acordo com a retenção de moléculas, sendo: Fração 10-30 kDa, Fração 5-10 kDa, Fração 3-5 kDa, Fração 1-3 kDa, Fração < 1 kDa. Após cada etapa de ultrafiltração, as frações foram suspensas em 50 mL de água destilada estéril, e armazenadas a - 20 °C em frascos âmbar identificados.

## Ensaio antifúngico in vitro

Para o ensaio antifúngico, primeiramente foi realizada a padronização dos esporos dos fungos filamentosos (previamente cultivados em Ágar Batata Dextrose - BDA), por meio de uma alçada em um tubo contendo 3,0 mL de Tween 80 a 0,1%, seguida de contagem em câmara de Neubauer. A padronização do inóculo foi determinada em  $10^5$  esporos/mL.

O inóculo foi transferido para tubos de ensaio contendo 1 mL de Caldo MPL e 1 mL das frações produzidas. Como controles positivo e negativo, o volume das frações foi substituído pelo mesmo volume (1,0 mL) de extrato bruto e água destilada estéril, respectivamente. Os tubos foram incubados por 12 horas a 25 °C, seguido de centrifugação por 10 minutos a 10.000 rpm. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi transferido para lâminas, para análise microscópica.

Esta análise consistiu da contagem aleatória de hifas e esporos até completar 100, a fim de determinar a porcentagem de esporos germinados. Além disso, um total de 60 hifas foi medido com auxílio do programa computadorizado (Software Motic®) acoplado ao microscópio, utilizando-se objetiva de 40 x. Os esporos germinados foram expressos em porcentagem e o comprimento de hifas foi expresso em  $\mu\text{m}$ . O ensaio foi repetido três vezes, sendo que em cada repetição determinou-se 3 resultados para a porcentagem de esporos germinados e 60 resultados para o comprimento de hifas.

O efeito inibitório sobre a germinação dos esporos e sobre o desenvolvimento de hifas foi expresso em porcentagem, calculado da seguinte forma:

% Inibição na germinação de esporos =  $C_e - T_e / C \times 100$ , onde:

$C_e$ : média de esporos germinados no controle

$T_e$ : média de esporos germinados no tratamento

% Inibição no desenvolvimento de hifas =  $C_h - T_h / C \times 100$ , onde:

$C_h$ : média do comprimento de hifas no controle

$T_h$ : média do comprimento de hifas no tratamento

## Estabilidade térmica

Um volume de 10 mL do extrato bruto obtido do cultivo de *Hansenula wingei* foi depositado em um tubo de ensaio e mantido em banho-maria a 90° C por 30 minutos. O binômio tempo/temperatura utilizado foi escolhido com base na simulação do preparo de solução filmogênica para aplicação em frutos frescos. A estabilidade do composto foi avaliada por meio do ensaio antifúngico, conforme descrito no item anterior.

## Tratamento dos dados

Os dados obtidos para a porcentagem de esporos germinados e para o comprimento de hifas foram submetidos à análise de variância e teste t ( $p < 0,05$ ) ou Tukey ( $p < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados do ensaio antifúngico empregando o extrato bruto obtido do cultivo da levedura antagonista, contra a germinação de esporos e o desenvolvimento de hifas de *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium expansum*.

Tabela 1 - Atividade antifúngica do Extrato Bruto obtido do cultivo de *Hansenula wingei* sobre a germinação de esporos e desenvolvimento de hifas de *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium expansum*

	Germinação de esporos (%)		Desenvolvimento de hifas ( $\mu\text{m}$ )	
	<i>A. ochraceus</i>	<i>P. expansum</i>	<i>A. ochraceus</i>	<i>P. expansum</i>
Controle (água)	92,11 $\pm$ 5,90 <sup>b</sup>	94,89 $\pm$ 3,22 <sup>b</sup>	86,37 $\pm$ 19,21 <sup>b</sup>	108,19 $\pm$ 37,46 <sup>b</sup>
Extrato Bruto	1,00 $\pm$ 0,87 <sup>a</sup>	3,33 $\pm$ 2,69 <sup>a</sup>	18,87 $\pm$ 5,30 <sup>a</sup>	23,43 $\pm$ 8,46 <sup>a</sup>

Quanto menor o valor, maior a atividade antifúngica. Cada valor corresponde à média  $\pm$  desvio padrão dos valores de 9 dados (sendo três respostas para cada repetição) para a germinação de esporos, e 180 dados (sendo sessenta respostas para cada repetição) para o desenvolvimento de hifas. Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste t, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Autoria própria.

De maneira geral, pôde-se observar que houve diferença significativa para ambos os fungos, onde o extrato bruto apresentou alta capacidade de inibição, tanto na germinação de esporos, quanto no desenvolvimento de hifas, quando comparado com o controle.

O extrato bruto da levedura antagonista inibiu mais de 95% da germinação dos esporos e mais de 75% do desenvolvimento de hifas de *A. ochraceus* e *P. expansum*. A alta capacidade de inibição para ambos os fungos filamentosos também mostra que a toxina apresenta um maior espectro de atuação. Estudo realizado por Gasperini (2011) mostrou ótima inibição de *Fusarium verticillioides in vitro*, quando submetido ao extrato bruto obtido do cultivo de *H. wingei*.

A atuação de toxinas *killer* sobre *P. expansum* também foi relatada por Coelho et al. (2009), que mostrou excelentes taxas de inibição do fungo com cultivos de *Pichia ohmeri* e *Candida guilliermondii* (91,12% e 90,93%, respectivamente), enquanto Iacumin et al. (2017) observaram atividade inibitória sobre *A. ochraceus* e *P. nordicum* pelas leveduras *Debaromyces hansenii* e *Saccharomyces fibuligera*.

Apesar da literatura acerca do antagonismo de *H. wingei* sobre fungos filamentosos ser escassa, ambos os estudos suportam a funcionalidade das toxinas *killer* no biocontrole e indicam a sensibilidade dos fungos a diversos gêneros de leveduras *killer*.

A satisfatoriedade dos resultados atendeu as expectativas de capacidade antagonista da levedura e possibilitou prosseguir o estudo com a purificação parcial da toxina *killer* de *H. wingei* por meio de ultrafiltração.

A Tabela 2 apresenta os resultados do ensaio antifúngico realizado com as frações obtidas ao longo das etapas de ultrafiltração, contra a germinação dos esporos e do desenvolvimento de hifas dos fungos testes.



Tabela 2 - Atividade antifúngica realizada com as frações obtidas após as etapas de ultrafiltração do extrato bruto, contra a germinação dos esporos e o desenvolvimento de hifas de *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium expansum*.

Tratamento	Germinação de esporos (%)		Desenvolvimento de hifas ( $\mu\text{m}$ )	
	<i>A. ochraceus</i>	<i>P. expansum</i>	<i>A. ochraceus</i>	<i>P. expansum</i>
Controle negativo (água)	97,33 $\pm$ 1,15 <sup>cd</sup>	98,56 $\pm$ 0,88 <sup>de</sup>	52,32 $\pm$ 11,83 <sup>cd</sup>	103,81 $\pm$ 40,48 <sup>d</sup>
Controle positivo (EB)	1,0 $\pm$ 0,87 <sup>a</sup>	17,78 $\pm$ 2,11 <sup>a</sup>	18,87 $\pm$ 5,29 <sup>b</sup>	21,02 $\pm$ 7,32 <sup>a</sup>
Fração 10-30 kDa	96,33 $\pm$ 1,53 <sup>d</sup>	81,78 $\pm$ 3,15 <sup>c</sup>	52,54 $\pm$ 6,89 <sup>c</sup>	99,34 $\pm$ 35,65 <sup>d</sup>
Fração 5-10 kDa	98,00 $\pm$ 1,00 <sup>d</sup>	97,44 $\pm$ 1,51 <sup>d</sup>	55,44 $\pm$ 9,96 <sup>d</sup>	104,86 $\pm$ 35,57 <sup>d</sup>
Fração 3-5 kDa	95,33 $\pm$ 1,15 <sup>c</sup>	99,33 $\pm$ 0,50 <sup>c</sup>	54,66 $\pm$ 10,69 <sup>d</sup>	105,63 $\pm$ 37,09 <sup>d</sup>
Fração 1-3 kDa	96,00 $\pm$ 2,00 <sup>d</sup>	96,78 $\pm$ 1,92 <sup>d</sup>	52,54 $\pm$ 10,83 <sup>c</sup>	85,93 $\pm$ 33,46 <sup>c</sup>
Fração < 1 kDa	70,00 $\pm$ 2,00 <sup>b</sup>	39,00 $\pm$ 2,60 <sup>b</sup>	12,25 $\pm$ 3,02 <sup>a</sup>	26,22 $\pm$ 8,85 <sup>b</sup>

Quanto menor o valor, maior a atividade antifúngica. Cada valor corresponde à média  $\pm$  desvio padrão dos valores de 9 dados (sendo três respostas para cada repetição) para a germinação de esporos, e 180 dados (sendo sessenta respostas para cada repetição) para o desenvolvimento de hifas. Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste Tukey, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Autoria própria.

Os resultados mostraram que a toxina *killer* possui tamanho inferior a 1 kDa. A diferença significativa exibida entre o extrato bruto (controle positivo) e a fração < 1 kDa sugere a possibilidade de uma perda do composto ao longo das etapas de ultrafiltração. Além disso, o processo não foi considerado eficiente na purificação parcial da toxina *killer*, haja vista que o composto não foi retido em nenhuma membrana de exclusão molecular utilizada no estudo. Outra hipótese seria a presença de mais de uma toxina *killer* envolvida na atividade antagonista, e que as etapas de ultrafiltração promoveram a separação dos compostos, resultando em uma distribuição de poucas eficiências nas frações 10-30 e 1-3 kDa.

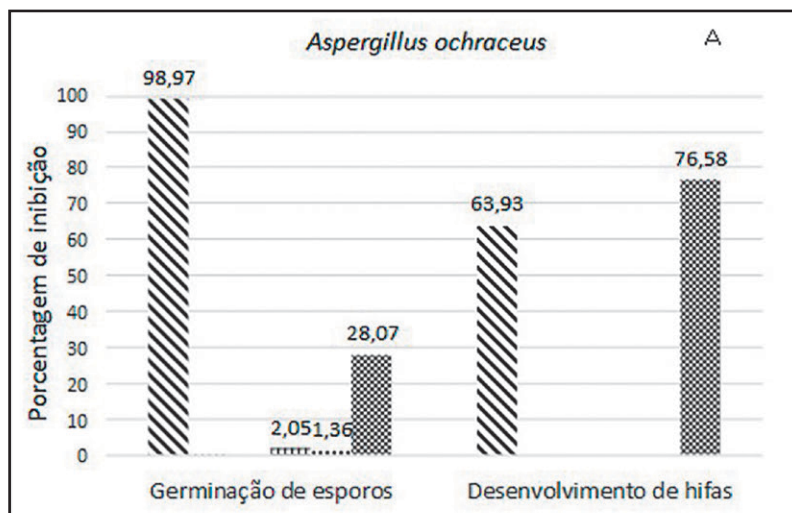
O Extrato Bruto mostrou maior eficiência contra a germinação dos esporos dos fungos testados, sugerindo a possibilidade de utilização da toxina *killer* em forma de EB, evitando desperdício de tempo e material no processo de ultrafiltração.

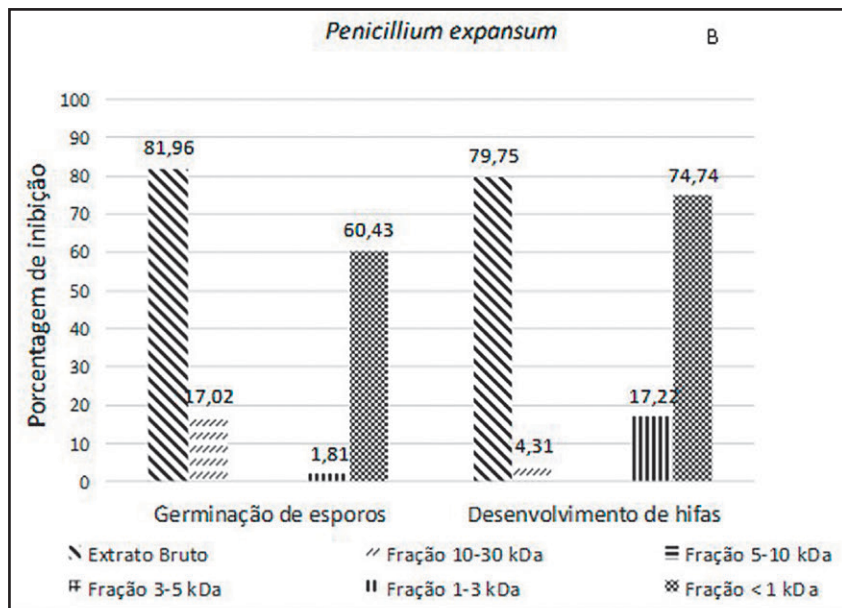
A Figura 2 apresenta o efeito inibitório da toxina *killer* sobre a germinação de esporos e desenvolvimento micelial de *A. ochraceus* e *P. expansum*. Em relação à germinação dos esporos para ambos os fungos testados, o controle positivo (Extrato Bruto) se mostrou bastante eficaz, com inibição superior a 80%. Ao analisar a eficácia das frações obtidas por ultrafiltração, apenas a fração < 1 kDa apresentou atividade antagônica relevante, principalmente contra *P. expansum*, cuja porcentagem de inibição foi 60,43% (Figura 2B). As demais frações mostraram uma variação de inibição entre 0 e 17,22%.

De acordo com a Figura 2A, o EB teve maior atuação na germinação de esporos de *A. ochraceus*, enquanto a fração < 1 kDa atuou melhor sobre o desenvolvimento de hifas. Em relação ao *P. expansum*, o EB mostrou as maiores taxas de inibição, tanto na germinação de esporos quanto no desenvolvimento de hifas, alcançando valores maiores que 80% e 70%, respectivamente (Figura 2B). Em seguida, a toxina ultrafiltrada (fração < 1 kDa) inibiu pouco mais de 60% a germinação de esporos e 70% o desenvolvimento de hifas.

Nota-se também que a capacidade de inibição difere entre a germinação de esporos e o desenvolvimento de hifas. Tal fenômeno pode ser justificado pela diferença de constituição das paredes celulares do esporo e da hifa, levando a resultados diferentes quanto à ação da toxina.

Figura 2. Efeito inibitório do composto antifúngico de *Hansenula wingei* sobre a germinação de esporos e desenvolvimento de hifas de *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium expansum*.





Fonte: Autoria própria.

Por fim, o teste de estabilidade térmica mostrou que a toxina *killer* é termo-tolerante, uma vez que a atividade antifúngica permaneceu eficaz contra o fungo testado (Tabela 3). A inibição dos esporos de *P. expansum* manteve-se maior que 60%, ao passo que do desenvolvimento micelial permaneceu maior que 75%.

Tabela 3 - Atividade antifúngica realizada com o extrato bruto após tratamento térmico, sobre a germinação de esporos de *Penicillium expansum*.

Tratamento	Germinação de esporos (%)	Desenvolvimento de hifas ( $\mu\text{m}$ )
Controle negativo (água)	98,67 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	106,85 $\pm$ 49,94 <sup>a</sup>
Extrato Bruto	31,56 $\pm$ 7,89 <sup>b</sup>	22,91 $\pm$ 9,16 <sup>b</sup>
Tratamento Térmico	37,56 $\pm$ 5,48 <sup>b</sup>	26,61 $\pm$ 10,52 <sup>c</sup>

Quanto menor o valor, maior a atividade antifúngica. Cada valor corresponde à média  $\pm$  desvio padrão dos valores de 9 dados, sendo três respostas para cada repetição. Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste t, ao nível de 5% de significância.

Fonte: Autoria própria.

Estes resultados reforçam a possibilidade de aplicação da toxina *killer* de *H. wingei* na forma de EB (extrato livre de células, sem purificação) em revestimentos comestíveis, como por exemplo, em frutos pós-colheita. Um estudo realizado por Aloui et al. (2015) consistiu em aplicar um revestimento desenvolvido com células de *Wickerhamomyces anomalus* na superfície de *Citrus sinensis* (laranja ‘Valencia’), comumente acometida por *Penicillium digitatum* (bolor verde), e mostrou uma taxa de inibição de 100% do fungo durante um período de armazenamento de 10 dias.

Por fim, a partir do cultivo da levedura antagonista estudada, é possível obter um composto natural com propriedade antifúngica de amplo espectro, visando aplicação em produtos voltados à conservação de alimentos, tais como revestimentos comestíveis aplicáveis em frutos pós-colheita.

## 5. CONCLUSÃO

É possível obter toxina *killer* com propriedade antifúngica de *H. wingei* na forma de extrato bruto. Os ensaios *in vitro* mostraram elevada capacidade de inibição da germinação de esporos para *A. ochraceus* e *P. expansum* (98,91% e 96,49%, respectivamente), assim como um controle eficaz na inibição do desenvolvimento de hifas (78,15% e 78,34%, respectivamente).

O efeito antifúngico sobre os esporos foi reduzido após as etapas de ultrafiltração, tornando-as desnecessárias e mostrando que é possível obter um composto de alta eficácia, em menor tempo e com poucos recursos.

A toxina ultrafiltrada continuou inibindo o desenvolvimento micelial dos dois fungos testados em mais de 70%, mostrando amplo espectro de ação, e encorajando ensaios com outros bolores deteriorantes.

A toxina *killer* (< 1 kDa) é termo resistente, o que possibilitaria a sua aplicação em revestimentos comestíveis, com o intuito de prolongar a vida útil de frutos frescos pós-colheita, destinados ao consumo direto.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação Araucária, pela concessão de bolsa de Iniciação Científica, ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos-PPGTAL pelos recursos financeiros e ao LabMulti-LD, pelos equipamentos disponibilizados.

## REFERÊNCIAS

ABREU, E. S.; SPINELLI, M. G. N. **Seleção e Preparo de Alimentos: gastronomia e nutrição**. São Paulo: Metha, 2014.

ALOUI, H. et al. Physical properties and antifungal activity of bioactivefilms containing *Wickerhamomyces anomalus* killer yeast and their application for preservation of oranges and control of postharvest green mold caused by *Penicillium digitatum*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 200, p. 22-30, 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES EXPORTADORES DE FRUTAS E DERIVADOS – ABRAFRUTAS. **Estatística de exportações de frutas 2017**. 04 ago. 2018. Disponível em: <http://abrafrutas.org/2018/08/04/estatisticas-de-exportacoes-de-frutas-2017/>. Acesso em: 18 out. 2018.

BEVAN, E. A.; MAKOWER, M. The physiological basis of the killer-character in yeast. **Proceeding of XI<sup>th</sup> International Congress in Genetic**. v. 1, p 202-203, 1963.

BUSSEY, H. Effects of yeast killer factor on sensitive cells. **Nature New Biology**, v. 235, n. 55, p. 73-75, 1972.

BUTLER, A. R.; WHITE, J. H.; STARK, M. J. R. Analysis of the response of *Saccharomyces cerevisiae* cells to *Kluyveromyces lactis* toxin. **Journal of General Microbiology**. v. 137, n. 7, p. 1749-1757, 1991.

CASTORIA, R. et al. *Aureobasidium pullulans* (LS-30) an antagonist of postharvest pathogens of fruits: study on it's modes of action. **Postharvest Biology and Technology**. n. 22, p. 7-17, 2001.

CIANI, M.; FATICHENTI, F. Killer toxin of *Kluyveromyces phaffii* DBVPG 6076 as a biopreservative agent to control apiculate wine Yeasts. **Applied and Environmental Microbiology**. n. 67, p. 3058–3063, 2001.

COELHO, A. R. et al. *Penicillium expansum* versus antagonist yeasts with perspectives of application in biocontrol and patulin degradation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 50, n. 4, p. 725-733, 2007.

\_\_\_\_\_. Purification of *Candida guilliermondii* and *Pichia ohmeri* killer toxin as an active agent against *Penicillium expansum*. *Food Additives & Contaminants: Part A*, v.26, p. 73-81, 2009.

\_\_\_\_\_. Avaliação do potencial antagônico de leveduras, visando biocontrole de deterioração por *Penicillium expansum*. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v.32, n.1, p. 1879-1892, 2011.

COELHO, A. R.; HOFFMANN, F. L.; HIROOKA, E. Y. Biocontrole de doenças pós-colheita de frutas por leveduras: perspectivas de aplicação e segurança alimentar. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v. 24, n. 2, p. 337-358, 2003.

COMITINI, F. et al. *Kluyveromyces phaffii* killer toxin active against wine spoilage yeasts: purification and characterization. **Microbiology**, n. 150, p. 2535-2541, 2004.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL – CNA. **FRUTICULTURA: Balanço 2016/ Perspectivas 2017**. Disponível em: [http://www.cnabrazil.org.br/sites/default/files/sites/default/files/uploads/10\\_fruticultura.pdf](http://www.cnabrazil.org.br/sites/default/files/sites/default/files/uploads/10_fruticultura.pdf)> Acesso em: 12 maio 2017.

FACHINELLO, J. C.; NACHTIGAL, J. C. Situação da fruticultura no Brasil. In: FACHINELLO, J. C. **Fruticultura: fundamentos e práticas**. Embrapa Clima Temperado, 2009.

FARIAS, A. X. et al. Contaminação endógena por *Aspergillus* spp. em milho pós-colheita no Estado do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 35, n. 3, p. 617-621, 2000.

FELIZIANI, E. et al. Pre- and postharvest treatment with alternatives to synthetic fungicides to control postharvest decay of sweet cherry. **Postharvest Biology and Technology**. v. 78, p. 133-138, 2013.

FERRAZ, L. P. **Detecção, caracterização e purificação parcial de toxina killer produzida por *Sporobolomyces koalae***. 2018. 83 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

FIEIRA et al. Inibidores naturais no controle *in vitro* e *in vivo* de *Penicillium expansum*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 33, n. 1, 2013.

FISCHER, I. H. 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**. Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 254-259, 2007.

FLEET, G. H. Composition and structure of yeast cell walls. **Current Topics in Medical Mycology**. v. 1, p. 24-56, 1985.

GASPERINI, A. M. **Biocontrole de *Fusarium verticillioides* em milho**. 2011. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2011.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 2009.

GOMES, A. M. A.; SILVEIRA, E. B.; MARIANO, R. L. R. Tratamento pós-colheita com cálcio e micro-organismos para controle da podridão mole em tomates. **Horticultura Brasileira**. v. 23, n.1, 2005.

GUSTAVSSON, J. et al. **Global food losses and food waste: extent, causes and prevention**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, p. 1-38, 2011.

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de micro-organismos em alimentos. **Brasil Alimentos**. n. 9, 2001.

HUTCHINS, K.; BUSSEY, H. Cell wall receptor for yeast killer toxin: involvement of (1-6)- $\beta$ -D-glucan. **Journal of Bacteriology**. v. 154, n. 1, p. 161-169, 1983.

IACUMIN, L. et al. Biocontrol of ochratoxigenic moulds (*Aspergillus ochraceus* and *Penicillium nordicum*) by *Derbaryomyces hansenii* and *Saccharomyces fibuliger* during speck production. **Food Microbiology**. v. 62, p. 188-195, 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – LSPA**. set. 2018. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html?=&t=resultados>. Acesso em: 18 out. 2018.

JOHNSON, G. I.; COATES, L. M. Postharvest diseases of mango. **Postharvest News and Information**. v. 4, n.1, 1993.

KAGIYAMA, S. et al. New killer toxins of halophilic *Hansenula anomala*. **Agricultural and Biological Chemistry**. v. 52, p. 1-7, 1988.

KASAHARA, S. et al. Involvement of cell wall  $\beta$ -glucan in the action of HM-1 killer toxin. **FEBS Letters**. v. 348, n.1, p. 27-32, jul. 1994.

LIMA, J. R. et al. Use of killer yeast in the management of postharvest papaya anthracnose. **Postharvest Biology and Technology**. v. 83, p. 58-64, 2013.

LIU, S. Q.; TSAO, M. Inhibition of spoilage yeasts in cheese by killer yeast *Williopsis saturnus* var. *saturnus*. **International Journal of Food Microbiology**. n. 131, p. 280-282, 2009.

MAGLIANI, W. et al. Yeast killer systems. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 10, n. 3, p. 369-400, 1997.



MARQUINA, D.; SANTOS, A.; PEINADO, J. M. Biology of killer yeasts. **International Microbiology**, v. 5, p. 65-71, 2002.

MELO, R. A. G. et al. Controle biológico da podridão mole do pimentão (*Capsicum annuum*) causada por *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. **Summa Phytopathologica**. v. 21, n.3/4, p. 206-212, 1995.

MOURA, V. S. **Caracterização bioquímica e funcional de toxina killer produzida por *Saccharomyces cerevisiae***. 2017. 49 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

OLIVEIRA, A. V. et al. Biocontrole in vitro de *Botrytis cinerea* por leveduras killer visando aplicação em morangos pós-colheita. **RECEN- Revista Ciências Exatas e Naturais**. v.13, n.3, p. 353-364, 2011.

PFEIFFER, P.; RADLER, F. Purification and characterization of extracellular and intracellular killer toxin of *Saccharomyces cerevisiae* strain 28. **Journal of General Microbiology**. v. 128, p. 2699-2706, 1982.

PLATANIA, C. et al. Efficacy of killer yeasts in the biological control of *Penicillium digitatum* on Tarocco orange fruits (*Citrus sinensis*). **Food Microbiology**. v. 30, n. 1, p. 219-225, 2012.

RADLER, F.; SCHMITT, M. J.; MEYER, B. Killer toxin of *Hanseniaspora uvarum*. **Archives of Microbiology**. v.154, p. 175-178, 1990.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN S.A., 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; SABINO, M. Pesquisa em micotoxinas no Brasil: a última década em foco. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo, v. 33, n. 1, p.1-11, 2002.

SCHMITT, M. J.; BREINIG, F. The viral killer system in yeast: from molecular biology to application. **FEMS Microbiology Reviews**. v. 26, p. 257-276, 2002.

SCHMITT, M. J.; PFEIFFER, P. C. Immunochemical analysis of the carbohydrate moiety of killer yeast toxin K28. **Antonie van Leeuwenhoek**. v.58, p. 277-282, 1990.

SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. **Análise da conjuntura agropecuária: safra 2016/2017**. mar. 2017. Disponível em: [http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2017/Fruticultura\\_2016\\_17.pdf](http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2017/Fruticultura_2016_17.pdf). Acesso em: 18 out. 2018.

SIMER, P. **Efeito de frações ultrafiltradas do cultivo de *Hansenula wingei* no controle de *Penicillium expansum* e *Apergillus ochraceus***. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2013.

SOARES, G. A. M.; SATO, H. H. Characterization of the *Saccharomyces cerevisiae* Y500-4L killer toxin. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo, v. 31, n. 4, 2000.

SUGISAKI, Y. et al. Characterization of a novel killer toxin encoded by a double-stranded linear DNA plasmid of *Kluyveromyces lactis*. **European Journal of Biochemistry**, v. 141, p. 241-245, 1984.

TAKITA, M. A.; CASTILHO-VALAVICIUS, B. Absence of cell wall chitin in *Saccharomyces cerevisiae* leads to resistance to *Kluyveromyces lactis* killer toxin. **Yeast**. v. 9, n.6, p. 589-598, 1993.

VANDEKINDEREN, I. et al. Effect of decontamination agents on the microbial population, sensorial quality and nutrient content of grated carrots (*Dracuc carota* L.) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, n.14, p. 5723-5731, 2008.

WEDRAL, D.; SHEWFELT, R.; FRANK, J. The challenge of *Brettanomyces* in wine. **LWT-Food Science and Technology**. n. 43, p. 1474-1479, 2010.

WHITESIDE, J. O.; GARNSEY, S. M.; TRIMMER, L. W. **Compendium of citrus diseases**. 1988.

WILSON, C. L.; WISNIEWSKI, M. E. **Biological control of postharvest diseases**. CRC Press, 1994.

YOUNG, T. W.; YAGIU, M. A. A comparison of the killer character in different yeasts and its classification. **Antonie Van Leeuwenhoek**. v. 44, p. 59-77, 1978.

## **TIPOS DE PERDAS EM FRUTAS, LEGUMES E HORTALIÇAS EM FEIRAS- LIVRES NO MUNICÍPIO DE LONDRINA - PR**

*Samuel Camilo da Silva  
Diovana Dias Rodrigues  
Neusa Fátima Seibel*

### **1. INTRODUÇÃO**

Produtos como frutas e hortaliças possuem grande importância para a alimentação humana, resultante de seu alto conteúdo de minerais, vitaminas, fibras e antioxidantes. Devido à busca por uma condição de vida mais saudável, consumidores cada vez mais se preocupam com o que estão ingerindo, aumentando o consumo destes alimentos.

Segundo Moraes et al. (2010), existem variados fatores que favorecem a adição de vegetais à dieta regular de uma pessoa como o baixo valor energético, alta presença de fibras, que auxiliam na digestão, os altos níveis de micronutrientes, entre outros fatores, demonstram o benefício de seu consumo. Uma característica negativa das frutas e hortaliças é atribuída à sua alta perecibilidade, necessitando de manipulações com cuidados maiores e processos de conservação e armazenagem adequados (LIMA, 2016).

Conforme citado por Alan Bojanic, representante da FAO (*Food and Agriculture Organization*) no Brasil, cerca de 10% a 30% dos alimentos são desperdiçados, desde a colheita até o encontro com o consumidor (GANDRA,

2017). Outros dados também da FAO (2018) indicaram que, por ano, são desperdiçados um terço aproximadamente de toda a produção alimentar em todo o planeta, não servindo para consumo humano.

Nota-se que nas cadeias produtivas de frutas e hortaliças ocorrem grandes quantidades de perdas, inviabilizando o consumo humano destes produtos e acentuando prejuízos ao comerciante, ao produtor e ao consumidor que terá menos alimentos disponíveis (CECCATO; BASSO, 2016). Aspectos sensoriais e nutricionais podem ser afetados de maneira negativa pelas etapas de produção mal realizadas, principalmente na aparência (cor, brilho, tamanho) sendo este o atributo sensorial mais importante para o comprador (FREIRE; SOARES, 2014).

O Brasil é um importante produtor de frutas, alcançando o 3º lugar no *ranking* mundial de produção, atingindo 45 milhões de toneladas (EMBRAPA, 2018). Feiras-livres são tradicionais em todo o país, sendo um segmento importante do mercado varejista, ocorrendo normalmente em periodicidade semanal em ruas ou avenidas dos municípios ao ar livre, tendo como objetivo aumentar a distribuição e disponibilidade de alimentos, principalmente das frutas, legumes e verduras (FLV) para a população (MASCARENHAS; DOLZANI, 2008).

Para o desenvolvimento do estudo, foram visitadas três feiras-livres em regiões diferentes do município de Londrina-PR, buscando informações e coletando dados em relação as FLV comercializadas em cada barraca, identificando os principais fatores causadores de perdas assim como a realização de uma síntese de ações corretivas para beneficiar a qualidade dos produtos, visando a diminuição do desperdício.

O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento de dados e informações sobre as perdas envolvendo frutas, legumes e verduras (FLV) em três feiras-livres no município de Londrina-PR.

## **2. A INSEGURANÇA ALIMENTAR NO MUNDO E OS DESPERDÍCIOS**

Segundo a ONU, anualmente 1,3 bilhões de toneladas de alimentos são direcionados ao lixo nas cadeias produtivas agroindustriais. Este valor simboliza um total de 30% de tudo o que é produzido mundialmente por ano, atraindo atenções e preocupando especialistas e técnicos da área para elaboração de soluções e planejamentos de cenários futuros sobre a insegurança alimentar em todo o mundo. Cerca de 800 milhões de pessoas, o equivalente a 11% da população

mundial se encontra em estado de fome, todavia a quantidade produzida de alimentos no planeta todos os anos supriria esta demanda. A distribuição dos alimentos assim como os fatores que impedem a eficiência e organização desta ação devem ser estudados e investigados, a fim de atender as questões correspondentes às crises sociais relacionadas à insegurança alimentar e à extrema pobreza no mundo (FAO, 2017).

Dados comparados também indicaram que as perdas e desperdícios ocorrem em maior quantidade nos países subdesenvolvidos ao contrário dos desenvolvidos, que possuem níveis de renda maior. Grande parte destas perdas acontece na pós-colheita, quando o produto é colhido e passa pelas demais etapas, até chegar ao consumidor. O manuseio e armazenamento foram identificados como as etapas que mais causaram desperdícios de alimentos ao longo da cadeia de produção (COSTA; GUILHOTO; BURNQUIST, 2015).

## 2.1 O SETOR DE FRUTAS E HORTALIÇAS NO BRASIL

Frutas e hortaliças são ricas em compostos como fibras, minerais e vitaminas, possuindo papel importantíssimo na dieta humana e cada vez mais atraindo a atenção dos consumidores no mundo como um dos principais fatores que ajudam a saúde, proporcionando uma vida melhor. Contudo, estes produtos devido ao seu metabolismo, são altamente perecíveis, apresentando um alto número de perdas no decorrer de toda a linha de produção, se comparado com outras cadeias produtivas de alimentos (CECCATO; BASSO, 2016).

De acordo com a Embrapa (2018), o Brasil produz cerca de 45 milhões de toneladas de frutas, ocupando o terceiro lugar no *ranking* mundial. Deste total, 65% permanecem no mercado interno, enquanto 35% são exportados. As principais hortaliças comercializadas são: batatas, alface, melancia, tomate entre outras espécies. Mais da metade destes produtos é de domínio produtivo de agricultura familiar, demonstrando o grande impacto deste setor para a economia brasileira e renda de algumas famílias.

Em nosso país, apesar dos números muito positivos da produção, apenas 40% da população brasileira consome algum tipo de fruta ou hortaliça diariamente, segundo pesquisa realizada pela Datafolha em 2017. Os principais fatores que influenciam os consumidores brasileiros que compram estes produtos são: gosto ou preferência a apenas certos tipos de hortaliças ou frutas (31%), sazonalidade (17%), aparência (14%) e preço (14%) (BOSQUEIRO, 2018).

Durante a prática da venda de frutas e hortaliças em mercados atacadistas ou varejistas como sacolões, centros de abastecimentos ou feiras-livres, são observados importantes critérios para a comercialização do produto. O tamanho da fruta assim como sua aparência (se há danos graves ou leves) e seu peso líquido, são fatores determinantes para uma transparência durante a comercialização (CEAGESP, 2017). As perdas graves e leves, identificadas pelo consumidor ou funcionários do estabelecimento, são decorrentes de várias etapas nas cadeias produtivas mal realizadas, sendo mais fácil identificar estas perdas, quando estes produtos se encontram no comércio varejista e com o consumidor (PARFITT; BARTHEL; MACNAUGHTON, 2010).

## 2.2 PRINCIPAIS CAUSAS DE PERDAS PÓS-COLHEITA

Existem diversos motivos que promovem o prejuízo para os comerciantes e produtores. Um dos principais fatores, se não o maior são os maus cuidados e irregularidades encontrados durante toda a cadeia produtiva das frutas e hortaliças, do plantio e colheita até a venda, injúrias vão ocorrendo em uma grande quantidade. Aspectos como falta de higiene, desconhecimento do processo, condições climáticas ruins, utilização de equipamentos e tecnologias de forma errada, temperatura incorreta em etapas de refrigeração, armazenamentos prolongados, questões de infraestrutura como transporte, estradas e portos são alguns dos fatores que contribuem para as perdas (FREIRE; SOARES, 2014; WEISS; SANTOS, 2012).

Perdas são resultantes de defeitos, definidos como uma característica comprometedoras em relação à qualidade e uso do produto como as FLV, ocasionando menor tempo de disponibilidade para ser consumido, diminuindo seu valor de comercialização. Um defeito leve compromete o aspecto visual do produto como sua casca, formato ou sujidade, causado por impacto ou corte inadequado do pedúnculo, sendo considerado um defeito grave quando promove rompimentos na casca, aumentando as chances de contaminação por parte de micro-organismos. Outro defeito é quando o produto se encontra murcho, tendo como principal perda o aspecto da aparência e a perda visível de turgescência, diminuindo o teor de água e levando ao enrugamento do vegetal, sendo identificada como defeito grave. Por fim, a podridão, que também provoca perdas e é classificada também como grave, provocando transformações fisiológicas desagradáveis ao produto, devido a contaminações microbiológicas, resultando em decomposição, fermentação de tecidos

internos e externos e possíveis problemas de intoxicação ao consumidor caso seja ingerido (CEAGESP, 2017).

## 2.3 AÇÕES CORRETIVAS E POSSÍVEIS SOLUÇÕES

Existem três critérios que ajudam a caracterizar as cadeias produtivas de alguns países e avaliar suas futuras tendências: a urbanização, devido a uma acelerada migração do campo para as cidades, aumentando a necessidade de alimentar a população, sendo necessários investimentos em estradas, transportes e infraestrutura. Transição dietética de famílias com rendas crescentes que buscam diversificação das dietas como carnes, laticínios, peixes, e por fim um maior comércio focado na globalização, surgindo maiores oportunidades para exportações agrícolas, e desenvolvimento do mercado interno (PARFITT; BARTHEL; MACNAUGHTON, 2010).

O Brasil é um expoente no agronegócio, ocupando a 3ª posição no *ranking* mundial de produção de frutícolas, no entanto, para atingir o potencial que possui como a maior produção do mundo em alguns mercados alimentícios, investimentos deverão ser realizados em certas áreas que causam prejuízos, somente pensar no aumento da produtividade não é suficiente para solucionar as grandes quantidades de perdas (EMBRAPA, 2018; RINALDI, 2018). A distribuição, assim como o manuseio correto são essenciais para aumentar a disponibilidade destes produtos à população, da mesma maneira uma infraestrutura moderna da sociedade também é importantíssima para diminuir o desperdício através de veículos, estradas e portos inadequados ou ultrapassados (WEISS; SANTOS, 2012).

Durante a exposição dos produtos para a venda em estabelecimentos comerciais como supermercados, lojas ou atacados, são recomendados manter os aspectos higiênico-sanitários do local em condições satisfatórias e agradáveis, realizar treinamento de pessoal para manuseio correto e higiênico, se atentar no embarque e desembarque evitando perdas ou quedas de produtos, entre outros. Uma causa grande para as perdas é o manuseio, por parte dos consumidores, que apertam ou mesmo furam o produto com a unha quando estes estão expostos para à venda (FREIRE; SANTOS, 2014; CECCATO; BASSO, 2016).

Os aspectos relacionados com a qualidade do produto não podem melhorar após a etapa da colheita, restando apenas a realização de ações e cuidados visando a conservação das frutas e hortaliças e a diminuição das perdas. Evitar o manuseio ao máximo possível garante menores chances de consumidores ou



manipuladores causar qualquer tipo de injúria ou dano ao produto, o que resulta na entrada de micro-organismos e o escurecimento na parte danificada, ocasionando diminuição da qualidade. Durante a exposição dos frutos ou hortaliças nas gôndolas de lojas ou supermercados, também é recomendado a utilização das caixas dos produtores, realizando a reposição destes produtos quando a mesma estiver vazia. O empilhamento assim como a mistura de produtos velhos com novos deve ser proibido, pois evita a “escolha” do consumidor. Por fim, condições de armazenamentos refrigerados devem ser feitos em temperatura adequada para os produtos (12 °C), atentando-se para a umidade relativa e promovendo eficiência e conservação na qualidade das FLV (CEAGESP, 2009).

### 3. METODOLOGIA

Para a obtenção de dados e informações, foi necessária a visitação em três feiras-livres em regiões diferentes no município de Londrina-PR. O acompanhamento das etapas corriqueiras de um feirante comum de FLV foi realizado em 22 barracas, com a permissão e consentimento dos feirantes, analisando a manipulação, a higiene do local, entre outros critérios para o aprofundamento da discussão e averiguação de possíveis erros que poderiam ou não estar acarretando as perdas. O número de produtos desperdiçados aproximadamente por barraca foi identificado por meio do acompanhamento da etapa de seleção dos vegetais para a comercialização junto aos feirantes, onde os produtos danificados de qualidade reduzida foram posicionados em caixas atrás da barraca (nas calçadas) ou embaixo das mesas, desta maneira também foram adquiridos os dados sobre os diferentes tipos de perda (podridão, murchamento e dano mecânico). Durante este acompanhamento, obteve-se o número de produtos vendidos em cada barraca especificamente, além de outras informações por meio de conversas informais com os feirantes e consumidores em relação aos fatores colaboradores para as perdas de frutas, legumes e hortaliças.

#### 3.1 IDENTIFICAÇÃO DAS IRREGULARIDADES

Visto que algumas irregularidades ou maus cuidados podem gerar um impacto negativo nas FLV devido à sua sensibilidade, alguns fatores foram estudados e avaliados. Critérios como higienização do local, se há empilhamento dos produtos durante a venda, se os produtos estragados estão devidamente

separados dos que estão saudáveis, excesso ou mesmo falta de agrotóxico nos produtos, se o manuseio dos clientes e feirantes é correto, se o vestuário dos mesmos está adequado, entre outros fatores foram observados durante as visitas, de acordo com as boas práticas de fabricação e higiene-sanitária estabelecidas pela Resolução nº 216 (BRASIL, 2004).

### 3.2 AÇÕES CORRETIVAS

Após a averiguação das falhas e irregularidades observadas, foram elaboradas algumas ações corretivas e sugestivas para os principais entraves causadores de desperdício e diminuição de qualidade dos produtos oferecidos pelos feirantes, por meio de alguns critérios estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2004) e pela literatura abordada (FREIRE; SOARES, 2014; WEISS; SANTOS, 2012; BELIK; CUNHA; COSTA, 2012).

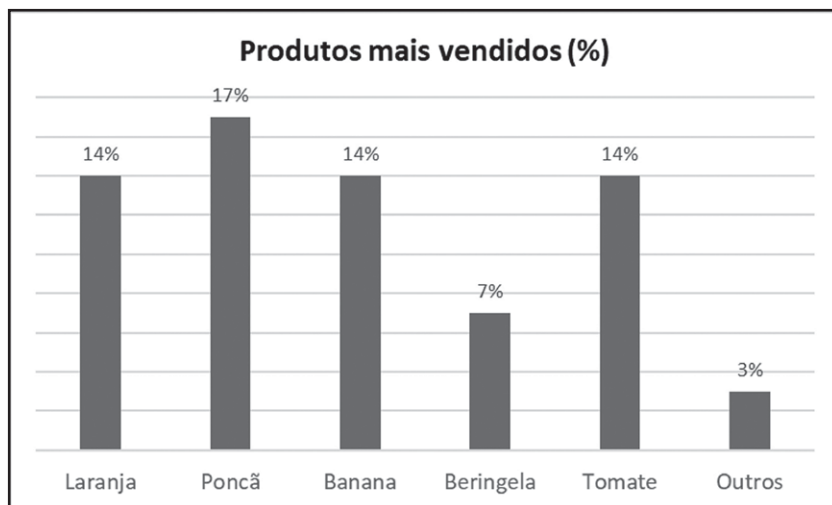
### 3.3 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS PRODUTOS

Foram comprados quatro produtos (maçã, laranja, abobrinha e tomate) entre os mais conhecidos pela população, em triplicata de diferentes barracas com o intuito de classificar e analisar alguns parâmetros de qualidade, como seu diâmetro, peso e aspectos visuais, de acordo com as cartilhas disponibilizadas pelo SIEM - Sistema de Informação e Estatística de Mercado da CEAGESP (CEAGESP, 2017) avaliando possíveis defeitos leves ou graves no produto.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os produtos mais vendidos (Gráfico 1) foram a poncã (17%), seguido pelo tomate, laranja e banana, todos com 14%, enquanto a beringela (7%) se encontrou em quinto lugar como produto mais vendido, restando os demais com 3% apenas (mandioca, abacaxi, mamão, morango, brócolis, batata, abobrinha etc).

Gráfico 1 – Frutas, Legumes e Verduras (FLV) mais vendidos



Fonte: Autoria própria (2018).

Em levantamento realizado pela CEAGESP, os cinco produtos com maiores índices de venda em média são o limão, melancia, maçã, mamão e laranja (ENTREPOSTO, 2018). A época do ano em que se realizou o estudo deve ser levada em consideração, uma vez que a venda dos produtos variam de acordo com a sazonalidade dos mesmos.

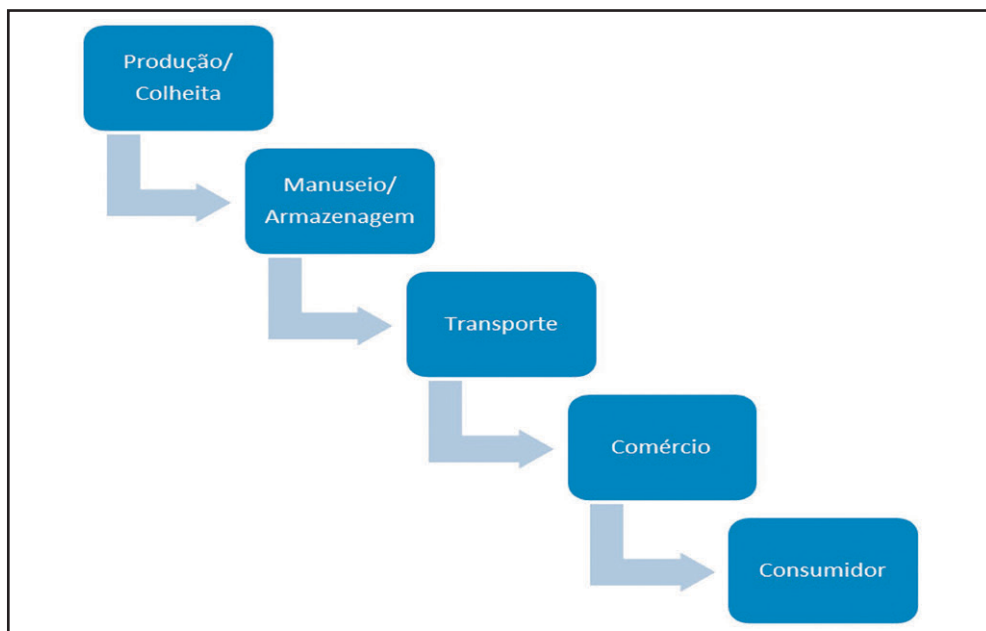
A poncã, tomate, laranja e banana foram produtos onde houve as maiores porcentagens de perdas entre os vegetais analisados e na categoria das vendas apresentaram os maiores índices. Este fato se deve possivelmente pela manipulação excessiva pelos feirantes e consumidores. A seleção por parte dos vendedores e pelo consumidor que busca produtos com maiores qualidades promove injúrias mecânicas que resultam em apodrecimento, uma vez que grande parte dos vegetais manuseados são posicionadas de maneira incorreta nas gôndolas, facilitando quedas e amassamentos, entre outras perdas relacionadas (VAZ et al., 2003).

Outro fator a ser considerado neste setor é o tempo de vida útil limitado de certos produtos, que após algum tempo já demonstram características de velho ou “passado” para o consumidor. De acordo com alguns feirantes, as FLV obtidas para a venda, são direcionadas para serem comercializadas em questão de três a cinco dias no máximo. Estes vegetais, por não estarem em condições de refrigeração que auxiliariam em sua conservação, têm seu processo metabólico acelerado, denegrindo o produto e resultando em prejuízos econômicos ao vendedor

(LIMA, 2016). Durante o processo respiratório ocorre a oxidação de substâncias mais complexas, sendo utilizado apenas 40% da energia produzida provenientes da quebra de cadeias carbônicas, enquanto os restantes 60% são descartados na forma de calor. Devido a isso as FLV em locais fechados sem refrigeração adequada aumentam a temperatura ambiente. O calor promove aceleração da respiração nos vegetais, resultando em desgaste da matéria seca, prejudicando o amadurecimento dos tecidos, reduzindo a vida útil, perda de coloração, entre outros sintomas (CORTEZ et al., 2002). A refrigeração é tão importante pois consegue diminuir justamente a taxa respiratória, além da perda de água, diminuindo também a presença de micro-organismos patogênicos (OLIVEIRA; SANTOS, 2015).

As perdas são ocasionadas por diversos fatores nas linhas produtivas (Figura 1), desde as etapas iniciais da produção até o produto ser disponibilizado para compra ao consumidor. Danos mecânicos, manuseio, altas temperaturas, acondicionamento incorreto, contaminação por micro-organismos, falta de higiene, entre outros fatores são acumulados, potencializando as perdas (CENCI, 2006).

Figura 1 – Fluxograma das etapas comuns da cadeia produtiva de frutas e hortaliças *in natura*



Fonte: Costa, Guilhoto e Burnquist (2015).

No acompanhamento realizado com os feirantes, obteve-se uma média de 14,52% de perdas ao total de FLV, verificando-se então as perdas em relação às barracas analisadas, conforme a Tabela 1.

Tabela 1 – Quantidade de perdas em diferentes barracas

<b>Porcentagem de Perdas</b>	<b>Quantidade de Barracas</b>
Maiores ou igual a 20%	7
Entre 10 a 19%	6
Entre 9 a 5%	6
Menores que 5%	3

Fonte: Autoria Própria (2018).

Com os dados obtidos, notou-se que sete barracas apresentaram maiores perdas (>20%), sendo seguida pelos grupos com porcentagem de perdas de 10 a 19% e 9 a 5%, sobrando apenas três barracas com níveis inferiores a 5%. Estes valores geram motivos para preocupação em relação ao aproveitamento e eficiência da qualidade e quantidade de produtos comercializados por parte dos feirantes, demonstrando uma grande parcela de desperdício.

Em estudo relacionado no município de Boa Vista - RR, Farias (2015) cita que em média, 41% dos feirantes perdem entre 5 a 10 Kg de produtos por dia, enquanto 37% perdem 5 Kg. Tofanelli et al. (2009) em pesquisas feitas em feiras-livres no município de Mineiros - GO, relataram que as taxas de perda apresentaram valores de 15,2% de FLV, quantidade próxima à média obtida durante este estudo (14,52%).

Quando este produto se encontra danificado, sua qualidade é reduzida e sua disponibilidade afetada negativamente, facilitando contaminações microbiológicas, assim como a redução de nutrientes (FREIRE; SOARES, 2014), se tornando um produto rejeitado pelos clientes e pelos próprios feirantes, que durante a seleção das FLV com maior qualidade, acabam por posicionar as danificadas, podres ou murchas em caixas separadas como demonstrado na Fotografia 1, afim de comercializá-las por um valor mais baixo, além de doá-las para moradores de rua ou animais.

Fotografia 1 – Caixa contendo produtos perdidos



Fonte: Autoria Própria (2018).

Os produtos, antes de serem disponibilizados ao consumidor para a venda passam por algumas etapas básicas, iniciando-se na colheita as primeiras perdas, uma vez que muitos operários não possuem o conhecimento para um procedimento correto, resultando em produtos colhidos em pontos de maturação incorreto, com pragas, danos ou cicatrizes na superfície, entre outros defeitos fisiológicos (EMBRAPA, 2018).

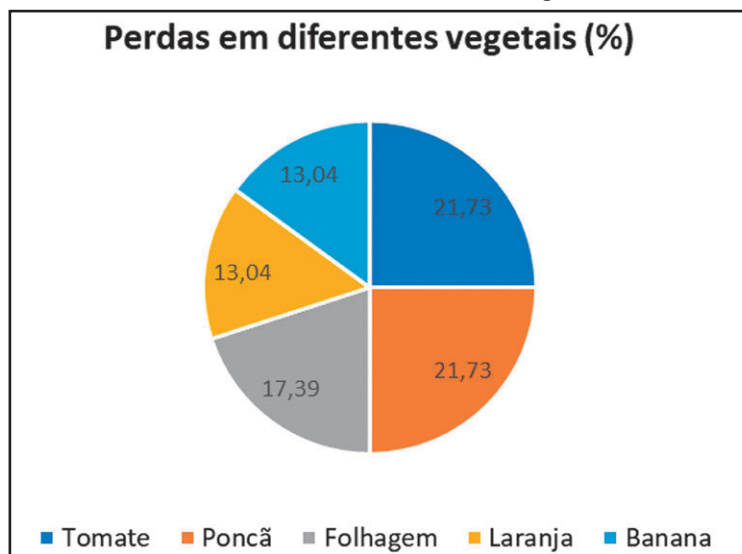
A etapa do transporte também é crucial na qualidade do vegetal. De acordo com Weiss e Santos (2012), a infraestrutura do setor rodoviário afeta de forma significativa a qualidade de frutas, uma vez que as rodovias para portos ou mesmo para o mercado interno se encontram em condições irregulares, somado aos vegetais posicionados em veículos de maneira inapropriada sem a refrigeração adequada, o resultado é a diminuição ainda maior de qualidade.

Quando nas feiras-livres, estes produtos ainda sofrem perdas, porém por responsabilidade do consumidor e dos vendedores, que não atendem alguns critérios básicos na manipulação, realizando ações como o aperto das frutas ou mesmo utilização da unha para penetrar a casca, a passagem da mão no dinheiro e depois no alimento sem nenhuma higienização, vestimenta inadequada por

parte dos vendedores, o empilhamento incorreto, as caixas com produtos danificados ainda próximos aos saudáveis, possibilitando contaminações e podridão, entre outros fatores (CECCATO; BASSO, 2016).

Outros dados adquiridos por meio do acompanhamento são em relação à identificação dentre as FLV comercializadas, qual delas apresentavam maiores perdas e desperdícios, visando correlacionar possivelmente estes danos com as características de cada espécie conforme representado no Gráfico 2.

Gráfico 2 – Perdas em diferentes vegetais



Fonte: Autoria Própria (2018).

Durante o estudo, os produtos com maiores perdas foram o tomate (21,73%) e a poncã (21,73%), sendo seguido pela folhagem (17,39%), banana e laranja, ambas com os mesmos valores (13,04%). Em estudo relacionado, Tofanelli et al. (2009) revelaram que os produtos mais desperdiçados ocorriam na sua grande maioria em tomate (2,5%), melancia (25,0%), abobrinha (10,0%) e cebola (10,0%), também em feira-livres. Para comparação de resultado com a literatura, no entanto, alguns fatores devem ser levados em consideração como os costumes de cada região, assim como a sazonalidade e preço dos vegetais que variam no decorrer do ano.

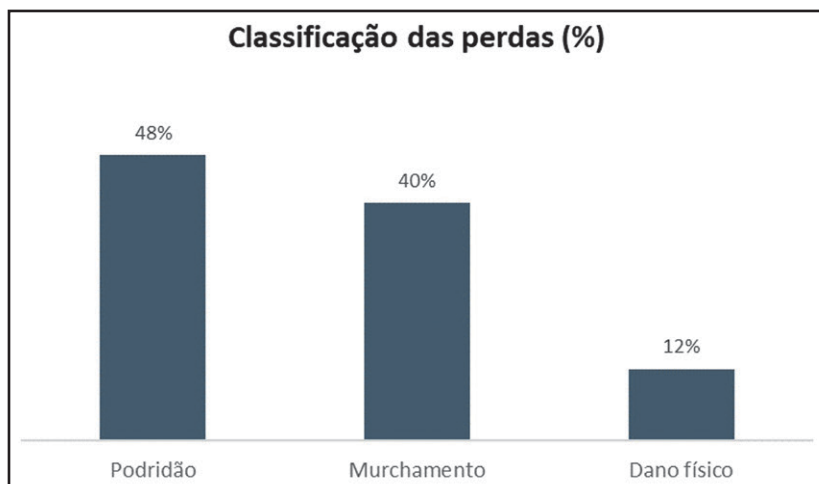
As perdas com o tomate foram mais recorrentes, demonstrando que é uma espécie na qual os feirantes possuem dificuldade em evitar danos. Este fato possivelmente é resultado de maus cuidados com o fruto, uma vez que este produto

assim como algumas folhagens é reconhecido por serem extremamente sensíveis a possíveis mudanças drásticas de temperatura e umidade, sendo muito dependente do acondicionamento correto, assim como da higienização bem realizada por parte dos manuseadores (ALMEIDA et al., 2011). Outro problema citado durante as conversas com os feirantes foram os agrotóxicos, que em concentrações inadequadas podem resultar na podridão especialmente do tomate.

Já a tangerina, mais conhecida como poncã nas feiras, possui um tamanho médio, com formato de esfera, casca fina e firme, contendo frutos entre cinco e oito sementes, além da cor alaranjada forte, sendo sua sazonalidade característica entre maio a julho (SEBRAE, 2016). Também são identificadas com um pequeno período de colheita (30 a 60 dias), assim como uma grande susceptibilidade a danos durante o transporte e manuseio (SANTOS, 2011). As frutas cítricas demonstram sensibilidade em baixas temperaturas, formando manchas circulares e de coloração marrom, além de alterações sensoriais, enquanto temperaturas muito altas provocam uma maior atividade respiratória e perda de firmeza, além do acréscimo da podridão (BRACKMANN et al., 2008).

Uma vez obtidos os dados relacionados aos produtos com as maiores perdas, buscou-se classificar (Gráfico 3) os principais promovedores de prejuízos nas barracas, onde por meio das frutas, legumes ou verduras danificadas e já separadas, facilitou-se a identificação destes defeitos de três maneiras diferentes e de rápido reconhecimento visual: murchamento (40%), podridão (48%) e dano físico ou mecânico (12%).

Gráfico 3 – Tipos de perdas em Frutas, Legumes e Verduras (FLV)



Fonte: Autoria própria (2018).



Em pesquisa realizada, Almeida et al. (2012) realizaram um levantamento de perdas nas feiras-livres em Areia - PB, sendo os danos fitopatológicos (podridão, doenças, contaminação microbiana) e mecânicos (amassamento) os maiores promovedores de perda. Produtos como o tomate apresentaram 2,10% e 14,67% em média para perdas causadas por danos físicos e podridão respectivamente, enquanto o pimentão demonstrou valores de 7,34% e 8,80% em média novamente para perdas envolvendo podridão e danos físicos.

A podridão é característica por ser visível na casca ou na polpa do fruto, apresentando decomposição, fermentação e degradação localizada ou distribuídas em grandes áreas do produto, como registrado na Fotografia 2. A maioria das podridões que geram o desperdício das FLV é causada por micro-organismos oportunistas que só se desenvolvem se houver um ferimento, mesmo que microscópico, na casca do produto (CEAGESP, 2009).

Fotografia 2 – Maçã com podridão



Fonte: Autoria própria (2018).

Já o murchamento é característico pela desidratação e perda visível de turgescência, resultando em um enrugamento precoce do vegetal. Isto ocorre devido à grande presença de água nos frutos que se perde devido a ferimentos ou acondicionamento incorreto (baixa umidade relativa do ar), acelerando o processo de envelhecimento e perdas de características sensorialmente agradáveis ao consumidor, encaminhando o produto para o descarte (CEAGESP, 2009).

O dano físico ou mecânico representa as perdas de vegetais por meio de amassados, lesões, alterações no formato e estrutura, danos leves e profundos que facilitam a contaminação por micro-organismos, além de acelerar a respiração metabólica do produto, provocando defeitos na aparência, aroma e sabor do vegetal, diminuindo sua qualidade, como na Fotografia 3.

Fotografia 3 - Dano leve em abobrinha

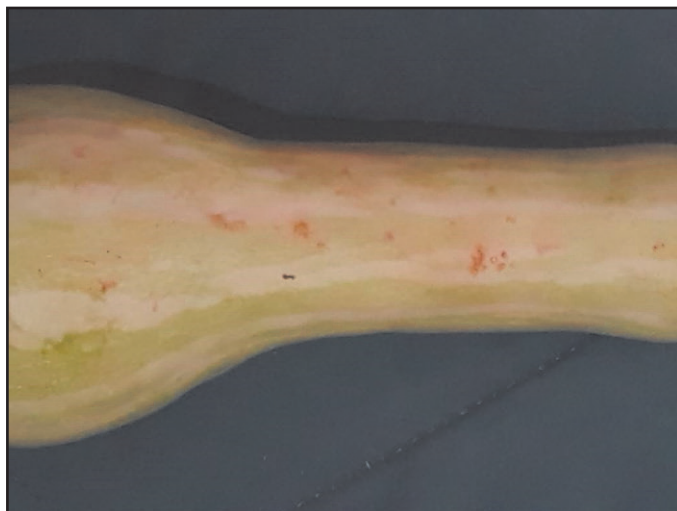


Figura: Autoria própria (2018).

A classificação auxilia na padronização, homogeneidade do lote, tamanho, assim como seu peso, buscando facilitar a venda, assim como melhorar o setor como um todo. Cada produto possui seu grupo específico, reunindo suas características semelhantes, de maneira que apresentem suas medidas e formato de acordo com o que o comércio, literatura ou cartilhas técnicas estabelecem. Foram comprados e avaliados quanto ao diâmetro, peso e aparência, quatro FLV diferentes: maçã, tomate, laranja e abobrinha, conforme a Tabela 2, contendo as medidas e dados requeridos pelo SIEM (CEAGESP, 2017) para classificação e comercializações mais transparentes.

Tabela 2- Classificação dos produtos comprados nas feiras-livres

<b>Classificações</b>				
<b>Produtos</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Medidas (mm)</b>	<b>Grupo</b>	<b>Cotação</b>
Maçã	219,3 ± 16,77	-	Gala	80 a 150
Abobrinha	555,33 ± 51,08	80 ± 8,88	Brasileira	Extra
Laranja	208 ± 20,66	67,66 ± 2,51	Comum	B
Tomate	97 ± 7	-	Comprido	Extra A

Os resultados estão expressos em média ± desvio padrão (n = 3). A abobrinha é medida quanto ao diâmetro do bojo, enquanto a laranja pelo diâmetro equatorial. O tomate e a maçã são classificados quanto ao peso apenas, não necessitando das medidas.

Fonte: Autoria Própria (2018).

As normas estabelecidas para a Maçã Gala com cotação 80 a 150 em relação à cartilha (CEAGESP, 2017) é de que apresente peso acima de 180 g, valor ultrapassado com 219,3 g em média das maçãs adquiridas nas feiras. O Tomate “Comprido” com cotação “Extra A” pesa menos de 100 g, encaixando-se os 97 g em média obtido. Já para a Abobrinha, identificada no grupo da “Brasileira” devido ao formato característico, a medida é dada pelo diâmetro do bojo, obtendo-se 80 mm de média aproximadamente, tendo cotação “Extra” por ser maior que 70 mm. Por fim, na Laranja a classificação é feita frente ao diâmetro equatorial do produto, obtendo-se 67,66 mm em média aproximadamente entre as compradas, encaixando-se no grupo “Comum” de cotação “B”, onde os limites são entre 65 a 70 mm em relação ao diâmetro.

Os quatro produtos se encaixaram nos padrões estabelecidos pela utilização da cartilha disponibilizada, demonstrando que a padronização junto à classificação no setor pode beneficiar a qualidade dos produtos nas feiras-livres e setores varejistas em diferentes regiões, por meio da utilização de caixas rotuladas nas gôndolas com cada cotação estabelecida, assim como o grupo pertencente de cada vegetal, facilitando a identificação e as negociações, promovendo um menor manuseio e seleção de produtos por parte de feirantes e consumidores.

Em relação à integridade e qualidade do produto como um todo, não se observou danos na maçã, tomate e na laranja; apenas na abobrinha, que é um produto com tamanho considerável, com uma grande área de contato e possivelmente de atrito com outros produtos.

Apesar da grande variedade e da disponibilidade, as frutas e hortaliças apresentam a comercialização limitada, resultado de sua natureza altamente

perecível, não sendo possível melhorar a qualidade destes produtos; apenas é possível preservá-los até certo ponto, retardando os sintomas e sinais imediatos de degradação. Portanto, é essencial que práticas e cuidados se iniciem já no campo, mais especificamente na colheita, até o momento onde o produto é disponibilizado a ser comercializado para o consumidor (CORTEZ et al., 2002).

Em grande parte das barracas onde houve o acompanhamento, houve empilhamento das FLV, o que é prejudicial, pois causa danos mecânicos como amassamento, quedas, além de diminuir a circulação de ar entre os produtos que se localizam dentro das “pilhas”, provocando aumento na produção de etileno ( $C_2H_4$ ), acarretando envelhecimento e murchamento dos vegetais, diminuindo sua qualidade. Também notou-se o posicionamento de produtos mais velhos próximos a mais novos, resultando em senescência nos novos, além de caixas contendo os frutos podres e murchos provenientes da etapa de seleção anterior à venda, muito próximos aos saudáveis (em baixo das mesas, nas calçadas atrás das barracas), facilitando a contaminação cruzada através de micro-organismos, gerando perdas por podridão ou mesmo atraindo a presença de insetos, ratos, entre outros animais que trazem consigo uma grande carga microbiana (CORTEZ et al., 2002; CEAGESP, 2009).

Outro problema muito comum nas feiras-livres realizadas a céu aberto é o clima, podendo prejudicar os produtos com chuvas além de calor e frio muito intenso. No período do dia, a presença de luz solar em contato com os vegetais pode resultar em um aumento de temperatura, levando o produto a aumentar sua taxa de respiração, conseqüentemente degradação, como observado em alguns produtos como o tomate que é muito sensível a mudanças bruscas de temperatura, umidade e atrito (ALMEIDA et al., 2011).

De acordo com a legislação (BRASIL, 2004), manipuladores devem apresentar vestimenta adequada, com cabelo preso e protegido por rede ou touca, e não se permite barba, o que não foi visto durante todas as visitas. Nas feiras é comum a manipulação de dinheiro e em seguida o contato com o produto, o que necessitaria da higienização das mãos corretamente ou mesmo a utilização de luvas limpas e apropriadas para o manuseio. Além de outras ações como fumar, conversar desnecessariamente, espirrar, cuspir e comer próximo aonde os produtos estão posicionados durante as atividades dentro da barraca etc.

Consumidores também possuem uma grande parcela para as perdas. Ceccato e Basso (2016), em estudo feito em supermercados identificaram o desperdício de frutas, legumes e hortaliças em uma quantidade de 46%, atribuídos ao manuseio por compradores. Como afirmado por muitos feirantes, os clientes

manipulam excessivamente os vegetais durante a escolha para a compra de um produto que apresente as melhores características sensoriais agradáveis ao seu interesse, o que promove a depreciação e diminuição da qualidade dos mesmos.

No Brasil, metade dos alimentos descartados todos os anos são atribuídos ao transporte e o armazenamento apenas (BASILE, 2018). O armazenamento é um fator intrínseco na conservação das FLV, variando de produto para produto às condições nas quais eles podem ser armazenados, levando em conta o tempo, temperatura, atmosfera e umidade. O período de armazenamento depende principalmente da atividade respiratória do produto, suscetibilidade à perda de umidade e resistência aos micro-organismos causadores de podridões (RINALDI, 2018). Devido as feiras-livres serem direcionadas a pequenos vendedores e compradores simples, os métodos de refrigeração não são adotados na maioria das vezes, sendo planejado pelo feirante a compra e venda dos produtos semanalmente e não os armazenar por longo prazo, o que gera muitas perdas, quando estes alimentos não são vencidos ou consumidos.

Para os problemas identificados durante o acompanhamento, elaborou-se os Quadros 1, 2 e 3 contendo ações corretivas e sugestivas aos feirantes que buscam diminuir a quantidade de perdas em suas barracas, tratando-se do manuseio/higiene de gôndolas, mesas, caixas contendo produtos e o transporte, de acordo com a literatura abordada (FREIRE; SOARES, 2014; ALMEIDA, 2011; CEAGESP, 2009; CORTEZ et al., 2002; BRASIL, 2004).

Quadro 1 – Ações corretivas e sugestivas para perdas envolvendo manuseio/higiene

<b>Perdas em:</b>	<b>Irregularidades</b>	<b>Ações Sugestivas</b>
<b>Manuseio/ Higiene</b>	Mãos não higienizadas	Lavar mãos e higienizar com álcool 70% para manuseio dos produtos
	Pegar no dinheiro e em seguida no produto	Pessoa responsável apenas pelo dinheiro e outra pelo manuseio com produtos
	Manuseio excessivo por parte de consumidores e vendedores	Classificação dos produtos por espécies e não misturar velhos com novos
	Instrumentos, caixas ou equipamentos sujos	Higienizar os instrumentos, equipamentos e caixas onde os produtos estão posicionados
	Apertar/Furar o produto	Manuseio mínimo das FLV
	Vestimentas inadequadas	Utilizar toucas, redes para cobrir o cabelo, além de máscaras

Fonte: Freire e Soares (2014), Almeida et al. (2011), CEAGESP (2009), Cortez et al. (2002) e Brasil (2004).

Quadro 2- Ações corretivas e sugestivas para perdas envolvendo gôndolas, mesas ou caixas

<b>Problemas envolvendo:</b>	<b>Irregularidades</b>	<b>Ações Sugeridas</b>
Gôndolas, mesas ou caixas contendo produtos	Longo tempo de exposição dos produtos (exposição a luz solar ou outras fontes de calor)	Proteger os produtos da luz solar, assim como de altas temperaturas
	Empilhamentos ou posicionamentos favoráveis às quedas e danos aos produtos (Produtos posicionados embaixo dos mais pesados)	Evitar empilhamentos, apenas realizando-os com produtos mais resistentes (contendo casca)
	Produtos velhos com produtos novos misturados entre si	Lotes homogêneos, classificados por tamanho, cor e qualidade, reduzindo o manuseamento por seleção do consumidor
	Instrumentos caixas ou equipamentos sujos	Higienizar sempre que possível as caixas, mesas ou as próprias barracas
	Caixas contendo produtos com qualidade reduzida ou estragados	Descartar corretamente os produtos em lixos orgânicos, assim como evitar o contato dos mesmos com outros saudáveis

Fonte: Freire e Soares (2014), Almeida et al. (2011), CEAGESP (2009), Cortez et al. (2002) e Brasil (2004).

Quadro 3- Ações corretivas e sugestivas para perdas envolvendo transporte

<b>Problemas envolvendo:</b>	<b>Irregularidades</b>	<b>Ações Sugeridas</b>
Transporte	Frota de transportes ultrapassadas (ausência de refrigeração ou armazenamento adequado)	Meios de transportes adequados com refrigeração e espaço para armazenamento
	Empilhamentos ou posicionamentos favoráveis às quedas e danos aos produtos (Produtos posicionados embaixo dos mais pesados)	Evitar empilhamentos, apenas realizando-os com produtos mais resistentes (contendo casca)
	Direção do transporte de forma não cuidadosa, provocando quedas, batidas e danos aos produtos transportados	Direção mais cautelosa, evitando pancadas e danos mecânicos aos produtos
	Carga ou descarga das caixas contendo fruta, legumes e hortaliças de maneira inadequada	Realização de carga e descarga das caixas contendo os produtos com cautela e cuidado
	Utilização de caixas e pallets de madeira velhos e mal higienizados	Utilização de caixas novas, bem higienizadas

Fonte: Freire e Soares (2014), Almeida et al. (2011), CEAGESP (2009), Cortez et al. (2002) e Brasil (2004).

## 5. CONCLUSÃO

Por meio do levantamento de dados e informações realizados, concluiu-se que as perdas alimentícias de frutas, legumes e hortaliças são inevitáveis, contudo, há possibilidades de diminuição na quantidade de desperdício, por meio de ações tanto de feirantes quanto de consumidores, de acordo com alguns critérios relacionados ao manuseio, higiene entre outros. A média para as perdas foi de 14,52%, sendo a podridão o principal fator para os prejuízos, enquanto o tomate e a poncã foram os produtos com maiores perdas, estando também entre os mais vendidos.

## Agradecimentos

Os autores agradecem aos feirantes participantes da pesquisa.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, E. I. B. et al. **Caracterização da cadeia produtiva de hortaliças do município de Areia–PB**. *Agrop. Técn.*, v. 32, n. 1, p. 7-15, 2011.

\_\_\_\_\_. **Levantamento de perdas em hortaliças frescas na rede varejista de Areia (PB)**. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável*, v. 2, n. 1, 2012.

BASILE, L. **Impactos do desperdício de alimentos, 2018**. *Jornal do Comércio*. Disponível em: [https://www.jornaldocomercio.com/\\_conteudo/opiniao/2018/10/652375-impactos-do-desperdicio-de-alimentos.html](https://www.jornaldocomercio.com/_conteudo/opiniao/2018/10/652375-impactos-do-desperdicio-de-alimentos.html). Acesso em: 15 out. 2018.

BELIK, W. B.; DE ALMEIDA CUNHA, A. R. A.; COSTA, L. A. **Crise dos alimentos e estratégias para a redução do desperdício no contexto de uma política de segurança alimentar e nutricional no Brasil**. *Planejamento e Políticas Públicas*, n. 38, 2012.

BOSQUEIRO, R. **Só 40% dos brasileiros consomem hortifrúti diariamente**. *Hortifruti Brasil*, n. 175, p.5, fev. 2018.

BRASIL. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Sanitários para Manipulação de Alimentos e Bebidas Preparados com Vegetais**. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 set. 2004.

BRACKMANN, A. et al. **Temperatura e umidade relativa na qualidade da tangerina “Montenegrina”**. Ciência Rural, v. 38, n. 2, 2008.

Cartilha Técnica: **A medida das hortaliças** - São Paulo: CEAGESP - Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. Centro de Qualidade, Pesquisa e Desenvolvimento, 2017. 16p.

Cartilha Técnica: **A medida das frutas** - São Paulo: CEAGESP - Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. Centro de Qualidade, Pesquisa e Desenvolvimento, 2017. 16p.

CEAGESP - CENTRO DE QUALIDADE EM HORTICULTURA. **Manuseio Mínimo**. São Paulo: CEAGESP-CQH, 2009, 12 p. (Circular Técnica CEAGESP-CQH, n.17).

CECCATO, C.; BASSO, C. **Avaliação das perdas de frutas, legumes e verduras em supermercado de Santa Maria-RS**. Disciplinarum Scientia Saúde, v. 12, n. 1, p. 127-137, 2016.

CENCI, S. A. Boas práticas de pós-colheita de frutas e hortaliças na agricultura familiar. **Recomendações Básicas para a Aplicação das Boas Práticas Agropecuárias e de Fabricação na Agricultura Familiar**. 1ª ed. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 67-80, 2006.

CENTRO DE QUALIDADE EM HORTICULTURA - CEAGESP. **Normas de Classificação – Programa Brasileiro para a Modernização da Horticultura**. v. 1, n. 1, São Paulo, jun. 2017.

CORTEZ, L. A. B.; HONÓRIO, S. L.; MORETTI, C. L. Resfriamento de frutas e hortaliças. **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 231-272, 2002.



COSTA, C.; GUILHOTO, J.; BURNQUIST, H. **Impactos econômicos de reduções nas perdas pós-colheita de produtos agrícolas no Brasil**. Rev. Econ. Sociol. Rural, Brasília, v.53, n.3, 2015.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Ciência que transforma, resultados e impactos positivos da pesquisa agropecuária na economia, no meio ambiente e na mesa do brasileiro, 2018**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/grandes-contribuicoes-para-a-agricultura-brasileira/frutas-e-hortalicas>. Acesso em: 12 mai. 2018.

ENTREPOSTO. **Quais são as frutas mais vendidas na Ceagesp? 2018**. Disponível em: <https://jornalentreposto.com.br/noticias/3076-quais-sao-as-frutas-mais-vendidas-na-ceagesp>. Acesso em: 07 out. 2018.

FAO - Food and Agriculture Organization of United States. **The state of food security and nutrition in the world 2017: Build in resilience for peace and food security**. 2017.

\_\_\_\_\_. **Food Loss and Food Waste**, 2018. Disponível: <http://www.fao.org/food-loss-and-food-waste/en/>. Acesso em: 10 abr. 2018.

FARIAS, ANZ. Desperdício de alimentos e situação dos resíduos orgânicos na Feira do Produtor Rural do município de Boa Vista-RR. In: **VII CONNEPI-Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação**. 2012.

FREIRE JUNIOR, M.; SOARES, A. G. **Orientações quanto ao manuseio pré e pós-colheita de frutas e hortaliças visando a redução de suas perdas**. Embrapa Agroindústria de Alimentos-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2014, p.5.

GANDRA, A. **Brasil tem boas práticas contra desperdício de alimento, mas perdas chegam a 40%**, 2017. Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2017-10/brasil-tem-boas-praticas-contradesperdicio-de-alimento-mas-perdas-chegam>. Acesso em: 09 abr. 2018.

LIMA, J. A. D. **Métodos para conservação de frutas e hortaliças**. 2016. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Curso de Agronomia, Brasília, 2016.

MASCARENHAS, G.; DOLZANI, M. C. S. **Feira livre: territorialidade popular e cultura na metrópole contemporânea**. *Ateliê Geog.*, v. 2, n. 2, p. 72-87, 2008.

MORAES, F. A. et al. **Perdas de vitamina C em hortaliças durante o armazenamento, preparo e distribuição em restaurantes**. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 15, p.51-62, 2010.

OLIVEIRA, E. N. A.; SANTOS, D. C. **Tecnologia e processamento de frutos e hortaliças**. 1 ed. Natal. Biblioteca Sebastião Fernandes (BSF) – IFRN. 2015. p. 81.

ONU - Nações Unidas no Brasil. **FAO: 30% de toda a comida produzida no mundo vai parar no lixo, 2017**. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/fao-30-de-toda-a-comida-produzida-no-mundo-vai-parar-no-lixo/>; Acesso em: 10 maio 2018.

PARFITT, J.; BARTHEL, M.; MACNAUGHTON, S. Food waste within food supply chains: quantification and potential for change to 2050. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 365, n. 1554, p. 3065-3081, 2010.

RINALDI, M. M. Cultivar. **Perdas pós-colheita devem ser consideradas**, 2018. Disponível em: <https://www.grupocultivar.com.br/artigos/perdas-pos-colheita-devem-ser-consideradas>. Acesso em: 14 maio 2018.

SANTOS, L. O. Armazenamento refrigerado, atmosfera controlada e desverdecimento de tangerinas. 2011. xi, 143 f. **Tese** (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/105171>. Acesso em: 10 maio 2018.

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **O cultivo e o mercado da tangerina, 2016.** Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-da-tangerina,aefda-5d3902e2410VgnVCM100000b272010aRCRD>. Acesso em: 06 out. 2018.

TOFANELLI, M. B. et al. Levantamento de perdas em hortaliças frescas na rede varejista de Mineiros. *Horticultura Brasileira*, v. 27, n. 1, p. 116-120, 2009.

VAZ, L. M. S. et al. **Diagnóstico dos resíduos sólidos produzidos em uma feira livre: o caso da feira do tomba.** *Sitientibus*, Feira de Santana, n. 28, p. 145-159, 2003.

WEISS, C.; SANTOS, M. A logística de distribuição e as perdas ao longo da cadeia produtiva das frutas frescas. In: **CONGRESSO VIRTUAL BRASILEIRO-ADMINISTRAÇÃO.** 2012. p. 2-23.

## **ADAPTAÇÃO DA METODOLOGIA DE EXTRAÇÃO LIPÍDICA POR EXTRATOR SOXHLET PELO EQUIPAMENTO SOXTEC™ 2055 EM PRODUTOS DE SOJA**

*Thais Fascina Silva  
Deise Aparecida da Silva Dijuli  
Marianne Ayumi Shirai  
Neusa Fátima Seibel*

### **1. INTRODUÇÃO**

Com o passar dos anos, a população vem preocupando-se mais com a saúde e com isso acabam aderindo a hábitos alimentares mais saudáveis, aumentando, assim, a procura por alimentos com melhor qualidade nutricional. Uma forma de saber a qualidade nutricional de um alimento é por meio da determinação de sua composição proximal, que consiste em umidade, fibras, carboidratos, lipídios, cinzas e proteínas. Com a determinação da composição proximal dos alimentos é possível montar uma tabela nutricional deste produto de forma correta e de fácil compreensão para consumidores, pois deste modo eles saberão o que estão ingerindo e em quais quantidades (TORRES et al., 2000; PHILIPPI, 2014).

Os lipídios possuem papel fundamental na composição dos alimentos possuindo uma alta importância em dietas equilibradas, pois além de proporcionar energia para os seres humanos, em função do seu alto teor calórico, eles apresentam ácidos graxos essenciais, vitaminas lipossolúveis e alguns micronutrientes

lipofílicos (BOTHAM; MAYES, 2017). Os lipídios possuem certa heterogeneidade em sua estrutura química, o que acaba dificultando a sua quantificação nos alimentos, por isto é de suma importância a escolha de um método adequado e solventes eficientes que serão capazes de extraí-los completamente do produto e serem quantificados em sua totalidade (GUSSO et al., 2012).

Dentre os vários métodos de extração lipídica a técnica mais utilizada e preconizada pela AOAC é utilizando o extrator de Soxhlet, sendo realizada com o uso solventes orgânicos onde a quantificação lipídica é realizada através do refluxo deste solvente na amostra alimentícia. O refluxo acontece da seguinte forma: o extrator de Soxhlet com a amostra, colocada dentro de um cartucho de papel filtro, fica acoplado entre o condensador e o balão contendo o solvente, que ao entrar em ebulição, aquecido por uma chapa ou manta de aquecimento, evapora subindo por toda a estrutura da vidraria e é condensado quando entra em contato com o condensador resfriado por circulação de água. O solvente cai sobre a amostra no reservatório do extrator, e ao atingir um determinado volume, o solvente retorna ao balão arrastando os lipídios, e recomeçando outro refluxo (MAX LABOR, 2018). Apesar de ser um dos métodos mais utilizados, acaba sendo muitas vezes desvantajoso devido ao tempo necessário para realizar a análise, podendo levar mais de seis horas dependendo do tipo de amostra e também devido ao gasto muitas vezes excessivo de solvente devido à perda por evaporação, pois o reagente mais utilizado é o éter de petróleo e este apresenta uma baixa temperatura de ebulição, em torno de 35 °C, sendo muito volátil (AOAC, 2016).

Visando à determinação lipídica em alimentos, este trabalho teve como finalidade a adaptação da metodologia de quantificação de lipídios realizada no extrator de Soxhlet para o equipamento Soxtec™ 2055, em produtos de soja, sendo estes: grão, extrato, *okara* e tofu. Além disso, objetiva-se diminuir o tempo necessário para a realização desta análise, diminuir o gasto de solvente durante a realização da extração lipídica e aumentar a recuperação do solvente gasto durante a análise, visto que esta é uma análise realizada com certa frequência na UTFPR Câmpus Londrina pelos discente e docentes do curso de Tecnologia em Alimentos.

## 2. QUANTIFICAÇÃO LIPÍDICA DOS GRÃOS DE SOJA E DERIVADOS

Nesta seção serão abordadas algumas características presentes nos grãos de soja e seus derivados e a funcionalidade do equipamento Soxtec™ 2055.

## 2.1 SOJA

A soja comumente comercializada (*Glycine max.* (L) Merrill) é uma leguminosa oleaginosa que tem como origem o território asiático, sendo cultivada inicialmente pelos chineses há mais de cinco mil anos. Os Estados Unidos, começou a cultivar este grão apenas no início do século XX, e com isso a sua produção cresceu, chegando no Brasil por volta do ano de 1901, e desde então vem sendo a cultura agrícola que mais cresce no território nacional, sendo uma das principais responsáveis pela expansão da fronteira agrícola do país (JOSÉ et al., 2015; SEIBEL, 2018).

O seu grão possui uma alta relevância no mercado devido à sua qualidade nutricional, tendo proteínas de alto valor biológico, além de carboidratos, lipídios (em média 21%), fosfolipídios, vitaminas, fibras, antioxidantes e isoflavonas. Entretanto, a sua composição química total pode variar de acordo com inúmeros fatores, como qualidade do solo do plantio, condições climáticas, disponibilidade e qualidade da água, uso ou não de fertilizantes entre outros fatores (JOSÉ et al., 2015; SEIBEL, 2018).

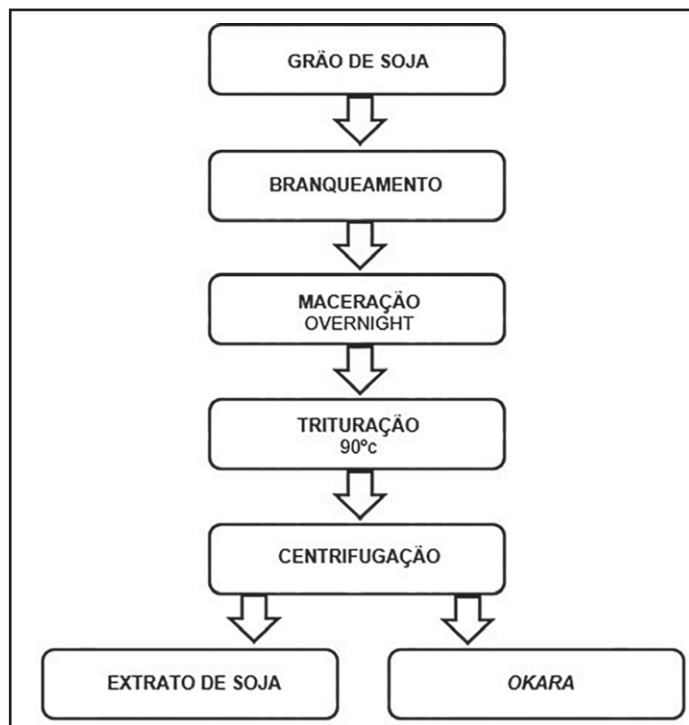
Com o intuito de conciliar uma alimentação e estilo de vida mais saudável, o consumo de produtos à base de soja pela população vem crescendo, pois, estudos mostraram que devido à qualidade nutricional da soja, sua composição química e ações benéficas à saúde do ser humano ela pode ser considerada um alimento funcional, pois auxilia na prevenção de doenças, diminuindo o risco de doenças cardiovasculares, diminuição de sintomas da menopausa, entre outros. No mercado, além do grão de soja, existem diversos produtos oriundos da soja que fornecem todos estes benefícios, como por exemplo o extrato de soja, *okara* e tofu (JOSÉ et al., 2015; SEIBEL, 2018).

## 2.2 EXTRATO DE SOJA

Um dos produtos comercializado no Brasil oriundo da soja é o seu extrato, podendo ser encontrado tanto na sua forma em pó quanto líquida, normalmente combinado com suco de frutas para torná-lo mais atrativo e incentivar o seu consumo, visto que ainda se tem um certo preconceito por parte da população com produtos à base de soja devido ao sabor característico de grão cru proporcionado pelas enzimas lipoxigenase quando os grãos não passam por um tratamento térmico prévio, o que é muito raro atualmente, pois quando os grãos passam por este tratamento o produto final possui uma maior aceitação sensorial (ARDILES et al., 2016).

O processo de obtenção do extrato de soja, conforme demonstrado na Figura 1, consiste em quatro etapas, a primeira é a inativação enzimática ou branqueamento, maceração dos grãos de soja (processo de intumescimento dos grãos de soja, preferencialmente realizado *overnight*), trituração (deve ser realizada com os grãos e a água a 90 °C) e por último sua centrifugação (RIBEIRO et al., 2014).

Figura 1 - Obtenção do extrato de soja e *okara*



Fonte: Seibel (2018).

## 2.3 OKARA

O *okara* é o subproduto obtido durante o processamento do extrato de soja (Figura 1), sendo um produto de alto teor de proteínas, fibras alimentares e minerais, além de baixo teor de carboidratos. Apesar da sua qualidade nutricional, a indústria na maioria das vezes considera-o apenas como um resíduo e acaba sendo descartado. No entanto, além de alta qualidade nutricional o *okara* possui um baixo custo e pode ser utilizado, tanto na sua forma úmida quanto na forma de farinha, para acrescentar nutrientes em outros produtos aumentando, assim, o

seu valor nutricional. O Japão e a China, por exemplo, utilizam o *okara* em sua alimentação há vários anos, sendo tanto como ingrediente em alguma receita, quanto apenas acrescentado de sal e pimenta (JOSÉ et al., 2015; SILVA et al., 2016; SEIBEL, 2018).

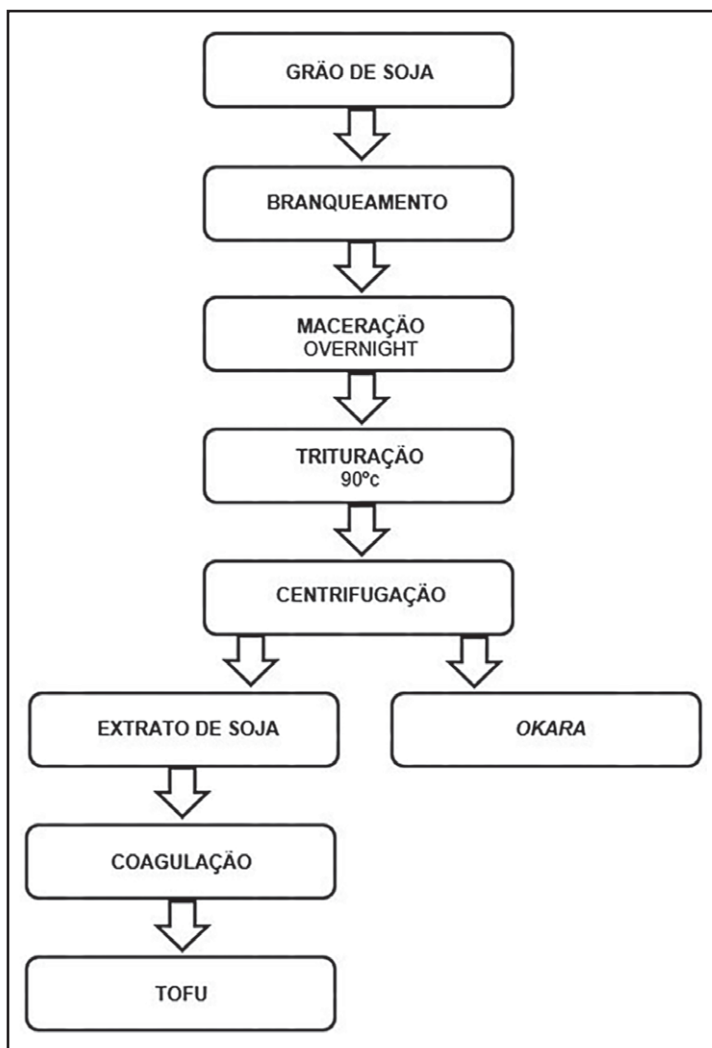
## 2.4 TOFU

O tofu também é um produto oriundo dos grãos de soja, sendo consumido principalmente no oriente e países do sudeste asiático, porém o consumo por parte dos ocidentais vem crescendo devido à sua qualidade nutricional e benefícios proporcionados à saúde. Dependendo da metodologia utilizada para a sua obtenção, o tofu pode ser classificado como firme, macio e tipo *silken*, sendo a textura um dos fatores primordiais para a sua aceitação (GONÇALVES et al., 2016; DANIELS; BENASSI; SEIBEL, 2018).

A obtenção do tofu consiste no aquecimento do extrato de soja, coagulação e enformagem, sendo a coagulação o passo de maior cautela, pois nesta etapa há diversas variáveis como a temperatura, tipo de coagulante, forma de agitação e sua velocidade e todas devem ser controladas para se obter o produto com as características desejadas. A qualidade final do produto, além de ser influenciada pelas condições da sua obtenção, pode ser influenciada pelo cultivar da soja e qualidade do grão. Resumidamente este produto é um gel obtido através da adição de coagulantes no extrato de soja que acarretam na precipitação das proteínas. Na Figura 2 é possível observar uma breve descrição do processamento do tofu (GONÇALVES et al., 2016; DANIELS; MANDARINO; SEIBEL, 2018).



Figura 2 - Obtenção de tofu

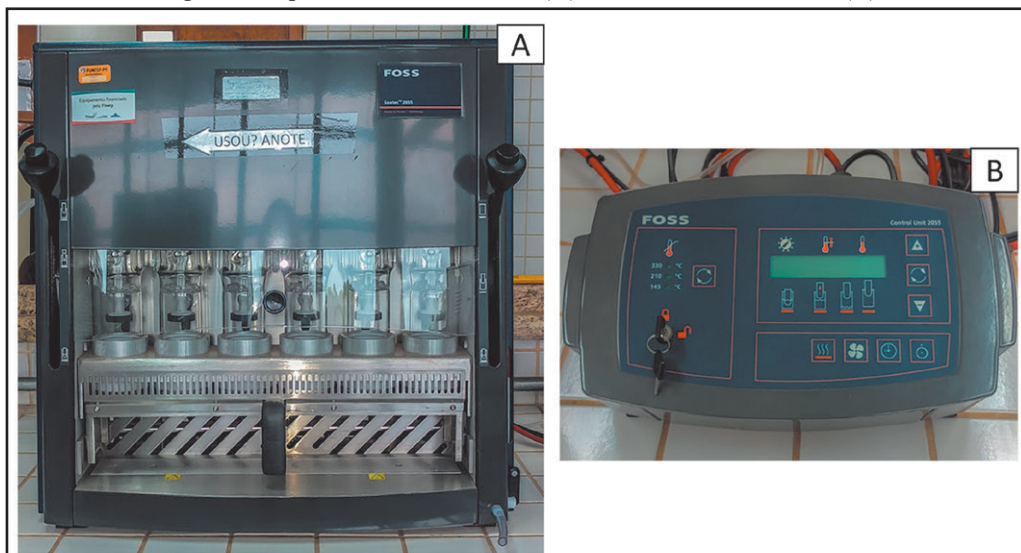


Fonte: Seibel (2018).

## 2.5 EQUIPAMENTO SOXTEC™ 2055

O equipamento de extração lipídica semiautomático Soxtec™ 2055 (Figura 3), possui capacidade para seis amostras simultâneas e foi projetado para dar o máximo de praticidade e segurança para o usuário, pois o contato direto com o solvente extrator é mínimo (PT HAES BROTHERS LABORATORY & SCIENTIFIC INSTRUMENTS, 2018).

Figura 3 - Aparelho Soxtec™ 2055 (A) e Painel Soxtec™ 2055 (B)



Fonte: Autoria própria (2018).

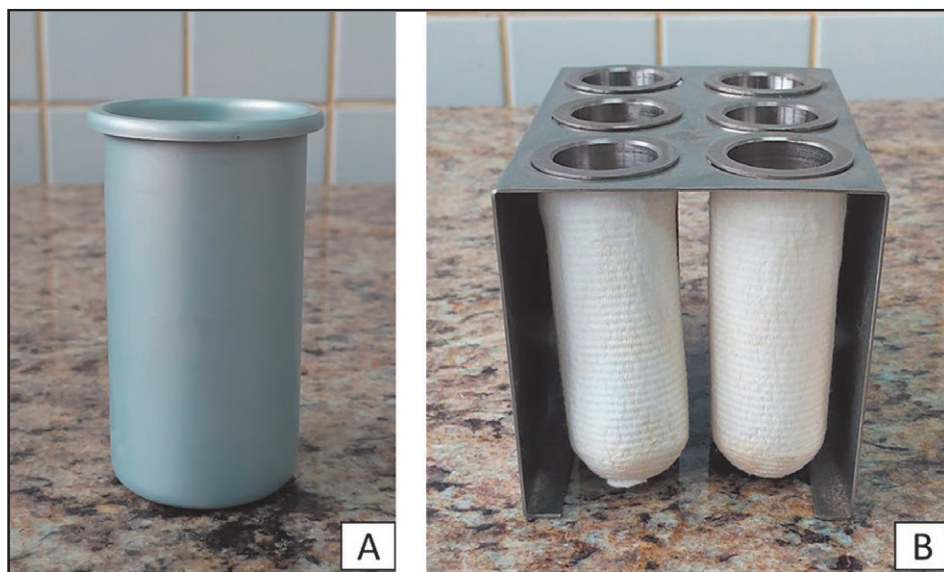
A realização da extração de lipídios deste equipamento é reconhecida pela AOAC, e nele é possível programar no seu painel a temperatura que ele irá trabalhar e o tempo de cada fase, sendo elas a de ebulição, refluxo ou lavagem, recuperação e retirada das amostras. Foi projetado para funcionar com todos os solventes, exceto éter dietílico, devido ao alto risco de explosão. Segundo o fabricante, a recuperação do solvente pode chegar em até 80% (FOSS ANALYTICAL, 2009; PT HAES BROTHERS LABORATORY & SCIENTIFIC INSTRUMENTS, 2018).

O princípio da extração de lipídios utilizando o conjunto completo de Soxhlet, se dá pela passagem contínua de um determinado solvente através da amostra. A amostra deve ser seca e triturada previamente para aumentar sua superfície de contato e facilitar a remoção das partículas de lipídios, e pesadas em cartuchos de papel filtro. O balão de fundo chato utilizado para a determinação, deve ser tarado em estufa a 105 °C por três horas e pesados. Os cartuchos com a amostra devem ser colocados dentro do extrator e com uma quantidade suficiente de solvente para que ocorra o refluxo. Neste caso a amostra não fica em contato direto com o solvente em ebulição e muitas vezes é necessário repor o solvente durante a análise devido à sua evaporação (AOAC, 2016).

No caso da análise no equipamento Soxtec™ 2055, a amostra deve passar pelo mesmo procedimento citado, o que difere é o uso de cadinhos de alumínio

(Figura 4) no lugar dos balões de vidro, que devem ser tarados da mesma forma, e os cartuchos com a amostra são colocados em dedais de celulose, então encaixados no equipamento. No caso do equipamento Soxtec™ 2055 não é necessário repor o solvente durante a análise (AOAC, 2016; FOSS ANALYTICAL, 2009).

Figura 4 - Cadinho de alumínio (A) e dedais de celulose (B)



Fonte: Autoria própria (2018).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa possui caráter acadêmico, experimental e quantitativo. Foi desenvolvida nos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina durante o primeiro e segundo semestre de 2018.

Os grãos de soja BRS 232 safra 2015/16 utilizados tanto para as análises quanto para a obtenção do extrato de soja, *okara* e tofu foram doados pela EM-BRAPA Soja. O extrato de soja, *okara* e tofu foram produzidos usando as metodologias segundo Seibel (2018) com maceração *overnight* na proporção de 1:6 (soja:água).

### 3.1 MÉTODOS

As metodologias utilizadas neste projeto foram para a quantificação de lipídios utilizando o conjunto completo de Extrator Soxhlet da marca Phox com a bateria de aquecimento da marca Cientec e o equipamento Soxtec™ 2055. Sendo que todas as análises foram realizadas em triplicata. O solvente utilizado para todas as análises foi o éter de petróleo da marca Neon.

#### Quantificação de lipídios com o conjunto completo de Soxhlet

A quantificação de lipídios dos grãos, extrato de soja, *okara* e tofu foi realizada segundo metodologia da AOAC (2016), onde os balões de fundo chato de 250 mL foram tarados previamente em estufa a 105 °C por três horas. As amostras do grão de soja foram moídas, peneiradas em peneira 40 *mesh*, secas previamente e pesou-se duas gramas em cartuchos de papel filtro. O mesmo procedimento foi realizado para as amostras de *okara* e tofu exceto a passagem em peneira.

As amostras do extrato de soja, tiveram que passar por uma hidrólise ácida com ácido clorídrico 3 M, onde 10 gramas de extrato de soja foram pesados em balão de fundo chato de 250 mL e adicionados 100 mL da solução do ácido; essas amostras ficaram em ebulição em capela por uma hora. Após esfriamento, as amostras foram filtradas em papel filtro e lavadas com água destilada até a neutralização do pH e o material retido no papel foi seco em estufa a 105 °C. O papel filtro com o material retido foi dobrado e inserido dentro de cartuchos também de papel filtro para a extração lipídica.

As amostras de grão de soja, *okara* e tofu ficaram em refluxo no extrator de Soxhlet por seis horas, enquanto as amostras de extrato de soja ficaram em refluxo por oito horas.

#### Quantificação de lipídios no equipamento Soxtec™ 2055

O preparo e pesagem das amostras realizadas para a extração no equipamento Soxtec™ 2055 foram exatamente iguais aos preparos para a quantificação no extrator de Soxhlet. O que diferiu nesta quantificação foi o tempo utilizado para a extração lipídica, e no lugar dos balões de fundo chato foram utilizados cadinhos de alumínio pertencentes ao equipamento.

No Soxtec™ 2055 existem quatro etapas, sendo elas a de ebulição, refluxo, recuperação de solvente e retirada das amostras. O tempo utilizado para a recuperação do solvente foi mantido o mesmo durante todo o trabalho, sendo esse de 20 minutos. Enquanto o tempo de ebulição e refluxo foram sendo testados até encontrar as condições adequadas para se obter resultados similares ao da extração no conjunto completo de Soxhlet com um menor tempo. A temperatura de todo o processo permaneceu a mesma durante todo o experimento, sendo de 110 °C, pois segundo o fabricante a temperatura máxima do equipamento para éter de petróleo deve ser de 135 °C, e como a temperatura possuía algumas oscilações, optou-se pela temperatura de 110 °C (FOSS ANALYTICAL, 2009).

### 3.2 FÓRMULAS PARA DETERMINAÇÃO LIPÍDICA

As fórmulas utilizadas para calcular a porcentagem de lipídios nas amostras sólidas, tanto no uso do conjunto de Soxhlet quanto no equipamento Soxtec™ 2055 foram, respectivamente (AOAC, 2016):

$$\% \text{ lipídios} = \frac{(\textit{peso bal\~ao final} - \textit{peso bal\~ao inicial})}{\textit{peso da amostra}}$$

$$\% \text{ lipídios} = \frac{(\textit{peso cadinho final} - \textit{peso cadinho inicial})}{\textit{peso da amostra}}$$

Enquanto as fórmulas utilizadas para o cálculo da porcentagem lipídica do extrato de soja no extrator de Soxhlet e equipamento Soxtec™ 2055, foram respectivamente (AOAC, 2016):

$$\% \text{ lipídios} = \frac{[(\textit{peso bal\~ao final} - \textit{peso bal\~ao inicial}) \times 10]}{\textit{peso da amostra}}$$

$$\% \text{ lipídios} = \frac{[(\textit{peso cadinho final} - \textit{peso cadinho inicial}) \times 10]}{\textit{peso da amostra}}$$

### 3.3 TRATAMENTO DOS DADOS

Todos os resultados obtidos foram tratados com o software *Statistica 13.3.0*, por meio da técnica de análise de variância (ANOVA) e os testes de comparação entre médias de Tukey a 5% de significância.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na quantificação de lipídios utilizando o extrato de Soxhlet, que deveria ser uma análise simples, porém demorada, observou-se a presença de obstáculos que acabaram tornando-a trabalhosa, como por exemplo, o mau funcionamento da chapa de aquecimento utilizada, e também a perda excessiva de éter de petróleo entre as conexões das vidrarias utilizadas para a análise.

Como os primeiros testes realizados no equipamento Soxtec™ 2055 foram justamente com os grãos de soja e ainda não se sabia ao certo quais parâmetros seriam os ideais para extração lipídica total do grão, realizou-se testes com tempos diferentes da fase de ebulição e refluxo. De acordo com Tabela 1, dois testes foram realizados no extrator de Soxhlet, de acordo com a AOAC (2016), e três testes no equipamento, variando os tempos de ebulição e refluxo.

Tabela 1 – Teor lipídico dos grãos de soja

<b>Método realizado</b>	<b>Lipídios (%)</b>
Extrator de Soxhlet (1º teste, 6 horas de extração)	21,67 ± 0,005 <sup>a</sup>
Extrator de Soxhlet (2º teste, 6 horas de extração)	20,99 ± 0,008 <sup>a</sup>
Soxtec™ 2055 (10 minutos na fase de ebulição e 2 horas na de refluxo)	18,78 ± 0,005 <sup>b</sup>
Soxtec™ 2055 (60 minutos na fase de ebulição e 60 minutos na de refluxo)	20,98 ± 0,004 <sup>a</sup>
Soxtec™ 2055 (50 minutos na fase de ebulição e 20 minutos na de refluxo)	20,32 ± 0,006 <sup>a</sup>

Média em triplicata ± desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais, não diferiram entre si pelo teste de Tukey, ( $p \leq 0,05$ ).

Fonte: Autoria própria (2018).

Com estes testes, pode-se observar que quanto menor era o tempo de ebulição, menor era a quantidade de lipídio extraída. Este acontecimento pode ser justificado decorrente a dois processos que ocorrem durante a extração lipídica, a dissolução e a difusão. A dissolução ocorre de forma rápida, pois consiste

na remoção das moléculas de lipídios superficiais, enquanto a difusão é uma etapa mais demorada, pois nela acontece a extração das moléculas de lipídios que estão dentro das células vegetais, e para isso acontecer, o solvente precisa atravessar a parede semipermeável das células (SILVA, 2017). Então, justamente para aumentar o tempo de contato da amostra com o solvente e permitir que acontecesse de forma mais efetiva o processo de difusão, optou-se por aumentar o tempo de ebulição e diminuir o tempo da fase de refluxo.

Os resultados foram avaliados estatisticamente, e pode-se perceber com a Tabela 1 que apenas o teste com duas horas de refluxo diferiu dos outros testes com menor tempo e da análise convencional realizada com o extrator de Soxhlet. Portanto, é possível observar que o menor tempo total possível para conseguir uma extração tão eficaz quanto a convencional, que dura seis horas, foi de 90 minutos, visto que além do tempo de ebulição e refluxo constados na tabela, havia 20 minutos para recuperação do solvente utilizado, que foi mantida ao longo de todo o experimento.

Devido a diversos fatores, como condições climáticas, qualidade do solo, genética, cultivar entre outros, os grãos de soja podem apresentar diferenças em sua composição, assim como em seus produtos derivados. Usualmente, os grãos apresentam aproximadamente 21% de lipídios (GONÇALVES et al., 2014).

Segundo Seibel (2018) o grão de soja da Cultivar BRS 232 possui cerca de 20,72% de lipídios, sendo a cultivar utilizada neste trabalho.

Nos testes realizados no equipamento Soxtec™ 2055 pode-se observar de acordo com a Tabela 2, que utilizando um tempo um pouco maior de ebulição do que o utilizado com as amostras de grãos de soja, obteve-se uma extração estatisticamente igual à extração em extrator de Soxhlet, ou seja, o tempo total de seis horas necessário para realizar a análise com o conjunto completo de Soxhlet foi reduzido para uma hora e 40 minutos.

Tabela 2 - Teor lipídico do *Okara*

<b>Método realizado</b>	<b>Lipídios (%)</b>
Extrator de Soxhlet (6 horas de extração)	22,60 ± 0,017 <sup>a</sup>
Soxtec™ 2055 (50 minutos na fase de ebulição e 20 minutos na de refluxo)	14,89 ± 0,003 <sup>b</sup>
Soxtec™ 2055 (uma hora e 20 minutos na fase de ebulição e 20 minutos na de refluxo)	20,71 ± 0,005 <sup>a</sup>

Média em triplicata ± desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais, não diferiram entre si pelo teste de Tukey, (p<0,05).

Fonte: Autoria própria (2018).

A necessidade de aumentar o tempo da fase de ebulição, pode ser justificada pela dificuldade da fase de difusão durante a extração lipídica, onde apenas 50 minutos não foi o suficiente para que ocorresse a difusão do solvente nas moléculas da amostra para a extração dos lipídios presentes (SILVA, 2017).

Pereira (2013) realizou um trabalho que avaliou a diferença na composição do extrato de soja e *okara* por diferentes métodos de obtenção destes. O *okara*, quando obtido na proporção de 1:6 de grão de soja para água e separado do extrato por centrifugação, apresenta cerca de 22,85% de lipídios. Como as amostras de *okara* foram obtidas nesta mesma proporção, pode-se dizer que os resultados obtidos estão dentro o esperado.

De acordo com a Tabela 3, os resultados obtidos para no equipamento Soxtec™ 2055 não diferiram estatisticamente do valor encontrado quando utilizado o extrator de Soxhlet, sendo assim, pode-se afirmar que o menor tempo encontrado para se obter uma extração de lipídios eficiente de extrato de soja, foi de 90 minutos.

Tabela 3 - Teor lipídico do extrato de soja

<b>Método realizado</b>	<b>Lipídios (%)</b>
Extrator de Soxhlet (8 horas de extração)	2,51 ± 0,742 <sup>a</sup>
Soxtec™ 2055 (50 minutos na fase de ebulição e 20 minutos na de refluxo)	1,56 ± 0,007 <sup>a</sup>
Soxtec™ 2055 (2 horas na fase de ebulição e 40 minutos na de refluxo)	1,59 ± 0,001 <sup>a</sup>

Média em triplicata ± desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais, não diferiram entre si pelo teste de Tukey, (p<0,05).

Fonte: Autoria própria (2018).

O extrato de soja obtido por meio da proporção 1:6 e separado do resíduo *okara* por centrifugação apresenta cerca de 2,55% de lipídios (PEREIRA, 2013), não estando muito longe dos valores encontrados nestas análises.

Os resultados obtidos para a extração de lipídios das amostras de tofu estão representados na Tabela 4, e com ela é possível observar que não foi possível obter os mesmos resultados no conjunto completo de Soxhlet com o equipamento Soxtec™ 2055, mesmo sendo utilizado três horas da fase de ebulição. Porém, estatisticamente, os resultados obtidos com três horas de ebulição não diferiram dos resultados encontrados para duas horas de ebulição ou 50 minutos de ebulição.



Tabela 4 - Teor lipídico do tofu

<b>Método realizado</b>	<b>Lipídios (%)</b>
Extrator completo de Soxhlet (1º teste, 6 horas de extração)	24,65 ± 0,010 <sup>a</sup>
Extrator completo de Soxhlet (2º teste, 6 horas de extração)	26,26 ± 0,015 <sup>a</sup>
Soxtec™ 2055 (50 minutos na fase de ebulição e 20 minutos na de refluxo)	17,98 ± 0,001 <sup>c</sup>
Soxtec™ 2055 (2 horas na fase de ebulição e 40 minutos na de refluxo)	20,85 ± 0,006 <sup>b</sup>
Soxtec™ 2055 (3 horas na fase de ebulição e 20 minutos na de refluxo)	20,07 ± 0,008 <sup>bc</sup>

Média em triplicata ± desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais, não diferiram entre si pelo teste de Tukey, ( $p \leq 0,05$ ).

Fonte: Autoria própria (2018).

Com estes resultados pode-se chegar à conclusão de que o equipamento não se mostrou eficiente em relação à extração de lipídios para amostras de tofu, visto que, Benassi, Benassi e Prudêncio (2011), encontraram 27,61% de lipídios em amostras de tofu produzidas com o mesmo cultivar de soja utilizada neste trabalho, BRS 232, sendo os resultados obtidos com o conjunto completo de Soxhlet mais próximo deste.

Optou-se por não realizar novos testes com as amostras de tofu, haja vista que o consumo de solvente estava sendo alto e a sua recuperação estava sendo muito baixa.

Era necessário colocar no mínimo 150 mL de éter de petróleo em cada balão de fundo chato para iniciar a análise no extrator de Soxhlet, porém o gasto total não era fixo, pois era necessário repor o solvente durante o procedimento devido à sua evaporação. O gasto variava de acordo com a temperatura ambiente do dia da análise e o controle do vazamento que acontecia através das conexões do extrator com o condensador e balão. Em dias mais quentes, perdia-se solvente com uma maior facilidade e o controle de vazamento era mais difícil de ser realizado do que nos dias mais frios.

Em contrapartida, o volume gasto utilizando o equipamento Soxtec™ 2055 era fixo, visto que, para cada cadinho de alumínio eram necessários a adição de 90 ml de éter de petróleo para a realização de toda a análise. Como foi realizada em triplicata, gastava-se 270 mL por análise no equipamento e não havia a reposição de solvente durante o procedimento.

A recuperação de solvente não foi fixa em nenhuma das análises, pois para a recuperação no extrator de Soxhlet, a temperatura também tinha que estar

mais amena, enquanto para o equipamento, o volume recuperado dependia do tempo programado da análise; em períodos mais longos a recuperação era um pouco menor.

Na Tabela 5 é possível observar a porcentagem total de solvente recuperado com as duas análises das amostras de grãos de soja utilizando o conjunto completo de Soxhlet, e o total de solvente utilizado e recuperado nos três testes que foram realizados no equipamento Soxtec™ 2055. Pode-se perceber que foi utilizado 480 mL a mais de solvente para realizar dois testes com o conjunto de extrator de Soxhlet, e além de gastar menos, a recuperação foi de aproximadamente 5% a mais, confirmando a vantagem de utilizar o equipamento Soxtec™ 2055 para a quantificação de lipídios em grãos de soja.

Tabela 5 - Recuperação de solvente para amostras de Grãos de Soja

<b>Extrator de Soxhlet</b>	
Gasto	1290 mL
Recuperado	530 mL
% Recuperada	41,09%
<b>Soxtec™ 2055</b>	
Gasto	810 mL
Recuperado	375 mL
% Recuperada	46,30%

Foram realizadas duas análises em triplicata em extrator de Soxhlet e três no equipamento Soxtec™ 2055.

Fonte: Autoria própria (2018).

A quantificação lipídica das amostras de *okara* foi realizada uma vez, utilizando o conjunto completo de Soxhlet, e como pode ser observado na Tabela 6, para realizar apenas uma análise foi gasto 540 mL, a mesma quantidade utilizada para realizar duas análises no equipamento Soxtec™ 2055. Quando comparado o total de solvente gasto e recuperado, a porcentagem de recuperação utilizado o extrator de Soxhlet é maior, mas deve-se levar em consideração que para uma única repetição foi gasto 540 mL, enquanto para a quantificação no equipamento é necessário apenas 290 mL, pode este motivo o uso do equipamento para a quantificação de lipídios no Soxtec™ 2055 mostrou-se ser mais vantajosa.

Tabela 6 - Recuperação de solvente para amostras de *Okara*

<b>Extrator de Soxhlet</b>	
Gasto	540 mL
Recuperado	316 mL
% Recuperada	58,52%
<b>Soxtec™ 2055</b>	
Gasto	540 mL
Recuperado	282 mL
% Recuperada	52,22%

Foi realizada uma análise em triplicata em extrator de Soxhlet e duas no equipamento Soxtec™ 2055.

Fonte: Autoria própria (2018).

Assim, como para as amostras de *okara*, as amostras de extrato de soja também só foram analisadas uma vez utilizando o conjunto de extrator de Soxhlet, porém o volume gasto de éter de petróleo foi maior do que o utilizado para o *okara*, pois no dia desta análise a temperatura ambiente estava mais alta, e conseqüentemente a perda de solvente foi maior e foi necessário repô-lo durante a análise. Para as amostras de extrato de soja, o equipamento Soxtec™ 2055 também se mostrou mais efetivo na questão de gasto e recuperação de solvente (Tabela 7).

Tabela 7 - Recuperação de solvente para amostras de Extrato de Soja

<b>Extrator de Soxhlet</b>	
Gasto	690 mL
Recuperado	200 mL
% Recuperada	28,99%
<b>Soxtec™ 2055</b>	
Gasto	540 mL
Recuperado	270 mL
% Recuperada	50,00%

Foi realizada uma análise em triplicata em extrator de Soxhlet e duas no equipamento Soxtec™ 2055.

Fonte: Autoria própria (2018).

Na Tabela 8 é possível observar que a porcentagem de recuperação de solvente utilizando o Soxtec™ 2055 foi menor quando comparado com os resultados anteriores, isto aconteceu, pois, as amostras de tofu passaram por uma fase de ebulição mais prolongada, chegando a três horas, e com isso a recuperação do solvente foi menor. Como os resultados obtidos na extração não se mostraram precisos, e a recuperação de solvente neste caso foi baixa quando utilizado o equipamento, o uso do extrator de Soxhlet mostrou-se mais vantajoso.

Tabela 8 - Recuperação de solvente para amostras de Tofu

<b>Extrator de Soxhlet</b>	
Gasto	1010 mL
Recuperado	556 mL
% Recuperada	55,05 %
<b>Soxtec™ 2055</b>	
Gasto	810 mL
Recuperado	291 mL
% Recuperada	35,93%

Foram realizadas duas análises em triplicata em extrator de Soxhlet e três no equipamento Soxtec™ 2055.

Fonte: Autoria própria (2018).

## 5. CONCLUSÃO

Foi possível a adaptação da metodologia de quantificação de lipídios para as amostras de grãos de soja, *okara* e extrato de soja, no equipamento Soxtec™ 2055. No entanto, não houve tempo hábil para adaptar as amostras de tofu. Acredita-se que, com mais testes, seja possível estabelecer parâmetros no equipamento para que a quantificação seja eficiente.

A adaptação da metodologia para as amostras de grãos de soja, *okara* e tofu só foram possíveis devido à possibilidade da realização de diversos testes de quantificação dos lipídios, tanto utilizando o conjunto de extrator de Soxhlet quanto o equipamento Soxtec™ 2055. O tempo total necessário para a realização da quantificação lipídica mostrou-se muito inferior ao tempo necessário quando utilizado o extrator de Soxhlet. Outra vantagem encontrada também foi a maior economia de solvente orgânico e sua maior recuperação.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa de Educação Tutorial (PET), ao Departamento Acadêmico de Alimentos e ao Laboratório Multiusuário da UTFPR Câmpus Londrina.

## REFERÊNCIAS

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. 20 ed. (2016).

ARDILES, N. E. et al. *Petit-suisse* com extrato de soja – produção e avaliação. In: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2016, Gramado, RS. **Anais**, Gramado: SBCTA Regional, 2016.

BENASSI, V. T.; BENASSI, M. T.; PRUDÊNCIO, S. H. Cultivares brasileiras de soja: características para a produção de tofu e aceitação pelo mercado consumidor. **Seminário: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 1901-1914, 2011.

BOTHAM, K. M.; MAYES, P. A. Metabolismo dos lipídios. In: RODWELL, V. W. et al. **Bioquímica ilustrada de Harper**. ed. 30. Porto Alegre: AMGH Editora LTDA, 2017. p. 211-222.

DANIELS, J.; BENASSI, M. T.; SEIBEL, N. F. Análise de cor e textura de tofus padrão e defumado. In: VIII Congresso Brasileiro de Soja, Goiânia, GO, 2018: inovação, tecnologias digitais e sustentabilidade da soja. **Anais**, Brasília, DF: Embrapa, jun. 2018. p. 41-43.

DANIELS, J.; MANDARINO, J. M. G.; SEIBEL, N. F. Perfil de isoflavonas da matéria-prima e dos tofus produzidos com e sem defumação. In: VIII Congresso Brasileiro de Soja, Goiânia, GO, 2018: inovação, tecnologias digitais e sustentabilidade da soja. **Anais**, Brasília, DF: Embrapa, jun. 2018. p. 38-40.

FOSS ANALYTICAL. **Soxtec™ 2055 Manual System User Manual**. Rev. 4. Höganäs, Sweden. 2009.

GONÇALVES, L. C. et al. Chemical composition and technological properties of two soybeans cultivars. **BBR – Biochemistry and Biotechnology Reports**. v. 3, n. 1, p. 33-40, jan./jul 2014.

GONÇALVES, L. C. et al. Isoflavonas e aceitação sensorial de tofus com orégano usando duas cultivares de soja. In: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2016, Gramado, RS. **Anais**, Gramado: SBCTA Regional, 2016.

GUSSO, A. P. et al. Comparação de diferentes métodos analíticos para quantificação de lipídios em creme de ricota. **Rev. Inst. Latic.**, Cândido Torres, v. 67, n. 389, nov/dez. 2012.

JOSÉ, A. C. S. et al. *Okara*: um resíduo industrial da soja a ser incorporado na alimentação humana. **Alimentos e Bebidas**. São Bernardo do Campo, ed. 5. p. 30-33, 2015.

MAX LABOR. **Para que serve o extrator Soxhlet?** 2018. Disponível em: <http://www.maxlabor.com.br/blog/para-que-serve-o-extrator-soxhlet/>. Acesso em: 22 out. 2018.

PEREIRA, D. G. **Obtenção de extrato de soja e okara por diferentes métodos**. 2013. f. 34. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2013.

PHILIPPI, S. T. Alimentação saudável e o redesenho da pirâmide dos alimentos. In: \_\_\_\_\_. **Pirâmide dos alimentos: Fundamentos básicos da nutrição**. Tamboré, SP: Manole, 2014.

PT HAES BROTHERS LABORATORY & SCIENTIFIC INSTRUMENTS. **Soxtec™ 2055 Fat Extraction System**. Disponível em: <http://www.haes.co.id/>

wp-content/uploads/2012/01/FOSS\_CA\_Soxtec\_2055\_Manual.pdf. Acesso em: 24 jun. 2018.

RIBEIRO, G. P. et al. Development of soy-based beverages with papaya and mango pulps. **Acta Scientiarum. Technology**, Maringá, v. 36, n. 2, p. 341-347, abr./jun., 2014.

SEIBEL, N. F. **Soja: cultivo, benefícios e processamento**. Curitiba: Editora CRV, 2018.

SILVA, A. D. R. **Extração e caracterização do óleo das sementes do fruto da graviola (*Annonamuricata* L.)**. 2017. f. 75. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Energia da Biomassa). Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2017.

SILVA, T. F. et al. Pão elaborado com farinha de *okara*. In: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2016, Gramado, RS. **Anais**, Gramado: SBCTA Regional, 2016.

TORRES, E. A. F. S. et al. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciê. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 20, n. 2, maio/ago. 2000.

# Capítulo 16

## **APLICAÇÃO DO SISTEMA APPCC NO PROCESSAMENTO DO TRIGO PARA OBTENÇÃO DA FARINHA INTEGRAL**

*Franciele Maria Perseguelo  
Mayka Reghiany Pedrão  
Lúcia Felicidade Dias  
Fábio Augusto Garcia Coró  
Neusa Fátima Seibel*

### **1. INTRODUÇÃO**

A qualidade dos produtos alimentares de origem vegetal ou animal está diretamente relacionada com a qualidade da matéria-prima utilizada para o processamento. Neste sentido, é de grande importância caracterizar os principais riscos existentes na etapa inicial. O termo “qualidade” está relacionado ao valor nutritivo, às características sensoriais, à adequação para o processamento industrial a que se destina e à sanidade (LORINI, 2005).

O trigo está entre as plantas mais cultivadas do mundo, é uma gramínea do gênero *Triticum*. Existem cerca de 30 tipos de trigo, geneticamente diferenciados, dos quais metade é cultivada e o restante cresce de forma silvestre. Em busca de produtividade, conteúdo de farinha no grão, teor de nutrientes, resistência a doenças ou adaptação ao clima e ao solo, pesquisadores e plantadores já testaram milhares de cruzamentos, chegando a obter cerca de 30 mil variedades de trigo (ABITRIGO, 2014).

A indústria do trigo é responsável pela fabricação de diversos produtos, como pães, bolos, biscoitos e massas para alimentação humana e participa de



formulações de indústrias farmacêuticas, em pequena escala. O farelo do trigo, considerado ainda como subproduto, é largamente utilizado em fábricas de ração animal. Entretanto, é possível destinar parte deste farelo para o consumo humano, como porção nobre e rentável.

Os produtos integrais estão cada vez mais presentes na mesa de quem busca um estilo de vida saudável. A oferta de alimentos integrais e orgânicos aumenta visivelmente no Brasil. Até o momento, poucos alertas estão sendo levantados em torno dos riscos existentes quanto à contaminação dos produtos por serem extraídos de porções mais críticas no que diz respeito à presença de contaminante.

Durante o processamento industrial, existem etapas e ou equipamentos desenvolvidos exclusivamente para retirar ou minimizar os contaminantes (químicos, microbiológicos e físicos) existentes na matéria-prima. Assim, estes contaminantes são reduzidos, a níveis aceitáveis para consumo, regidos por legislações específicas. Além disso, as empresas de alimentos devem adotar sistemas e programas internos que possam garantir ambiente adequado para o processamento. São os chamados Programas de Pré-Requisitos que conferem maior confiabilidade na garantia de obtenção do alimento livre de contaminações.

Adequações estruturais são necessárias, tais como pisos, tetos e paredes com revestimentos lisos de fácil higienização; utilização de equipamentos e transportadores fechados, seguros quanto à possibilidade de entrada de contaminantes, desde que possível sua correta higienização, e ainda investir em recursos humanos na contratação e capacitação dos manipuladores ligados ao processamento.

Atualmente, os sistemas de segurança do alimento têm uma grande importância, pois transmitem aos consumidores maior confiança podendo estar entre os critérios para escolha da marca, mas também atendendo requisitos legais. O sistema APPCC, Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle, versão traduzida do *Hazard Analysis and Critical Point*, HACCP, com origem nos Estados Unidos em 1959, é reconhecido por instituições oficiais como Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, e o de Ciências e Tecnologia (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2003).

As descrições das etapas preliminares ao estudo APPCC podem apresentar pequenas variações entre as publicações existentes, mas sempre com a mesma finalidade de formar base consistente para o estudo APPCC. O escopo do estudo deve ser específico para o produto ou categoria de produto, processo e locais de produção. Por razões práticas, os produtos podem ser agrupados por categoria de produtos. O importante é que diferenças específicas entre os diferentes produtos acabados sejam avaliadas criticamente; manufatura e condições de

armazenamento sejam comparáveis; importantes aspectos para que a segurança dos alimentos não seja negligenciada.

Este trabalho visa aplicar o programa APPCC (Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle) no processamento do trigo para produção de Farinha Integral, considerando as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e os Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) já utilizados na indústria.

## **2. LOCAL DE DESENVOLVIMENTO DO PROJETO**

O projeto foi desenvolvido em um moinho de trigo localizado na região Norte do Paraná, aplicando-se as Boas Práticas de Fabricação (BPF), Boas Práticas de Transporte e Armazenamento (BPTA), Manejo Integrado de Pragas (MIP) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). A unidade de desenvolvimento possui uma área total de aproximadamente 25.000 m<sup>2</sup>, sendo aproximados 5.800 m<sup>2</sup> de área construída. Também conta com mais de 180 colaboradores entre efetivos e terceiros, além de estagiários e jovens aprendizes.

Esta unidade possui capacidade de produção de 400 toneladas/dia de farinha de trigo refinada, e uma capacidade de envase de até 300 toneladas/dia. Para Farinha Integral a capacidade de produção são 12 toneladas/dia, e mesmo volume de envase. O diagrama para moagem da Farinha Integral é específico para este produto, porém as etapas iniciais de recebimento, armazenamento e limpeza do grão são comuns.

## **3. PRÉ-REQUISITOS E APLICAÇÃO DO APPCC**

### **3.1 FORMAÇÃO DA EQUIPE MULTIDISCIPLINAR**

A Equipe Multidisciplinar é composta por funcionários de diversos setores da empresa para que seja representativa, com designação do coordenador que faz a intermediação entre esses setores e busca os recursos necessários. A empresa deverá garantir as condições para que todas as pessoas sejam capacitadas. A capacitação deve ser contínua para propiciar atualização e reciclagem de todos os envolvidos.

Primeiramente, reuniram-se o Gerente e Coordenadores da Unidade para aprovação da aplicação do APPCC. Nesta planta, já eram aplicadas as BPF, BPTA e MIP. Conceitos diariamente vivenciados pela empresa com apoio da área Corporativa, Diretores e Presidente da companhia. Mesmo assim, foi realizado diagnóstico inicial e efetuadas as revisões e treinamentos pertinentes. Com a formação da Equipe Multidisciplinar aplicou-se as sete etapas recomendadas pelo CODEX (Codex Alimentarius Commission, 2003).

## 3.2 DESCRIÇÃO DO PRODUTO E DO SEU USO PRETENDIDO

Farinha de Trigo Integral é obtida a partir do grão inteiro, contendo desta forma casca, gérmen e endosperma. Não é aditivada com ferro e ácido fólico como exige a RDC nº 344 de 13 de dezembro de 2002 para farinhas tipo 1 e 2 (BRASIL, 2002). A presença da casca enfraquece a ação do glúten, portanto, os produtos que contêm este tipo de farinha tendem a ser mais densos quando comparados com os de farinha branca. A Farinha de Trigo Integral é rica em fibras e vitaminas do complexo B, tornando-se uma opção a pessoas que desejam uma alimentação mais saudável.

### Público alvo e uso intencional

Farinhas destinadas ao público consumidor em pacotes de 1 Kg plásticos. Sendo utilizados para preparo de pães caseiros, bolos, panquecas, biscoitos, empadões, pastel, nhoques, e outros produtos preparados pelo público consumidor.

### Uso não intencional

Nada que possa ser declarado perigoso. Trata-se de um produto alergênico, sendo obrigatória a declaração do uso do mesmo/ou da presença de possíveis outros alergênicos na embalagem final ao qual o mesmo foi inserido de forma a alertar possíveis consumidores.

### Descrição de populações sensíveis

Celiacos (pessoas intolerantes à ingestão de produtos que contenham glúten em sua composição). Glúten é uma rede de proteínas natural do trigo e encontra-se em todos os produtos que contenham farinha de trigo em sua composição.

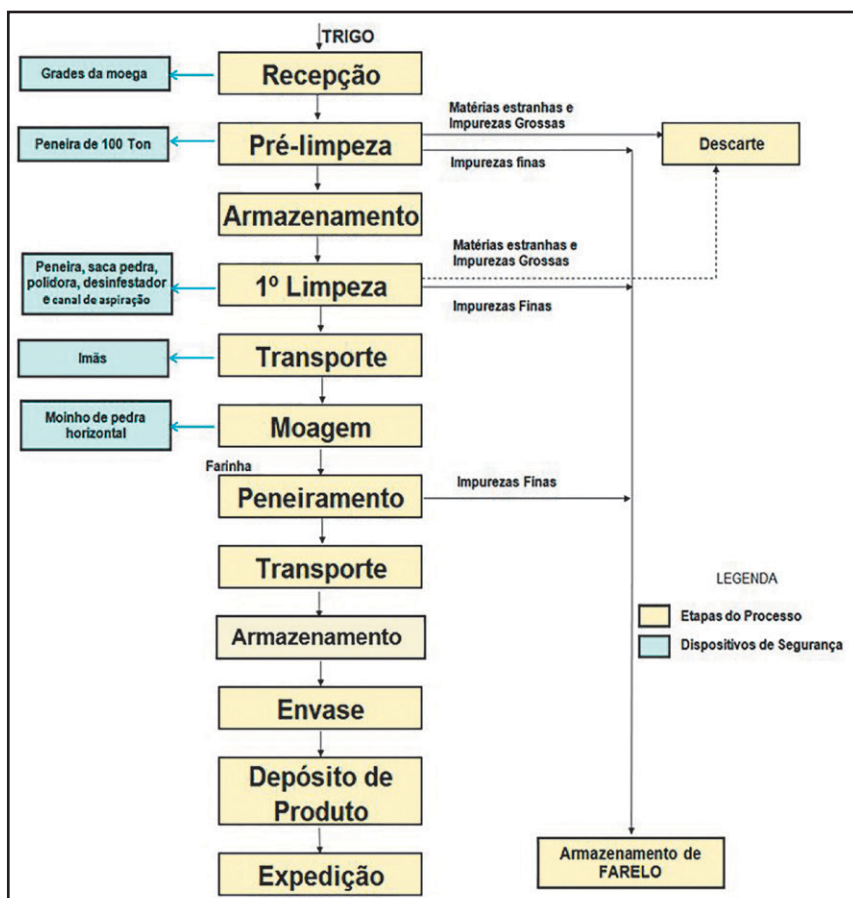
## Recomendações para populações sensíveis

É obrigatória a impressão de advertências nas embalagens dos produtos. Conforme recomenda a RDC nº 26, de 2 de julho de 2015, para Farinha de Trigo Integral, será inserida na rotulagem os dizeres “CONTÉM GLÚTEN” e “PODE CONTER CENTEIO, CEVADA, AVEIA E SOJA” (BRASIL, 2015).

### 3.3 ELABORAÇÃO DO FLUXOGRAMA DO PROCESSO

Para estudo do processo, o ponto de partida utilizado foi a construção do fluxograma em blocos simplificado, no qual são identificadas as etapas em modo compacto para a obtenção da farinha de trigo integral (Figura 1).

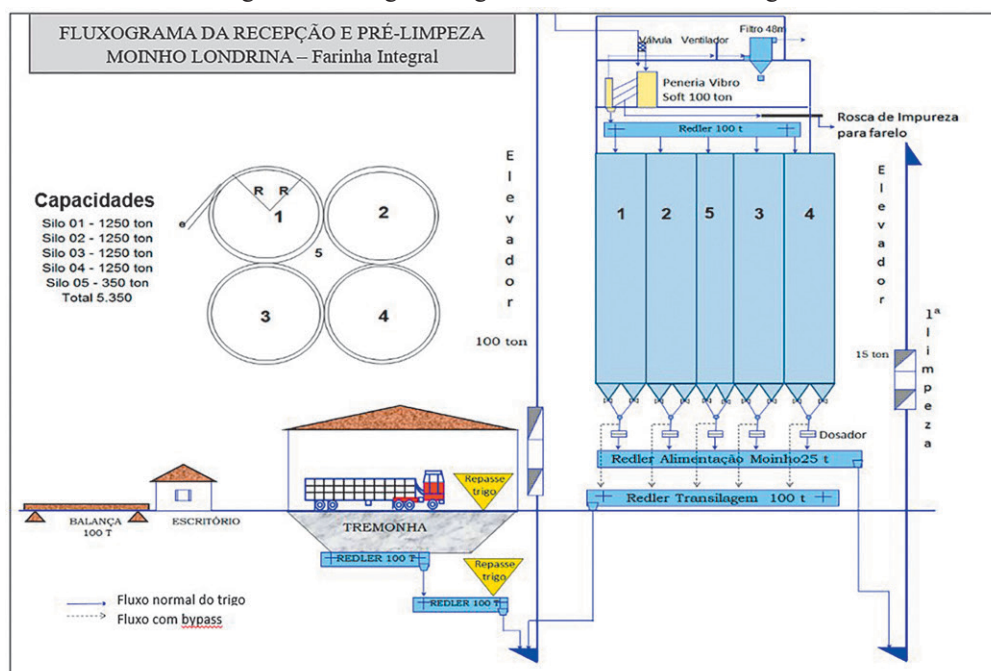
Figura 1. Fluxograma em blocos simplificados para a obtenção da farinha de trigo integral



Fonte: Própria autoria.

Em seguida partiu-se para o detalhamento dos fluxogramas figurados (Figura 2), com o objetivo didático de maior compreensão das etapas a serem estudadas. Nestes, são ilustrados os equipamentos, armazenamentos e formas de transportes do processo.

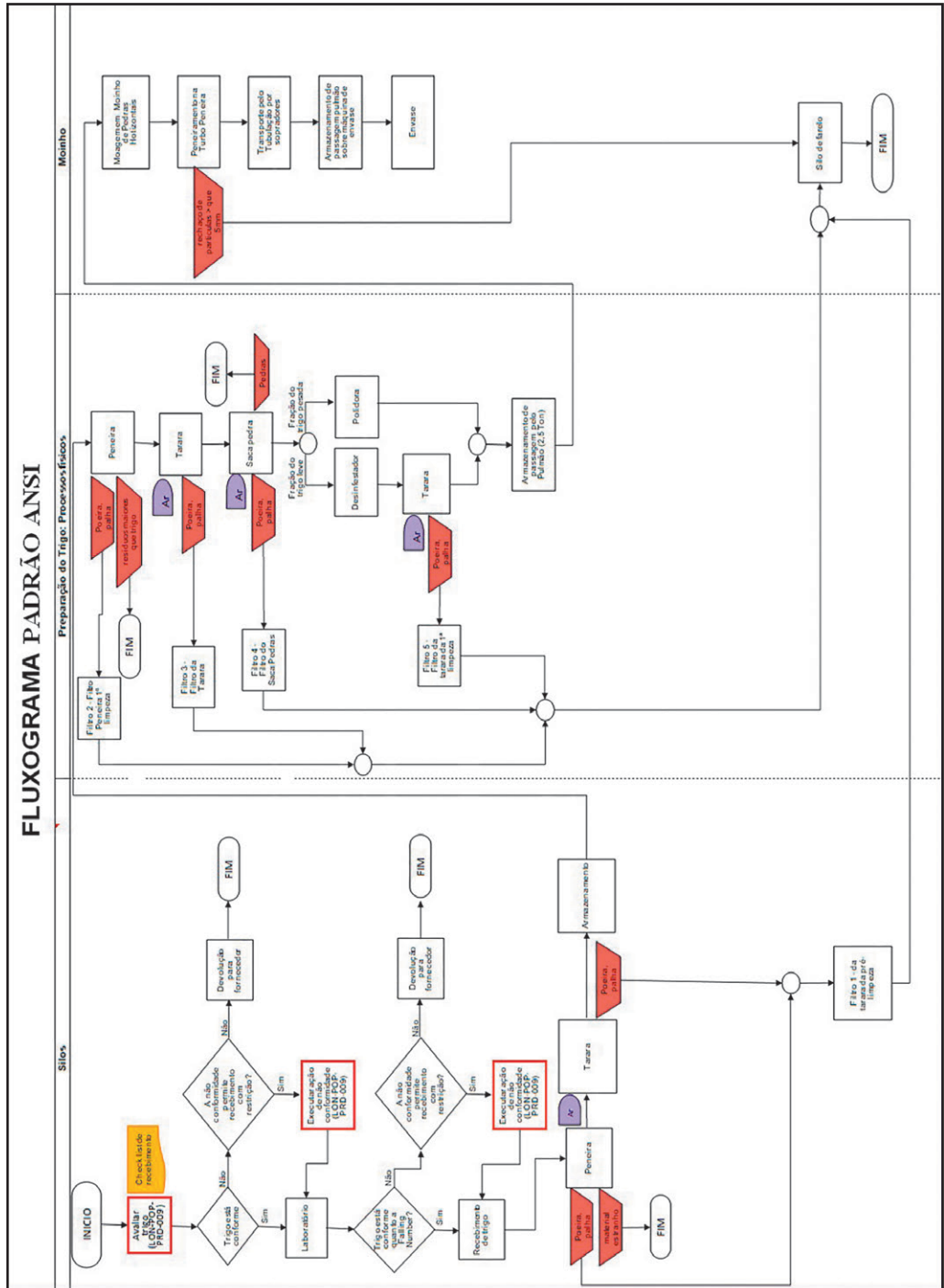
Figura 2. Fluxograma figurado: Recebimento de trigo



Fonte: Própria autoria.

Finalizando o estudo em fluxograma, foi elaborado o fluxograma padrão ANSI (*American National Standards Institute*) (Figura 3), o qual fornece uma compreensão detalhada do processamento com as tomadas de decisões ao longo do processo, inclusão de documentos e formulários de registros em cada etapa (HARRINGTON, 1993).

Figura 3. Fluxograma Padrão ANSI – American National Standards Institute



Fonte: Própria autoria.

### 3.4 DESCRIÇÃO DAS ETAPAS DO PROCESSO

#### Recebimento do Trigo

Esta fase compreende as análises iniciais para o recebimento de trigo. É importante, pois limita os parâmetros toleráveis para o recebimento, legalmente conforme Instrução Normativa nº 38, de 30 de novembro de 2010 (BRASIL, 2010). Os veículos de transporte da matéria-prima recém-chegada na unidade são monitorados pelo setor de recepção (Moega) verificando se a carroceria do veículo está em bom estado de conservação, limpa, isenta de qualquer indício de infestação por insetos ou roedores, umidade, odores estranhos, bolor, sujidades ou dejetos de pássaros/roedores, produtos químicos e outros contaminantes. Após inspeção preliminar, são coletadas amostras utilizando sonda-calador em pontos distribuídos por toda extensão da carroceria. Tais amostras são unidas e homogeneizadas em quarteador. Nesta amostra única são realizadas análises de umidade, impurezas e PH (peso do hectolitro) ainda pelos funcionários do recebimento de trigo. Para conferência de uma das principais análises reológicas do trigo, no laboratório é realizada a determinação de *Falling Number*, relacionada ao desempenho da farinha na panificação. Quando aprovado o recebimento, o trigo passa por uma limpeza preliminar para remover as impurezas mais grossas, que podem causar danos aos equipamentos bem como bloquear (obstruir) as saídas dos silos. Este processo de limpeza se inicia na descarga do trigo, pois as impurezas maiores ficam retidas já na grade da moega. Os grãos seguem para a etapa de pré-limpeza, transportados por um elevador de canecas metálicas e passando pela peneira (Vibro Soft). Em seguida, são destinados aos silos de armazenamento através de um *redler* onde deve ser separado por qualidade e fornecedor.

#### Armazenamento

Para garantir a qualidade da farinha integral, a fase de armazenamento deve apresentar pontos de controle que garantem que o grão permaneça em condições estáveis e favoráveis até a moagem. No estudo em questão, o trigo foi armazenado em silos cilíndricos verticais de concreto. A unidade possui quatro silos com capacidade de armazenamento igual a 1.250 toneladas e uma entrecélula com capacidade de 350 toneladas, ou seja, capacidade de estocagem total de 5.350 toneladas. Os recebimentos de trigo são contínuos e durante o mês são consumidas

duas vezes esta capacidade de armazenamento. Antes de seguir para o processamento, os grãos de trigo não obedecem ao mesmo tempo de armazenamento, isto se dá devido às mesclas (*blends*) que são feitas durante as produções de farinha integral. Este tempo de armazenamento pode variar de 3 dias até 30 dias nesta unidade, e preventivamente são aplicados procedimento MIP (Manejo Integrado de Pragas). Segundo LORINI (2005), MIP consiste em várias etapas abrangendo deste o produtor até o consumidor final:

- a) Mudança de comportamento dos armazenadores.
- b) Conhecimento da unidade armazenadora de grãos;
- c) Medidas de limpeza e higienização da unidade armazenadora;
- d) Correta identificação de pragas;
- e) Conhecimento da resistência de pragas a inseticidas;
- f) Potencial de destruição de cada espécie-praga;
- g) Proteção da massa de grãos com inseticidas;
- h) Tratamento curativo;
- I) Gerenciamento da unidade armazenadora.

## Preparação do trigo

A Primeira Limpeza inicia-se com a retirada do trigo dos silos através de dosadores volumétricos. Após a passagem pelos dosadores, o produto é transportado por um *redler* até o elevador de canecas. A massa de grãos é medida por uma balança de fluxo, indicando o processo de limpeza, que é formado pelos seguintes equipamentos: peneira, separador por gravidade (saca pedras), descascador ou polidor, desinfestador e canal de aspiração (tarara). Seguem as etapas para a preparação do produto.

- Peneira: A peneira separadora é constituída por duas chapas metálicas, uma tela superior com diâmetro maior de 1 cm e uma tela inferior com diâmetro de 2,0 mm, permitindo assim a retirada de impurezas mais grossas como palhas, impurezas de tamanho médio como milho, soja e impurezas finas como grãos chochos e quebrados. Na saída desse equipamento há



uma câmara de aspiração conhecida como Tarara, que permite a retirada de impurezas leves como poeira, palha e terra, e um imã que tem como função reter metais ou seus fragmentos;

- Separador por gravidade (Saca Pedras): O separador por gravidade tem como objetivo principal retirar pequenas pedras (com diâmetro inferior a 5 mm), trabalha através de movimentos excêntricos. Na parte superior do separador, existe um canal de aspiração que retira impurezas finas, como palha e poeira;
- Polidor ou descascador: Este equipamento permite a separação das impurezas e a limpeza externa da casca da massa de grãos através do atrito dos grãos entre si e contra uma tela metálica perfurada que permite a passagem das impurezas;
- Desinfestador: Utilizado para destruir os ovos de insetos que podem estar alojados no interior dos grãos. Trabalha com a fração mais leve dos grãos que geralmente é separada por um equipamento anterior a este.

## Transporte

Após a etapa de limpeza, se o trigo sofrer umidificação, o mesmo passa por um equipamento chamado Bi-Mix que consiste em um homogenizador, na sequência passa por uma despeliculadora, que é responsável por retirar uma fina camada de farelo, do grão com finalidade de retirar uma maior quantidade de impurezas, eliminando também uma fração de micotoxinas que podem estar presente no grão. Caso não haja umidificação, o trigo segue por uma rosca de alimentação que leva o trigo até o pulmão. A definição para uso ou não do sistema com umidificação consiste no mapeamento realizado dos trigos disponíveis para moagem. Quando apresentarem níveis elevados de contaminações, micotoxinas, resíduos de pesticidas entre outros, o sistema deverá ser utilizado.

## Armazenamento Temporário - Pulmão (2 toneladas)

Nesta etapa, o trigo pronto para moagem fica armazenado em silo-pulmão, trata-se de um compartimento cilíndrico de armazenamento rotativo com capacidade de até duas toneladas, onde o grão já limpo entra pela parte superior e sai pela parte inferior do mesmo através de uma tubulação seguindo por gravidade até os moinhos de pedras.

## Moagem - Moinho de Pedra Horizontal

Este moinho é composto por duas pedras horizontais sobrepostas uma à outra. A pedra superior é fixa, enquanto a inferior é ajustável através de uma válvula que faz com que a pedra inferior se desloque verticalmente, possibilitando que a distância entre as duas pedras seja ajustada, resultando em alterações na granulometria e performance final da farinha. O grão do trigo é triturado através da rotação da pedra inferior que estará em contato com o grão que se encontra entre a pedra superior (fixa) e a inferior (giratória).

## Peneiramento - Turbo Peneira

Após o grão ser triturado nas pedras do moinho, a farinha passa por uma turbo peneira que é constituída por uma coluna com paredes revestidas por membranas de granulometria igual a 900 micrômetros, com um conjunto de paletas rotativas em seu interior. Nesta etapa, o grão moído entra por um lado deste tubo e segue até o outro separando a farinha de alguns constituintes indesejados, como por exemplo, farelo de granulometria superior a 900 micrômetros. Os constituintes que não passarem pela peneira seguem através de uma tubulação vertical até o rechaço. E a farinha que passa pela membrana segue até a bomba sopradora do transporte pneumático.

## Envase

O envase da farinha integral é realizado por uma ensacadeira acoplada com eclusa em queda por gravidade e balança mecânica para regulagem do peso. Os sacos tipo rafia são alimentados pela rosca dosadora e devem conter 50 Kg. Para acondicionamento em paletes, estes são forrados por folha de papel para evitar contato direto com a madeira dos paletes. Cada palete contém limite máximo de 24 sacos, e são envolvidos por filme plástico transparente tipo *stretch* aplicado de forma manual ou automática.

## Armazenamento do produto final

Os paletes são acondicionados no Depósito de Produto Acabado (DPA), livre de poeira, calor, umidade e luz solar, ficam a 25 centímetros do piso, distantes 45 centímetros da parede, e 1,5 metros do forro, permitindo o acesso e inspeções, limpeza e controle de pragas. De maneira geral, conforme orientações

de Boas Práticas de Armazenamento (BPA), os alimentos mesmo que embalados não devem ser colocados diretamente no chão, os paletes de madeira devem ser isentos de lascas de madeira e pregos soltos, os mesmos devem estar limpos, não devem ser armazenados junto com produtos químicos, de higiene e outros produtos que exalem odores. O armazenamento deve obedecer ao sistema FEFO – *First Expire, First Out*. Todos os pallets com produtos armazenados são identificados no mínimo com as seguintes informações: descrição do produto, no caso “Farinha de trigo integral”, lote, validade e quantidade do palete. Diariamente são realizadas inspeções no DPA com foco na higiene e conservação das instalações. Caso seja encontrado um foco de infestação, todo o produto deverá ser retirado da área de armazenamento e isolado em uma área externa para avaliação. Um responsável pelo controle de pragas deverá ser chamado para tomar as medidas necessárias para a erradicação do problema.

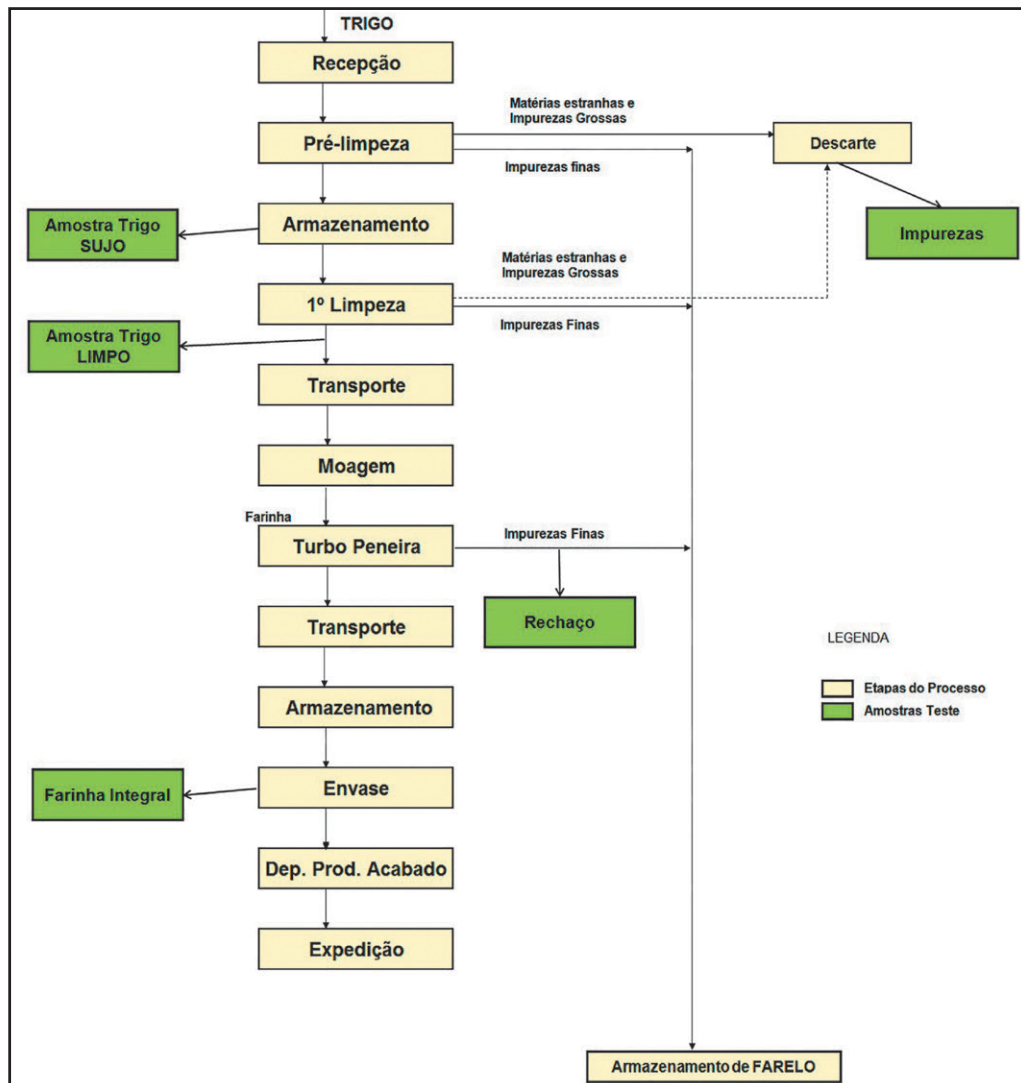
## Transporte do produto final

O transporte não se limita apenas ao deslocamento do produto, inclui também todas as operações relacionadas ao carregamento e à descarga dos produtos. O cuidado durante essa operação tem importância fundamental para a garantia da qualidade e segurança do alimento, impedindo dessa forma a contaminação e deterioração dos alimentos. Durante estas etapas são aplicados *check lists* de inspeção pelos conferentes logísticos, os quais englobam itens relacionados à conservação e integridade do alimento durante todo o percurso do transporte: não deve ser feito o transporte da carga conjuntamente com alimentos, pessoas ou animais, a cabine do condutor deve ser isolada da parte que contém a carga, os veículos devem possuir certificado de vistoria ou Alvará Sanitário, de acordo com a legislação vigente em cada região. Os materiais utilizados para proteção e fixação da carga (cordas, encerados, plásticos e outros) não devem constituir fonte de contaminação ou dano para o produto. Os veículos que não atenderem estes requisitos devem ser reprovados.

## 4. PONTOS DE AMOSTRAGEM E ANÁLISES

Com o estudo realizado nas etapas de processamento para obtenção da farinha de trigo integral, foram definidos pontos estratégicos para confirmação da eficiência dos equipamentos de segurança existentes bem como confirmação da obtenção do produto final livre de contaminações (Figura 4).

Figura 4. Fluxograma com identificação dos pontos de amostragem



Fonte: Própria autoria.

Quando se trata de amostras para análise, devem-se usar dois seguimentos que definem requisitos distintos: Segurança do Alimento (livres de contaminações físicas, químicas e biológicas) e Qualidade do Alimento (atender parâmetros de especificação como cor e reologia). Assim, para o trigo é recomendado realizar análises laboratoriais para os parâmetros microbiológicos, de materiais estranhos, contaminantes inorgânicos e resíduos de pesticidas mais comuns,

para obtenção da farinha integral com parâmetros físicos, químicos e microbiológicos, de acordo com a legislação vigente (dados não divulgados).

## 5. DESENVOLVIMENTO DO PROGRAMA APPCC

Todo trabalho de descrição das etapas do processo, revisão dos programas de pré-requisitos como as Boas Práticas de Fabricação e Manejo Integrado de Pragas, assim como também os resultados das análises exploratórias/confirmatórias possibilitaram a elaboração e validação do Plano APPCC.

A técnica do APPCC é uma abordagem simples e lógica baseada no controle para gestão da segurança alimentar (MORTIMORE, 2001). Durante a análise de risco como parte do desenvolvimento de um APPCC, primeiro os perigos (contaminantes) devem ser identificados e os riscos devem ser avaliados. Muitas vezes, essa avaliação é restrita a uma análise qualitativa. Usando elementos de avaliação quantitativa de risco é possível garantir uma ferramenta gerencial mais significativa. Deste modo, o efeito de medidas de controle pode ser quantificado, por isso a ocorrência de contaminantes em produtos finais pode ser estimada (HOORNSTRA et al., 2001).

Nas diversas etapas ou fases da cadeia produtiva de um produto alimentício haverá sempre importantes pontos de controle (PC) e pontos críticos de controle (PCC). No sistema clássico APPCC, um PC é uma etapa, procedimento, operação ou posição ao longo da cadeia produtiva em que um controle inadequado, insuficiente ou incompleto resultaria em contaminação do produto, mas há procedimentos, operações ou práticas em etapas posteriores que eliminam ou previnam que esta contaminação chegue ao consumidor. A diferença do PCC é que não há etapas posteriores capazes de eliminar perigo ou prevenir que a contaminação chegue ao consumidor (ALMEIDA, 1998).

Para o estudo dos perigos levantados nesta empresa foram estabelecidos os critérios de probabilidade conforme particularidade do segmento e utilizando como fundamento a literatura referenciada. As tabelas 1, 2 e 3, mostram os critérios utilizados na análise dos perigos elencados no processo de fabricação da farinha de trigo integral.

Tabela 1 - Critérios de Probabilidade

<b>Tipo de Perigo</b>	<b>Probabilidade</b>	<b>Número de ocorrências por ano</b>
Químico ou Biológico	Alta	Maior ou igual a 12
	Média	Maior que 1 e menor que 12
	Baixa	Menor ou igual a 1
	Baixíssima	Nunca ocorreu nesta empresa, consultar histórico
Físico	Alta	Maior ou igual a 120
	Média	Maior que 10 e menor que 120
	Baixa	Menor ou igual a 10
	Baixíssima	Nunca ocorreu nesta empresa, consultar histórico

Fonte: Própria autoria.

Tabela 2 - Critérios de Severidade

<b>Tipo de Perigo</b>	<b>Severidade</b>	<b>Critério</b>
Físico, Químico ou Biológico	Alta	Pode levar à morte
	Média	Pode causar problemas graves à saúde, com duração de mais de dois dias, como febre, dor intensa etc.
	Baixa	Pode causar problemas leves à saúde com duração de até dois dias, como dores, náuseas, pequenos cortes etc.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 3 - Definição do Risco

		<b>Severidade</b>		
		Baixa	Média	Alta
<b>Probabilidade</b>	Alta	Médio	Alto	Alto
	Média	Não é significativo	Alto	Alto
	Baixa	Não é significativo	Não é significativo	Médio
	Baixíssima	Não é significativo	Não é significativo	Não é significativo

Fonte: Própria autoria.

Para definição dos pontos críticos de controle (PCC), a utilização da árvore decisória facilita o entendimento e torna sistemático o estudo dos perigos levantados. O modelo de árvore decisória utilizado no presente estudo está representado na Tabela 4 e trata-se de modelo adaptado às particularidades do seguimento.

Tabela 4 - Árvore Decisória para definição dos Pontos Críticos de Controle (PCC)

	<b>Questões</b>	<b>SIM</b>	<b>NÃO</b>
Q1	O Controle nessa etapa é necessário? Tendo em vista o risco, características do produto e outras etapas ou medidas de controle capazes de controlar o perigo, independente desta etapa.	Vá para Q2	Não é necessária medida de controle específica para o perigo. O mesmo é controlado pelos PPRs da organização.
Q2	A medida de controle selecionada é uma etapa de processo posterior?	Parar. A avaliação desse perigo será realizada na etapa posterior.	Vá para Q3
Q3	A(s) medida(s) de controle nesta (s) etapa(s) é(são) capaz(es) de eliminar ou reduzir o perigos a níveis aceitáveis?	Vá para Q4	Modificar
Q4	Existe uma maneira de se definir um critério de aceitação e o monitoramento dessa medida de controle ser realizada de modo que correções e ações corretivas possam ser tomadas em tempo hábil?	PPRO	Vá para Q5
Q5	Uma falha no monitoramento dessa medida de controle pode promover uma contaminação significativa no processo, acima dos níveis aceitáveis, e essa contaminação proporcionaria severidade alta de suas consequências?	Vá para Q6	PPRO
Q6	Uma etapa posterior irá eliminar ou reduzir o perigo a níveis aceitáveis?	PPRO	PCC

PPRO – Programa de pré-requisito operacional; PCC – Ponto Crítico de Controle; Q – Questão.

Fonte: Própria autoria.

## 5.1 ANÁLISES DE PERIGO - TRIGO

Para produção de Farinha de Trigo Integral, o único insumo utilizado é o trigo, desta forma, nas tabelas apresentadas em sequência, Tabelas 5, 6, 7 e 8, está o levantamento dos possíveis perigos presentes e considerações em torno deste insumo, bem como a aplicação da árvore decisória para definição dos PCCs.

Estes dados indicam que nenhum dos perigos levantados para o insumo trigo foi considerado Ponto Crítico de Controle (PCC), resultado este alinhado com os dados obtidos nas análises exploratório-confirmatórias, onde grande parte dos contaminantes foi removida no processamento.

De qualquer forma, a experiência profissional também pode ser considerada na decisão de intensificar o monitoramento de contaminantes no insumo trigo, uma vez que cada safra está sujeita a diferentes condições climáticas e variações no manejo. Neste sentido é recomendado novo mapeamento a cada ano.



Tabela 5 - Análises de Perigos Físicos

Perigos identificados	Justificativa	Avaliação do perigo			Nível aceitável do perigo	Medida de Controle
		S	PO	R		
Fragmentos de metal	Perigos não controlados pelo produtor e ou cooperativa.	A	A	A	1% (soma de todos os tipos) IN 38, 30/11/2010	POP de Recebimento
Fragmentos de vidro	Perigos não controlados pelo produtor e ou cooperativa.	A	BB	N	1% (soma de todos os tipos) IN 38, 30/11/2010	POP de Recebimento
Fragmentos de madeira	Perigos não controlados pelo produtor e ou cooperativa.	A	M	A	1% (soma de todos os tipos) IN 38, 30/11/2010	POP de Recebimento
Fragmentos de plástico rígido	Perigos não controlados pelo produtor e ou cooperativa.	A	BB	N	1% (soma de todos os tipos) IN 38, 30/11/2010	POP de Recebimento
Fragmentos de osso	Perigos não controlados pelo produtor e ou cooperativa.	M	BB	N	1% (soma de todos os tipos) IN 38, 30/11/2010	POP de Recebimento
Fragmentos de inseto (classe coleóptera - Carunchos)	Contaminantes físicos provenientes do produtor ou cooperativa por falha no MIP.	M	A	A	1% (soma de todos os tipos) IN 38, 30/11/2010	POP de Recebimento
Fragmentos ou sementes de outras espécies	Perigos não controlados pelo produtor e ou cooperativa.	A	A	A	1% (soma de todos os tipos) IN 38, 30/11/2010	POP de Recebimento
Fragmentos de pedras	Perigos não controlados pelo produtor.	A	A	A	1% (soma de todos os tipos) IN 38, 30/11/2010	POP de Recebimento
Areia	Perigos não controlados pelo produtor.	A	A	A	1% (soma de todos os tipos) IN 38, 30/11/2010	POP de Recebimento
Barbantes e cordões	Perigos não controlados pelo produtor.	A	BB	N	1% (soma de todos os tipos) IN 38, 30/11/2010	POP de Recebimento
Pelos ou cabelos	Perigos não controlados pelo produtor.	M	BB	N	1% (soma de todos os tipos) IN 38, 30/11/2010	POP de Recebimento
Fragmentos de objetos cortantes	Perigos não controlados pelo produtor.	A	M	A	1% (soma de todos os tipos) IN 38, 30/11/2010	POP de Recebimento
Fragmento de borracha	Perigos não controlados pelo produtor.	M	BB	N	1% (soma de todos os tipos) IN 38 de 30/11/2010	POP de Recebimento

S – Severidade; PO – Probabilidade de Ocorrência; R – Risco; A – Alto; M – Médio; B – Baixo; BB – Baixíssimo; N – Não significativo.

Fonte: Autoria própria.

Tabela 6 - Análises de Perigos Químicos

Perigos identifica- dos	Identificação do perigo	Avaliação do perigo			Nível aceitável do perigo	Medida de Controle
		S	PO	R		
Resíduos de Pesticidas	Possibilidade de contaminação por resíduos de pesticidas que são usados periodicamente pelo produtor no controle das pragas que atacam a cultura do trigo ou cooperativas.	M	B	N	RDC 165, de 29 de agosto de 2003	1) Incorporar ao contrato fornecedor a emissão do laudo de análise. 2) Cumprimento do Plano de Amostragem para análises externas.
DON HS	Produção de micotoxinas por fungos no campo ou armazenamento caso o produto fique exposto à umidade excessiva por tempo prolongado.	A	B	M	1000 ppb RDC 7 de 18/02/2011	1) Incorporar ao contrato fornecedor a emissão do laudo de análise. 2) Cumprimento do Plano de Amostragem para análises externas.
Aflatoxinas	Produção de micotoxinas por fungos no campo ou armazenamento caso o produto fique exposto à umidade excessiva por tempo prolongado.	A	B	M	5 ppb RDC 7 de 18/02/2011	1) Incorporar ao contrato fornecedor a emissão do laudo de análise. 2) Cumprimento do Plano de Amostragem para análises externas.
Zearalenona	Produção de micotoxinas por fungos no campo ou armazenamento caso o produto fique exposto à umidade excessiva por tempo prolongado.	A	B	M	200 ppb RDC 7 de 18/02/2011	1) Incorporar ao contrato fornecedor a emissão do laudo de análise. 2) Cumprimento do Plano de Amostragem para análises externas.
Ocratoxina A	Produção de micotoxinas por fungos no campo ou armazenamento caso o produto fique exposto à umidade excessiva por tempo prolongado.	A	B	M	10 ppb RDC 7 de 18/02/2011	1) Incorporar ao contrato fornecedor a emissão do laudo de análise. 2) Cumprimento do Plano de Amostragem para análises externas.

S – Severidade; PO – Probabilidade de Ocorrência; R – Risco; A – Alto; M – Médio; B – Baixo; BB – Baixíssimo; N – Não significativo.

Fonte: Autoria própria.

Tabela 7 - Análises de Perigos Biológicos

Perigos identificados	Identificação do perigo	Justificativa	Avaliação do perigo			Nível aceitável do perigo	Medida de Controle
			S	PO	R		
Bacillus cereus	Comumente encontradas no solo, poeira e trato intestinal de animais.	Devido ao armazenamento de grãos, pode ocorrer a condensação de umidade que proporciona condições para o seu desenvolvimento, se estiver presente no estado vegetativo.	A	BB	N	3000/G (UFC) Máx. RDC N° 12 de 2/01/2001	Não se Aplica
Salmonella	Reservatórios: Fezes, aves, água, alimentos de origem vegetal submetidos à irrigação,	Comumente encontradas no solo, água, poeira e trato intestinal de animais.	A	BB	N	AUSÊNCIA EM 25 G RDC N° 12 de 2/01/2001	Não se Aplica
Coliformes termo tolerantes	Enterobactérias diversas incluindo patogênicas como E. coli	Comumente encontradas no solo, água, poeira e trato intestinal de animais.	A	BB	N	100,0/G (NMP) Máx. RDC N° 12 de 2/01/2001	Não se Aplica
Insetos Vivos (classe coleóptera - Carunchos)	Trigo pode apresentar esses contaminantes físicos provenientes do produtor ou cooperativa por falha no MIP.		A	A	A	Ausência (soma de todos os tipos) IN 38, 30/11/2010	POP de Recebimento
Pragas (Baratas, Roedores, Formigas)	Proveniente de condições inadequadas de armazenamento ou transporte.		A	B	M	Ausência, indicador de boas práticas	POP de Recebimento

S – Severidade; PO – Probabilidade de Ocorrência; R – Risco; A – Alto; M – Médio; B – Baixo; BB – Baixíssimo; N – Não significativo.

Fonte: Autoria própria.

Tabela 8 - Aplicação da árvore decisória

Identificação do perigo	Árvore decisória						Resultado da Questão					
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6
Fragmentos de metal	sim	não	não	sim			Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
Fragmentos de madeira	sim	não	não	sim			Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
Fragmentos ou sementes de outras espécies	sim	não	não	não	não		Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	Vá para Q5	PPRO	
Insetos Vivos (classe coleoptera - Carunchos)	sim	não	não	sim			Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
Fragmentos de pedras	sim	não	não	sim			Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
Areia	sim	não	não	sim			Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
Fragmentos de objetos cortantes	sim	não	não	sim			Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
Resíduos de Pesticidas	não						Não é necessária medida de controle específica para o perigo.					
DON HS	não						É controlado pelos PPRs					
Bacillus cereus	não						Não é necessária medida de controle específica para o perigo.					
Insetos Vivos (classe coleoptera - Carunchos)	sim	não	não	sim			É controlado pelos PPRs					
Pragas (Baratas, Roedores, Formigas)	sim	não	não	sim			Não é necessária medida de controle específica para o perigo.					
							É controlado pelos PPRs	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
							Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
							Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		

Q – Questão; PPR – Programa de Pré Requisito.

Fonte: Própria autoria.

## 5.2 ANÁLISES DE PERIGO - PROCESSO

O processo para obtenção da farinha de trigo Integral, objeto deste estudo, apresenta etapas de recebimento de trigo e limpezas comuns à produção das farinhas convencionais refinadas. Porém, a etapa de moagem apresenta o maior diferencial por ocorrer em moinho de pedras horizontais, ao passo que no moinho convencional os rolos são metálicos, lisos ou raiados.

Para análise dos perigos existentes no processo, o fluxograma elaborado foi validado *in loco* confirmando assim, cada etapa existente no processamento da farinha de trigo integral, considerando desde o recebimento do trigo até a expedição do produto acabado. Assim como a sistemática aplicada no estudo dos perigos do insumo trigo, as Tabelas 9a, 9b, e 9c, listam os perigos levantados em cada etapa do processamento e considerações quanto à avaliação dos riscos e na Tabela 10, estão as questões referentes à árvore decisória, a qual possibilitou a identificação de três Pontos Críticos de Controle (PCC) (Figura 5). Já nas Tabelas 11, 12 e 13 estão os planos e monitoramento, verificação e ações corretivas para cada PCC identificado.

Tabela 9a - Análises de Perigos do Processo

Etapa do Processo	Perigos identificados	Identificação do perigo	Avaliação do perigo			Nível aceitável do perigo	Medida de Controle
			Justificativa	S	PO		
Recebimento de Trigo	F - Madeira da carroceria	Caminhões podem conter lascas de madeira desprendidas durante a descarga.	B	M	N	Não especificado. Porém é uma etapa inicial, existem barreiras posteriores.	Check List de veículos
	F - Material Metálico da carroceria do caminhão	Caminhões contêm diversos componentes metálicos como parafusos, correntes, dobradiças etc., que podem desprender durante a descarga.	B	M	N	Não especificado. Porém é uma etapa inicial, existem barreiras posteriores.	Check List de veículos
	Q - Óleo do caminhão	Caminhões podem conter vazamentos significativos	B	BB	N	Não especificado. Porém é uma etapa inicial, existem barreiras posteriores.	Check List de veículos
	B - <i>Salmonella</i> , <i>Leptospira</i> , <i>Virus</i>	Presença de pássaros e roedores e suas respectivas fezes na armazenagem externa e originação.	A	M	A	Ausência	Controle de Pragas e Check List de veículos.
	B - Fungos/Bolor	Enlombamento não adequado.	M	B	N	Não especificado. Porém é uma etapa inicial, existem barreiras posteriores.	Check List de veículos
	F - Materiais Estranhos	Trigo pode conter vidros, metais, plásticos, papéis, pelos etc.	B	B	N	Ausência, RDC N 14 de 28 de março de 2014	Nesta etapa peneira de separação, e aspiração.
	F - Impurezas	Trigo pode conter sementes, grãos, insetos, areia, terra etc.	B	A	M	Máx. 1,5%, RDC N 14 de 28 de março de 2014	Nesta etapa peneira de separação, e aspiração.
	Q - Nenhum	Característica do Processo	-	-	-	-	-
	B - Nenhum	Característica do Processo	-	-	-	-	-
	Armazenamento em silo de concreto	F - Concreto	Desprendimento de parte do concreto das paredes dos silos	B	B	N	Não especificado. Porém é uma etapa inicial, existem barreiras posteriores.
Q - Pesticidas		Resíduos de fosfina oriundos dos tratamentos contra infestação	B	M	N	RDC 165, de 29 de agosto de 2003	Seguir procedimento de tratamento, dosagem e carência recomendados.
B - Nenhum		Característica do Processo	-	-	-	-	-

F – Físico; Q – Químico; B – Biológico; S – Severidade; PO – Probabilidade de Ocorrência; R – Risco; A – Alto; M – Médio; B – Baixo; BB – Baixíssimo; N – Não significativo.

Fonte: Autoria própria.

Tabela 9b - Análises de Perigos do Processo

Etapa do Processo	Identificação do perigo		Avaliação do perigo			Nível aceitável do perigo	Medida de Controle
	Perigos identificados	Justificativa	S	PO	R		
1ª Limpeza	F - Metais Ferrosos	Desprendimento por vibração ou fadiga.	A	B	M	Máx. 2 mm, RDC N 14 de 28 de março de 2014	Nesta etapa existe peneira, saca pedras, polidora, desinfestador, e canal de aspiração
	F - Materiais Estranhos	Presentes no trigo ou contaminação cruzada, (plástico, papel, madeira, vidros etc.)	M	M	M	Ausência, RDC N 14 de 28 de março de 2014	
	F - Impurezas	(Trigo pode conter sementes, grãos, insetos, areia, terra etc.)	B	A	M	Máx. 1,5%, RDC N 14 de 28 de março de 2014	
	Q - Nenhum B - Nenhum	Característica do Processo Característica do Processo	- -	- -	- -	- -	
Transporte (imã)	F - Materiais ferrosos	Desprendimento por vibração ou fadiga.	A	B	M	Máx. 2 mm, RDC N 14 de 28 de março de 2014	Nesta etapa existe imã
	Q - Nenhum B - Nenhum	Característica do Processo Característica do Processo	- -	- -	- -	- -	- -
Moagem	F - Pedras oriundas do próprio moinho	Desprendimento pelo desgaste natural da utilização.	B	A	M	Máx. 2 mm, RDC N 14 de 28 de março de 2014	Realizar Manutenções Preventivas e trocas regulares.
	F - Materiais ferrosos	Desprendimento por vibração ou fadiga.	B	A	M	Máx. 2 mm, RDC N 14 de 28 de março de 2014	Realizar Manutenções Preventivas e trocas regulares.
	Q - Nenhum B - Mofa	Característica do Processo Aquecimento durante processo de moagem.	- A	- M	- A	- Não especificado em legislação, porém indesejável.	- Realizar Manutenções Preventivas e trocas regulares.
	F - Materiais ferrosos	Desprendimento em etapas anteriores ou se houver ruptura das telas	M	M	A	Máx. 2 mm, RDC N 14 de 28 de março de 2014	Inspeção da integridade das telas e avaliação do rechaço.
Penetramento Turbo Peneira	F - Materiais Estranhos	Presentes no trigo ou contaminação cruzada, (plástico, papel, madeira, vidros etc.)	M	M	M	Ausência, RDC N 14 de 28 de março de 2014	Inspeção da integridade das telas e avaliação do rechaço.
	F - Impurezas	Trigo pode conter sementes, grãos, insetos, areia, terra etc.	B	BB	M	Máx. 1,5%, RDC N 14 de 28 de março de 2014	Inspeção da integridade das telas e avaliação do rechaço.
	Q - Nenhum B - Nenhum	Característica do Processo Característica do Processo	- -	- -	- -	- -	- -
	F - Físico; Q - Químico; B - Biológico; S - Severidade; PO - Probabilidade de Ocorrência; R - Risco; A - Alto; M - Médio; B - Baixo; BB - Baixíssimo; N - Não significativo.						

Fonte: Autoria própria.

Tabela 9c - Análises de Perigos do Processo

Etapa do Processo	Identificação do perigo		Avaliação do perigo			Nível aceitável do perigo	Medida de Controle
	Perigos identificados	Justificativa	S	PO	R		
Transporte (Detector de metais e Bomba pneumática)	F - Materiais ferrosos	Desprendimento por vibração ou fadiga.	M	M	M	Máx. 2 mm, RDC N 14 de 28 de março de 2014	Nesta etapa está instalado o detector de metais
	F - Pó presente no ar	Má qualidade do ar utilizado para transporte.	M	B	B	-	-
	Q - Nenhum	Característica do Processo	-	-	-	-	-
	B/M - Fungos e Bactérias do ar	Má qualidade do ar utilizado para transporte.	A	M	A	RDC N° 12 de 2/01/2001	Limpezas e troca da membrana filtrante
Armazenamento Silo Pulmão	F - Nenhum	Característica do Processo	-	-	-	-	-
	Q - Nenhum	Característica do Processo	-	-	-	-	-
	B - Nenhum	Característica do Processo	-	-	-	-	-
Envase	F - Materiais ferrosos	Desprendimento por vibração ou fadiga.	B	B	N	Máx. 2 mm, RDC N 14 de 28 de março de 2014	Realizar manutenções periódicas preventivas.
	Q - Nenhum	Característica do Processo	-	-	-	-	-
	B - Nenhum	Característica do Processo	-	-	-	-	-
Armazenamento Produto Acabado	F - Nenhum	Característica do Processo	-	-	-	-	-
	Q - Nenhum	Característica do Processo	-	-	-	-	-
	B - Nenhum	Característica do Processo	-	-	-	-	-
Carregamento / Expedição	F - Corpos Estranhos	Existência de corpos estranhos nos veículos	B	B	N	Indesejável e não especificado	Inspeção das condições do caminhão
	Q - Pesticida, Solventes e Outros	Existência de produtos químicos/odores estranhos nos veículos	M	B	B	Ausente	Inspeção das condições do caminhão
	B - Bolores	Presença de bolor	M	B	B	Indesejável e não especificado	Inspeção das condições do caminhão

F – Físico; Q – Químico; B – Biológico; S – Severidade; PO – Probabilidade de Ocorrência; R – Risco; A – Alto; M – Médio; B – Baixo; BB – Baixíssimo; N – Não significativo.

Fonte: Autoria própria.

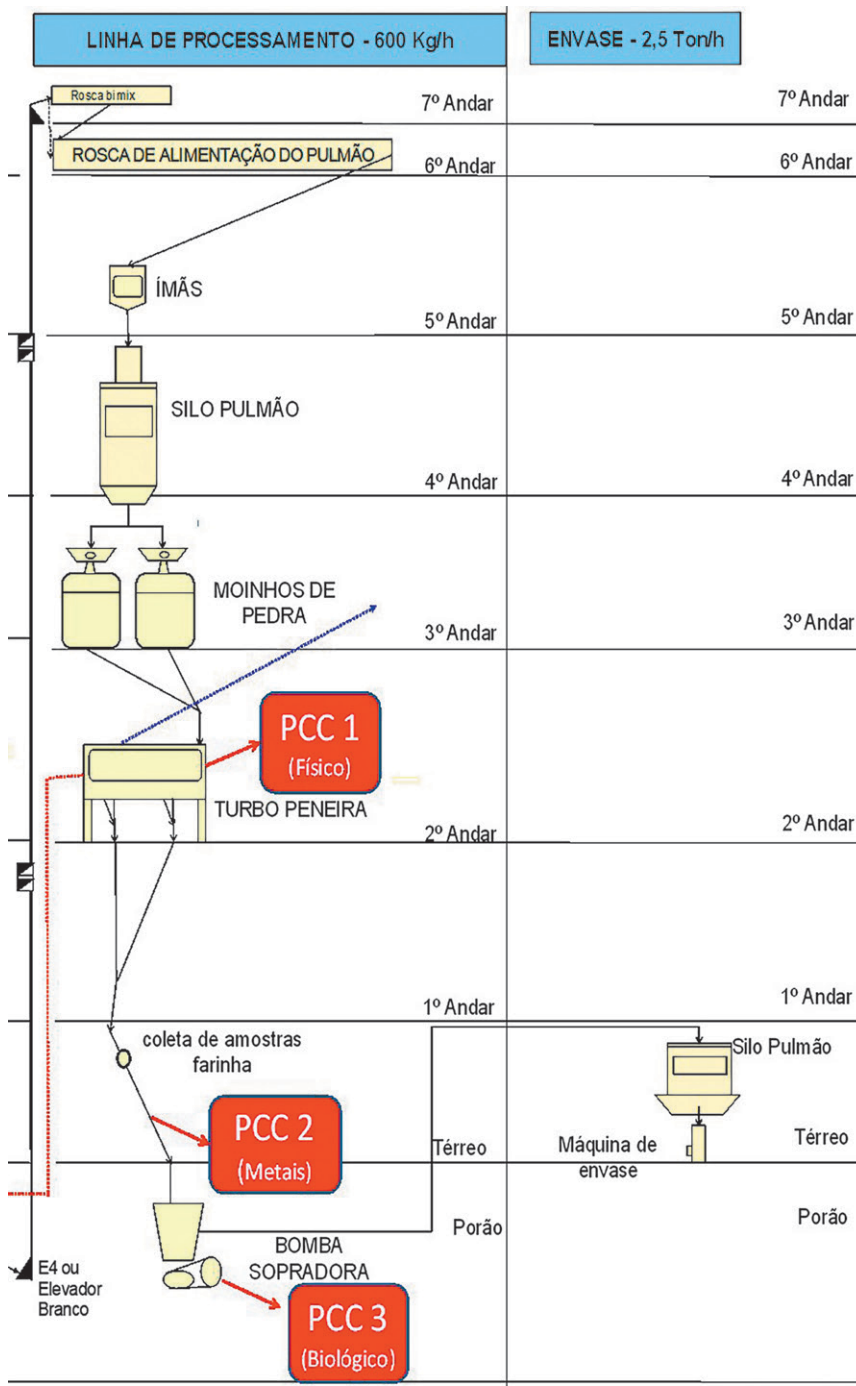


Tabela 10 - Aplicação da árvore decisória para perigos do processo

Etapa do Processo	Perigos identificados	ÁRVORE DECISÓRIA						RESULTADO DA QUESTÃO					
		Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6
Recebimento de Trigo	B - <i>Salmonella</i> , Leptospira, Vírus	sim	não	não	sim			Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
		sim	sim					Vá para Q2	Avaliação desse perigo será realizada na etapa posterior.				
Pré-Limpeza	F - Impurezas	sim	sim					Vá para Q2	Avaliação desse perigo será realizada na etapa posterior.				
		sim	não	não	sim	sim	sim	Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	Vá para Q5	Vá para Q6	PPRO
1ª Limpeza	F - Metais Ferrosos	sim	não	não	não	sim	sim	Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	Vá para Q5	Vá para Q6	PPRO
	F - Materiais Estranhos	sim	não	não	não	sim	sim	Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	Vá para Q5	Vá para Q6	PPRO
Transporte (tma)	F - Impurezas	sim	não	não	sim			Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
	F - Materiais Ferrosos	sim	não	não	sim			Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
Moagem	F - Pedras oriundas do próprio moinho	sim	não	não	sim			Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
	F - Materiais Ferrosos	sim	não	não	sim			Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
Penetramento Turbo Penetra	B/M - Mofo	sim	não	não	sim			Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	PPRO		
	F - Materiais Ferrosos	sim	sim					Vá para Q2	Avaliação desse perigo será realizada na etapa posterior.				
Transporte (Detector de metais e Bomba pneumática)	F - Materiais Estranhos	sim	não	não	não	sim	não	Vá para Q2	Vá para Q3	Vá para Q4	Vá para Q5	Vá para Q6	PCC
	F - Materiais Ferrosos	sim	não	sim				Vá para Q2	Vá para Q3	PCC			
Transporte (Detector de metais e Bomba pneumática)	B - Fungos e Bactérias do ar	sim	não	sim				Vá para Q2	Vá para Q3	PCC			
		sim	não	sim				Vá para Q2	Vá para Q3	PCC			

Fonte: Própria autoria.

Figura 5. Identificação dos Pontos Críticos de Controle (PCC) no fluxograma figurado



Fonte: Própria autoria.

Tabela 11 - Plano de Monitoramento e Verificação - PPC1

NÚMERO DO PCC	ETAPA	PERIGO	MEDIDA DE CONTROLE	LIMITES CRÍTICOS	TIPO DE PERIGO
01	Peneiramento - Turbo Peneira	Materiais Estranhos (Papel, plástico, pedra, vidro etc.)	Passagem da farinha por peneira com abertura de 1,5 mm na entrada e 2,0 mm na saída	Ausência de rasgos nas telas.	Físico
<b>JUSTIFICATIVA</b>					
Baseado no princípio de garantir a retenção de partículas com diâmetro superior a 2 mm					
<b>MONITORAMENTO</b>					
<b>SISTEMÁTICA</b>					
O QUÊ	ONDE	COMO	FREQUÊNCIA	RESPONSÁVEL	REGISTRO
Integridade da tela de peneiramento	Equipamento Turbo Peneira, 2º Andar Moagem	Abrir a porta de inspeção lateral e avaliar a integridade da tela	Antes de iniciar a produção e repetir a cada 6 horas de produção	Operador de Produção	Registro de limpeza e inspeção da linha
Peneiramento da farinha integral	Boca de inspeção tubulação 1º Andar	Recolher amostra de farinha de trigo integral e submeter ao peneiramento em plamsfer de mesa, abertura de 250 µm, avaliar material retido	A cada hora	Técnico do Laboratório	Boletim Diário de Acompanhamento de Produção
<b>CRITÉRIO DE ACEITAÇÃO</b>					
Ausência de material estranho com diâmetro superior a 2 mm					
<b>JUSTIFICATIVA</b>					
Baseado no critério de aceitação RDC nº 14 de 28 Março de 2014					
<b>VERIFICAÇÃO</b>					
<b>SISTEMÁTICA</b>					
O QUÊ	ONDE	COMO	FREQUÊNCIA	RESPONSÁVEL	REGISTRO
Verificar o resultado dos monitoramentos	Na produção e Laboratório	Verificar o correto e completo preenchimento das plaminhas assim como ações corretivas	Semanalmente	Coordenador de Produção/ Coordenador de Qualidade	Rota de Segurança do Alimento
<b>Ação: Tela da Turbo rasgada ou identificado material estranho no peneiramento</b>					
Nº	Ação: Tela da Turbo rasgada ou identificado material estranho no peneiramento				
1	Parar a linha e informar ao Coordenador de Produção				
2	Providenciar a segregação de todo o material desde o último teste que não houve desvio				
3	Providenciar a limpeza do equipamento e realizar o teste de eficiência				
4	Registrar em CNC a ocorrência e agir conforme procedimento Tratamento de Não Conformidades				
<b>REGISTRO</b>					
Operador/Tec. Laboratório					
Operador/Tec. Laboratório					
Líder do setor					
Garantia da Qualidade					
CNC - Relatório de Não Conformidades					

Fonte: Própria autoria.

Tabela 12 - Plano de Monitoramento e Verificação - PPC2

<b>NÚMERO DO PCC</b>	02		<b>TIPO DE PERIGO</b>	Físico			
<b>ETAPA</b>	Transporte - Detector de Metais						
<b>PERIGO</b>	Fragmentos de Metais						
<b>MEDIDA DE CONTROLE</b>	Detecção de partículas metálicas pelo Detector de Metais						
<b>MONITORAMENTO</b>	<b>LIMITES CRÍTICOS</b>			<b>JUSTIFICATIVA</b>			
	Reprovação de 100% dos corpos de prova abaixo:			Baseado em recomendação do fornecedor de equipamentos de detecção (Fortress)			
	Metal ferroso: dimensão de 1,0 mm						
	Metal não ferroso: dimensão de 1,2 mm						
	Aço inoxidável: dimensão de 1,5 mm						
	<b>SISTEMÁTICA</b>						
	<b>O QUÊ</b>	<b>ONDE</b>	<b>COMO</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>RESPONSÁVEL</b>	<b>REGISTRO</b>	
	Monitoramento da eficiência do equipamento	Detector de Metais Andar Porão	Passar 03 corpos de prova que devem ser rejeitados: 1 para metal ferroso, 1 para metal não ferroso e 1 para aço inox. Passar três vezes cada corpo de prova a cada teste	Antes de iniciar a produção e repetir a cada 2 horas de produção.	Operador de Produção	Registro de Inspeção do Detector de Metais (Linha Integral)	
<b>VERIFICAÇÃO</b>	<b>CRITÉRIO DE ACEITAÇÃO</b>			<b>JUSTIFICATIVA</b>			
	100% dos corpos de prova serem automaticamente rejeitados pelo equipamento			Baseado na experiência de validação realizada na empresa, em que 100% dos fragmentos foram retirados pela máquina considerando os limites críticos			
	<b>SISTEMÁTICA</b>						
		<b>O QUÊ</b>	<b>ONDE</b>	<b>COMO</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>RESPONSÁVEL</b>	<b>REGISTRO</b>
		Verificar os registros de Inspeção do Detector de Metais (linha integral)	Na produção	Verificar o correto e completo preenchimento das planilhas assim como ações corretivas	Semanalmente	Coordenador de Produção/ Coordenador de Qualidade	Rota de Segurança do Alimento
	<b>CORREÇÕES E AÇÕES CORRETIVAS</b>	Nº	<b>Ação: I. Detector de metais com defeito (Corpo de prova não é rejeitado)</b>		<b>RESPONSÁVEL</b>	<b>REGISTRO</b>	
1		Parar a linha e Informar ao Coordenador de Produção		Operador/Téc. Laboratório			
2		Providenciar a segregação de todo o material desde o último teste que não houve desvio		Operador/Téc. Laboratório			
3		Providenciar a manutenção/calibração do detector de metais		Líder do setor	CNC - Relatório de		
4		Após conserto do detector (ou em outro detector que esteja funcionando), passar todo o lote segregado		Líder do setor	Não Conformidades		
5		Registrar em CNC a ocorrência e agir conforme procedimento Tratamento de Não Conformidades		Garantia da Qualidade			
OBS:		Ao final da produção procurar o(s) contaminante(s) no material rejeitado e investigar a origem do material estranho encontrado		Operador/ Garantia da Qualidade			

Fonte: Própria autoria.

Tabela 13 - Plano de Monitoramento e Verificação - PPC3

<b>NÚMERO DO PCC</b>	03		<b>TIPO DE PERIGO</b>		Biológico	
<b>ETAPA</b>	Transporte - Filtro bomba pneumática					
<b>PERIGO</b>	Fungos e Bactérias do ar					
<b>MEDIDA DE CONTROLE</b>	Filtro de ar com membrana adequada					
<b>MONITORAMENTO</b>	<b>LIMITES CRÍTICOS</b>			<b>JUSTIFICATIVA</b>		
	Membrana não saturada, ou produção de 50 toneladas de farinha de trigo integral			Baseado em recomendação do fornecedor, de forma a garantir a eficiência da membrana.		
	<b>SISTEMÁTICA</b>					
	<b>O QUÊ</b>	<b>ONDE</b>	<b>COMO</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>RESPONSÁVEL</b>	<b>REGISTRO</b>
Inspeção visual do saturamento, integridade da membrana e realização da troca	Bomba pneumática, andar porão	Abrindo compartimento e avaliando condições da membrana, avaliar também a realização da troca	Antes de iniciar as produções, diariamente	Operador de Produção	Registro de limpeza e inspeção da linha	
<b>VERIFICAÇÃO</b>	<b>CRITÉRIO DE ACEITAÇÃO</b>			<b>JUSTIFICATIVA</b>		
	Membrana não saturada			Garantia de barreira eficiente, evitando proliferação microbiana.		
	<b>SISTEMÁTICA</b>					
	<b>O QUÊ</b>	<b>ONDE</b>	<b>COMO</b>	<b>FREQUÊNCIA</b>	<b>RESPONSÁVEL</b>	<b>REGISTRO</b>
Verificar os registros de limpezas e inspeção da linha	Na produção	Verificar o correto e completo preenchimento das planilhas assim como ações corretivas	Semanalmente	Coordenador de Produção/ Coordenador de Qualidade	Rota de Segurança do Alimento	
<b>CORREÇÕES E AÇÕES CORRETIVAS</b>	<b>Nº</b>	<b>Ação: Membrana filtrante rompida ou evidenciado desgaste excessivo</b>		<b>RESPONSÁVEL</b>	<b>REGISTRO</b>	
	1	Parar a linha e informar ao Coordenador de Produção		Operador/Téc. Laboratório		
	2	Providenciar a segregação de todo o material desde o último teste que não houve desvio		Operador/Téc. Laboratório		
	3	Providenciar a troca da membrana		Líder do setor	CNC - Relatório de	
	4	Descartar toda produção deste o último teste que não houve desvio		Operador/ Garantia da Qualidade	Não Conformidades	
	5	Registrar em CNC a ocorrência e agir conforme procedimento Tratamento de Não Conformidades		Garantia da Qualidade		

Fonte: Própria autoria.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle aplicada à produção de farinha de trigo integral, foi constatado que o processamento reduz os contaminantes presentes no trigo para níveis aceitáveis, desde que os três PCCs identificados nas etapas de peneiramento, referente à verificação da integridade das telas, e transporte, referente à detecção de metais e integridade do filtro de aspiração, sejam corretamente monitorados.

Embora o projeto tenha sido desenvolvido para linha de farinha integral, as etapas de recebimento e limpeza do trigo são comuns para farinhas convencionais, podendo ser complementado para as demais áreas da indústria. Também poderá ser adaptado facilmente para outros seguimentos, mas sempre respeitando as particularidades de cada processo.

## REFERÊNCIAS

ABITRIGO. Associação Brasileira da Indústria de Trigo. Importação de Trigo, 2014. Disponível em: [http://www.abitrigo.com.br/pdf/est/01.Est\\_Moinhos\\_Ativ\\_BR2014.pdf](http://www.abitrigo.com.br/pdf/est/01.Est_Moinhos_Ativ_BR2014.pdf). Acesso em: 14 mar. 2020.

ALMEIDA, C. R. O Sistema HACCP como instrumento para garantir a inocuidade dos alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo. V.12, n. 53, p.12-20, 1998.

ANSI - *American National Standards Institute*. Disponível em: <https://www.ansi.org/>. Acesso em: 10 mar. 2020.

BRASIL. Resolução RDC nº 344, de 18 de dezembro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico para a Fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de Milho com Ferro e Ácido Fólico, constante do anexo desta Resolução. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 dez. 2002.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 38, de 30 de novembro de 2010. Regulamento técnico do trigo. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 29, p. 2, 1 dez. 2010. Seção 1.

\_\_\_\_\_. Resolução a RDC nº 26, de 2 de julho de 2015. Dispõe sobre os requisitos para rotulagem obrigatória dos principais alimentos que causam alergias alimentares. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 3 jul. 2015.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Código Internacional de Práticas Recomendadas para Princípios Gerais de Higiene Alimentar. [CAC/RCP 1 – 1969 Revisão 4], 2003.

HARRINGTON, H. J. **Aperfeiçoando processos empresariais**. São Paulo: Makron Books, 1993.

HOORNSTRA, E. et al. The use of quantitative risk assessment in HACCP. **Food Control**, v. 12, n. 4, p. 229-234, 2001.

LORINI, I. **Manual técnico para o manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2005. 80 p.

MORTIMORE, S. How to Make HACCP Really Work in Practice. **Food Control**, Elsevier, v. 12, p. 2009-2015. 2001.

# Capítulo 17

## **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ACEITAÇÃO SENSORIAL E PERFIL PROTEOLÍTICO DE QUEIJO HIPOSSÓDICO MATURADO POR CULTURA ADJUNTA**

*Marly Sayuri Katsuda*

*Jonas de Sousa*

*Eduarda Cristina Catandubas Goulart*

*Deyse Sanae Ota*

*Renata Marques Bonfim*

*Felipe Amorin Rossi*

*Valéria Barbosa Gomes de Santis*

*Marina Levorato de Moraes*

*Jefferson Sussumu de Aguiar Hachiya*

*Luciana Furlaneto-Maia*

### **1. INTRODUÇÃO**

O Queijo Minas padrão é um produto tipicamente brasileiro, produzido em Minas Gerais desde o século XIX. É conhecido pela sua consistência macia a semidura de acordo com o seu grau de maturação, possui a coloração interna branco-creme e a casca fina amarelada formada após 10 dias de maturação (BRASIL, 1996; FURTADO et al., 2005).

Este queijo é largamente produzido e apreciado em todo o país, e, portanto, é um dos cinco queijos mais consumidos no país. Sua composição e as



características sensoriais podem alterar de acordo com a tradição ou a arte do queijeiro regional. De acordo com a legislação brasileira para todos os tipos de queijos industrializados, o queijo Minas padrão pode ser classificado como queijo semigordo a gordo e de umidade média a alta considerando diversos fatores, tais como, qualidade da matéria-prima, tipo do fermento láctico, procedimentos de elaboração e tempo de maturação (BRASIL, 1996; FOX et al., 2000).

O queijo Minas padrão é elaborado a partir do leite integral e pasteurizado com adição de fermento mesófilo, geralmente composto por *Lactococcus lactis* e *Lactococcus cremoris*, embora algumas indústrias acrescentem culturas lácticas aromáticas para diferenciar seu sabor e textura visando diferenciar seu produto no mercado. O procedimento de elaboração deste queijo apresenta algumas etapas parecidas com a produção do queijo Minas Frescal, mas possuem particularidades, tais como: tamanho dos grãos menores, maior tempo de agitação, enformagem em formas com dessoradores para formar a casca, prensagem da massa, salga prolongada, secagem e maturação de no mínimo 20 dias. Este queijo pode ser comercializado sob refrigeração por um período de três meses (PERRY, 2004; FURTADO, 2005).

A variação da produção do queijo Minas padrão em todo o país, promove alterações composicionais, em especial quanto ao teor de sal, muitas vezes impulsionada pelo perfil do mercado consumidor. Estudo realizado por Felício et al. (2013) constataram que 90% das amostras analisadas de requeijão e queijo Minas padrão amostradas em diversas regiões no país apresentaram teores de sódio superior a 400 mg/100 g, concentração classificada como de alto teor de sal de acordo com a Agência da Vigilância Sanitária quando em comparação os demais queijos consumidos no Brasil.

Segundo estudos realizados por pesquisadores, publicados na série Trends 2020, desde 2014 vem crescendo o segmento de consumidores que buscam por alimentos saudáveis produzidos de forma sustentável. O aspecto saudabilidade visado por este perfil de consumidores envolvem alimentos que proporcionem seu bem-estar diário e que tenham efeitos positivos na proteção contra doenças. Neste aspecto buscam por produtos puros, naturais e personalizados para a saúde física, mental e emocional. Deste modo, o estudo apontou demandas por alimentos com baixo teor de sódio voltados para consumidores hipertensos, hipercolesterolêmicos, além dos indivíduos que visam prevenir a evolução da doença proporcionando sua qualidade de vida (ZACARCHENKO; VAN DENDER; REGO, 2017).

Há diversas alternativas para reduzir o teor de sódio no queijo, os quais envolvem reduzir a concentração do cloreto de sódio (NaCl) no queijo ou

substituir parcialmente o mesmo por cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ), de cálcio ( $CaCl_2$ ), de lítio ( $LiCl$ ) ou de potássio ( $KCl$ ) na etapa de salga dos queijos. O  $KCl$  apresentou melhor desempenho como substituto do  $NaCl$ , porém estudos comprovaram que o substituinte proporciona o sabor residual metálico, assim como alterações na textura e sobretudo, evidencia um gosto amargo aos queijos. Estudo com queijos naturais e processados demonstraram que é possível substituir entre 30 e 40% do  $NaCl$  por  $KCl$  com poucas alterações composicionais, sensoriais, reológicas e microbiológicas do produto final, porém ocorreu incidência de sabor ácido, além de aumentar a proteólise e atividade da água (JOHNSON et al., 2009; GUINNE, 2004).

Katsuda et al. (2017a) estudaram o efeito da substituição parcial do  $NaCl$  pelo  $KCl$ , nas proporções variando entre 20 e 80%, sob as características físico-químicas e textura no queijo Minas padrão, observaram que ao substituir mais de 60% do sódio pelo potássio promoveu aumento significativo nos teores de umidade e redução da firmeza. Ao avaliar sensorialmente, os queijos Minas padrão com as mesmas proporções de substituinte, os provadores não perceberam efeitos nos atributos aparência, sabor de queijo, gosto salgado e textura em até 60% de  $KCl$  (KATSUDA et al., 2017b).

Como alternativa para mascarar o gosto residual amargo proveniente do potássio, envolve a adição de ervas aromáticas, aminoácidos ou culturas lácticas adjuntas produtoras de aroma. Estudos indicam que a inoculação dessas culturas melhora o sabor de queijos devido ao aumento da concentração de aminoácido livres (ARDÖ, 1997; FOX et al., 2000).

As cepas de bactérias ácido lácticas podem apresentar incremento na qualidade do produto final. O *Lactobacillus helveticus* pertence ao grupo das bactérias ácido láctica, produzindo o ácido láctico como principal produto de seu metabolismo e ainda cetonas, aldeídos e compostos sulfurosos. É uma bactéria homofermentativa termofílica, capaz de fermentar a galactose, glicose e lactose. A adição do *L. helveticus* como cultura adjunta é considerada muito importante para a indústria de laticínios por apresentar capacidade de reduzir o sabor amargo, devido à sua especificidade de atuar em ligações contendo prolina, além de conferir sabor característico ao queijo. Tem sido utilizado como cultura adjunta na produção de queijos semiduros de baixo teor de gordura, promovendo aumento dos níveis de proteólise, diminuição do sabor amargo e intensificação dos sabores desejáveis (DRAKE; SWANSON, 1995).

A espécie *Streptococcus thermophilus* pertence ao grupo das bactérias ácido láctica de grande importância na indústria laticinista e é amplamente utilizada

para elaboração de diversos produtos lácteos fermentados. Possui atividade homofermentativa e seu metabolismo confere outra propriedade tecnológica importante, a atividade proteolítica. Estas bactérias também são consideradas nutricionalmente exigentes. O sistema proteolítico deste grupo de bactérias compreende cerca de 20 enzimas proteolíticas e está formado por proteases capazes de hidrolisar a caseína, por um conjunto de transporte de aminoácidos e de peptídeos necessários para a importação de aminoácidos, e por um grupo de peptidases intracelulares envolvidas na hidrólise de peptídeos derivados da caseína (HOIER et al., 2010; DE VUYST; TSAKALIDOU, 2008).

Portanto, o presente trabalho consistiu em avaliar o efeito da substituição do cloreto de sódio pelo potássio em queijos Minas Padrão adicionado de cultura adjunta sobre as características físico-química, sensorial e composicional. O estudo avaliou a evolução da proteólise e acidez ao longo dos 40 dias de maturação a 14 °C, enquanto a aceitação sensorial foi realizada apenas aos 20 dias de maturação.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O leite utilizado foi padronizado para 3,4% de gordura sem homogeneizar e pasteurizado no laticínio De Leite localizado na cidade de Londrina-PR. Para a produção do queijo foi utilizado coagulante líquido da marca Estrella® (Chr. Hansen) composto por quimosina produzida por fermentação com o poder coagulante de 1:3000. As culturas utilizadas para a produção dos queijos foram: *Lactococcus lactis* e *Lc. cremoris*, denominação comercial DVS R-704 (Chr. Hansen) e o fermento com cultura adjunta foi composta por *Lc. lactis*, *Lc. cremoris*, *Lb. helveticus* e *S. thermophilus*, DVS RSF-736 (Chr. Hansen), a quantidade utilizada foi realizada segundo especificações do fabricante.

### 2.1 ELABORAÇÃO DO QUEIJO MINAS PADRÃO

Os queijos Minas padrão foram elaborados conforme a metodologia descrita por Furtado (2005) com modificações. Foram elaborados 2 tratamentos de queijos com fermento láctico homofermentativo mesofílico composto por *Lc. lactis*, *Lc. cremoris* (A) e outro com o fermento contendo culturas lácticas mesofílicas (*Lc. lactis*, *Lc. cremoris*) e cultura adjunta composta por *Lb. helveticus* e *S. thermophilus* (B). Os tratamentos com fermentos A e B foram salgados por 3

misturas de sal com diferentes proporções de cloreto de sódio e/ou de potássio (NaCl/KCl) nas seguintes proporções: 100:0 (C), 50:50 (T1) e 30:70 (T2). As elaborações dos queijos foram realizadas no Laboratório de Laticínios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná câmpus Londrina-PR.

O leite padronizado a 3,4% foi pasteurizado na indústria de laticínio produtora do leite tipo A (Londrina-PR) e foi acondicionado em tanque de coagulação e ajustado na temperatura de 35 °C. Em seguida adicionou-se fermento láctico A ou B e foram maturados por um período de 10 minutos. Adicionou-se 0,04% de cloreto de cálcio 50% (v. v<sup>-1</sup>) e depois o coagulante da marca Estrela (Chr. Hansen) de acordo com a recomendação do fabricante (0,08% v. v<sup>-1</sup>). O leite permaneceu em repouso por 50 minutos para a obtenção da coalhada, posteriormente realizou-se o corte em cubos de 1 cm<sup>3</sup> e após um repouso de 5 minutos efetuou-se uma agitação por 40 minutos e dessora parcial da coalhada. A salga realizada foi direto na massa na proporção de 1% (p.v<sup>-1</sup>) para cada tratamento (A e B) com as três proporções de sal (C, T1 e T2).

Após a difusão do sal, este permaneceu em repouso por 10 minutos e em seguida realizou-se a pré-prensagem (equivalente ao dobro do peso da coalhada) por 10 minutos. A massa foi acondicionada em formas cilíndricas de 1 Kg com dessorador, os quais foram submetidos à prensagem de 30 minutos com pressão equivalente a 10 vezes o peso do queijo, seguido de viragens e prensagens com intervalos de 1 hora, totalizando 3 horas. Os queijos foram desenformados e submetidos à secagem à temperatura de 10 °C por um período de 24 horas. Os queijos foram embalados a vácuo e maturados em câmaras de maturação à temperatura de 14 °C.

## 2.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A composição proximal de todos os tratamentos foi realizada aos 40 dias de maturação. Foram determinados os teores de extrato seco total (EST), umidade por método gravimétrico, proteína pelo método micro-Kjedahl, cinzas por calcinação em mufla a 550 °C e cloretos pelo método argentométrico (AOAC, 2003). O teor de gordura foi determinado pelo método volumétrico empregando butirômetro de Gerber (IAL, 2008) e a gordura no extrato seco (GES) foi determinada pela razão entre a gordura e o extrato seco total. Todas as análises foram feitas em triplicata.

O preparo da amostra foi realizado conforme os procedimentos descritos pela IAL (2008) e a quantificação de sódio e potássio ocorreu no fotômetro de

chamas utilizando as soluções padrões de Na e de K como referência e depois convertido na unidade em  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  de queijo.

A determinação da fração nitrogenada solúvel de todos os tratamentos foi realizada aos 0, 20 e 40 dias de maturação. As frações de nitrogênio solúvel (NS) consistiu na determinação do nitrogênio não caseico (NNC) em pH 4,6 (VAKALERIS; PRICE, 1959) e nitrogênio não proteico (NNP) solúvel em TCA (GRIPON, 1975). Para avaliar os estágios de maturação, determinou-se o índice de proteólise primária ou extensão de maturação que consistiu na razão entre NNC e Nitrogênio Total (NT) expresso em porcentagem. E a proteólise secundária ou índice de profundidade de maturação que consistiu na razão entre NNP e NT, expresso em porcentagem (WOLFSCHOON-POMBO, 1983).

## 2.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Após 10 dias de maturação, todas amostras de queijos foram avaliadas microbiologicamente visando o conferir a segurança alimentar para realizar análise sensorial, atendendo o protocolo ético em pesquisa com seres humanos. Os requisitos microbiológicos foram controlados conforme o regulamento vigente para queijos de alta umidade (BRASIL, 1996), determinado previamente na análise físico-química, os quais envolvem a avaliação na contagem de Coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* realizadas por 3M<sup>™</sup> Petrifilm<sup>™</sup> (Sumaré/SP), cujo os procedimentos foram realizados conforme os métodos oficiais AOAC (2003). As análises de pesquisa de *Salmonella* spp. foram realizadas de acordo com Silva (2008).

## 2.4 ANÁLISE SENSORIAL

A avaliação sensorial foi realizada no laboratório de Sensorial da UTFPR Câmpus Londrina. As amostras dos queijos maturados por 20 dias assegurados pela análise microbiológica foram avaliadas por 50 provadores não treinados envolvendo alunos e servidores. Cada provador recebeu o termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo comitê de ética da UTFPR (CAAE n. 50738515.9.0000.5547) de acordo com a Resolução n° 466 de 2012. As amostras de queijo foram fracionadas em cubos de 1,5 cm de aresta, previamente estocados a 10 °C e foram apresentadas aos avaliadores em pratos plásticos codificados com número de três dígitos de forma aleatorizada. As análises foram realizadas em duas sessões, cada uma com três amostras para não saturar as papilas

gustativas. Os provadores eram orientados enxaguar a boca com água a temperatura ambiente no intervalo entre a prova das amostras. Os provadores deveriam atribuir notas para os atributos sabor de queijo, sabor salgado, textura e nota global em uma ficha de escala hedônica híbrida variando de 0 a 10 pontos, cujo 0 corresponde a “desgostei extremamente” e 10 “gostei extremamente”, proposta por Villanueva, Petenate e Silva (2005).

## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados da composição proximal e análises físico-químicas realizados nos queijos foram tratados por Análise de Variância (ANOVA) e a comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey no nível de significância de 5%.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O teor de umidade de todos os tratamentos apresentou-se superior a 46% o que classifica os queijos como de alta umidade de acordo com a legislação vigente para queijos (BRASIL, 1996). O queijo T1A apresentou teor de umidade significativamente menor comparado aos demais tratamentos, embora o T2A encontre-se similar ao controle (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição proximal e características físico-químicas dos queijos Minas Padrão com cultura homofermentativa (A) e cultura adjunta (B) com diferentes proporções de NaCl:KCl – C (100:0), T1 (50:50) e T2 (30:70)

Parâmetros	CA	T1A	T2A	CB	T1B	T2B
Umidade (%)	49,24 <sup>aA</sup> ±0,28	47,96 <sup>bB</sup> ±0,18	48,96 <sup>aA</sup> ±0,18	48,67 <sup>bA</sup> ±0,24	51,07 <sup>aA</sup> ± 0,15	49,04 <sup>bA</sup> ± 0,22
Gordura (%)	25,0 <sup>aA</sup> ± 0,0	19,3 <sup>cB</sup> ± 0,6	22,5 <sup>bA</sup> ± 0,0	20,0 <sup>bB</sup> ± 0,0	22,5 <sup>aA</sup> ± 0,0	24,2 <sup>aA</sup> ± 2,5
GES (%)	49,3 <sup>aA</sup> ±0,3	37,2 <sup>cB</sup> ±1,0	44,1 <sup>bB</sup> ±0,2	39,0 <sup>bB</sup> ±0,2	46,0 <sup>aA</sup> ±0,1	47,4 <sup>aA</sup> ±0,6
Proteína (%)	22,7 <sup>aA</sup> ± 0,7	21,0 <sup>aA</sup> ± 1,7	22,0 <sup>aA</sup> ± 0,8	24,9 <sup>aA</sup> ± 1,3	22,6 <sup>aA</sup> ± 0,8	23,4 <sup>aA</sup> ± 0,7
Cloretos (%)	0,3 <sup>aA</sup> ± 0,0	0,3 <sup>aA</sup> ± 0,0	0,3 <sup>aA</sup> ± 0,0	0,3 <sup>aA</sup> ± 0,0	0,3 <sup>aA</sup> ± 0,0	0,3 <sup>aA</sup> ± 0,0
Aw	0,97 <sup>bA</sup> ± 0,0	0,98 <sup>aA</sup> ± 0,0	0,98 <sup>aA</sup> ± 0,0	0,97 <sup>bA</sup> ± 0,0	0,97 <sup>bB</sup> ± 0,0	0,98 <sup>aA</sup> ± 0,0
Sódio (mg.100g <sup>-1</sup> )	180,01 <sup>aA</sup> ± 0,04	103,67 <sup>bA</sup> ± 25,94	51,50 <sup>cA</sup> ± 11,62	115,74 <sup>aA</sup> ± 0,35	119,88 <sup>aA</sup> ± 12,83	28,38 <sup>bB</sup> ± 0,01
Potássio (mg.100g <sup>-1</sup> )	77,50 <sup>bA</sup> ± 3,52	121,56 <sup>aA</sup> ± 93,82	58,94 <sup>bA</sup> ± 25,73	11,06 <sup>cB</sup> ± 1,44	198,93 <sup>aA</sup> ± 0,76	23,65 <sup>bA</sup> ± 0,01

GES - Gordura no extrato seco, Aw - Atividade de água.

a, b – letras minúsculas iguais indicam que não houve diferença estatística quanto ao nível do sal.

A, B – letras maiúsculas iguais indicam que não houve diferença estatística entre os tratamentos com o mesmo nível do sal com diferente fermento láctico.

Fonte: Autoria própria (2019).

Por outro lado, ao elaborar queijos com cultura adjunta e 50% de substituição do sódio pelo potássio (T1B) apresentou maior teor de umidade. O teor de umidade deste tratamento neste estudo apresentou similar aos queijos Minas padrão contendo 60% de cloreto de potássio como substituinte do sódio avaliados por Katsuda et al. (2017a). Apesar do T1A e T1B terem apresentado diferença estatística comparado aos demais tratamentos que receberam a mesma cultura, pode-se observar que somente estes tratamentos com 50% de redução de NaCl apresentaram diferença estatística quando o fermento é associado à cultura adjunta. Vários estudos demonstraram que *S. thermophilus* possui capacidade produtora de exopolissacarídeos o que pode contribuir com a retenção de umidade. Gomes-Santi et al. (2018) observaram aumento no teor de umidade nos queijos que receberam as mesmas culturas adjuntas associado

às mesmas proporções de NaCl/KCl em queijo Minas padrão com redução de 30% do teor de gordura.

O teor de gordura e GES variaram em todos os níveis de mistura dos sais quando adicionado de cultura homofermentativa (A) ou de cultura adjunta (B). Não foi possível observar que a substituição do NaCl pelo KCl teve efeito neste componente e tão pouco a inclusão da cultura adjunta. O queijo produzido neste estudo apresentou classificação quanto ao teor de gordura como semigordo a gordo (BRASIL, 1996).

Não foi observado efeito da redução do sódio e adição de cultura adjunta nos teores de proteína e cloretos neste estudo. Gomes et al. (2018) também não observaram alteração neste parâmetro em seu estudo com o mesmo tipo do queijo desenvolvido neste trabalho. Os teores de cloretos nos queijos apresentaram 70% inferior ao que foi incorporado, o que permite observar que houve lixiviação do sal neste estudo.

Os valores da atividade de água aumentaram com a substituição do NaCl por KCl com fermento homofermentativo, enquanto os tratamentos maturados por cultura adjunta demonstraram aumento na atividade de água a partir de 70% de redução do NaCl (T2). A adição da cultura adjunta contribuiu na estabilidade no valor deste parâmetro em até 50% de redução do sódio.

Com a substituição do sódio pelo potássio houve redução de 70% nos queijos adicionados de cultura homofermentativa (T2A) conforme proposto no estudo. Por outro lado, os queijos produzidos com culturas adjuntas tiveram uma redução de quase 80% do teor de sódio. De acordo com a Resolução nº 54 (BRASIL, 2012), os queijos que tiveram redução de 50% de sódio, para ambos os fermentos lácticos aplicados, podem ser classificados como queijo de muito baixo teor de sódio por apresentarem-se inferior a 40 mg por porção do queijo (30 g), pois, se extrapolasse a porção para 100 g o limite deveria encontrar-se inferior a 133,2 mg. No caso do lote de queijos que receberam culturas adjuntas (B), mesmo o tratamento controle que não recebeu KCl na massa, apresentou a mesma classificação para os queijos que tiveram redução do sódio. O que permite mencionar que houve problemas na extração do sódio neste tratamento. Embora o teor de sódio e potássio neste estudo tenham apresentado níveis próximos aos obtidos por Katsuda et al. (2017a).

As análises microbiológicas de todos os tratamentos apresentaram contagens de coliformes e estafilococos abaixo dos limites para queijos com alta umidade conforme determinado na composição proximal neste estudo.



Os provadores não identificaram diferença estatística entre os tratamentos com diferentes teores de sal e adição de cultura adjunta relativa ao sabor (de queijo e salgado), textura e aceitação global (Tabela 2).

Tabela 2 – Média das notas atribuídas a 50 provadores para cada atributo dos queijos, sendo C (A e B) 100 % NaCl, T1 (A e B) 50:50% NaCl e KCl, e T2 (A e B) 30:70% NaCl e KCl respectivamente

<b>Formulação</b>	<b>Sabor de queijo</b>	<b>Sabor salgado</b>	<b>Textura</b>	<b>Aceitação global</b>
CA	7,00±1,85 <sup>a</sup>	7,00±1,82 <sup>a</sup>	8,00±1,93 <sup>a</sup>	7,00±1,59 <sup>a</sup>
T1A	7,00±1,89 <sup>a</sup>	6,50±2,06 <sup>a</sup>	8,00±1,97 <sup>a</sup>	7,00±1,77 <sup>a</sup>
T2A	7,00±1,94 <sup>a</sup>	6,00±1,93 <sup>a</sup>	7,00±1,99 <sup>a</sup>	7,00±1,52 <sup>a</sup>
CB	8,00±1,59 <sup>a</sup>	7,00±1,62 <sup>a</sup>	7,00±1,75 <sup>a</sup>	7,80±1,68 <sup>a</sup>
T1B	7,30±1,97 <sup>a</sup>	7,00±1,96 <sup>a</sup>	8,00±1,77 <sup>a</sup>	8,00±1,59 <sup>a</sup>
T2B	7,00±1,49 <sup>a</sup>	7,00±1,89 <sup>a</sup>	7,00±1,84 <sup>a</sup>	7,00±1,51 <sup>a</sup>

Fonte: Autoria própria (2019).

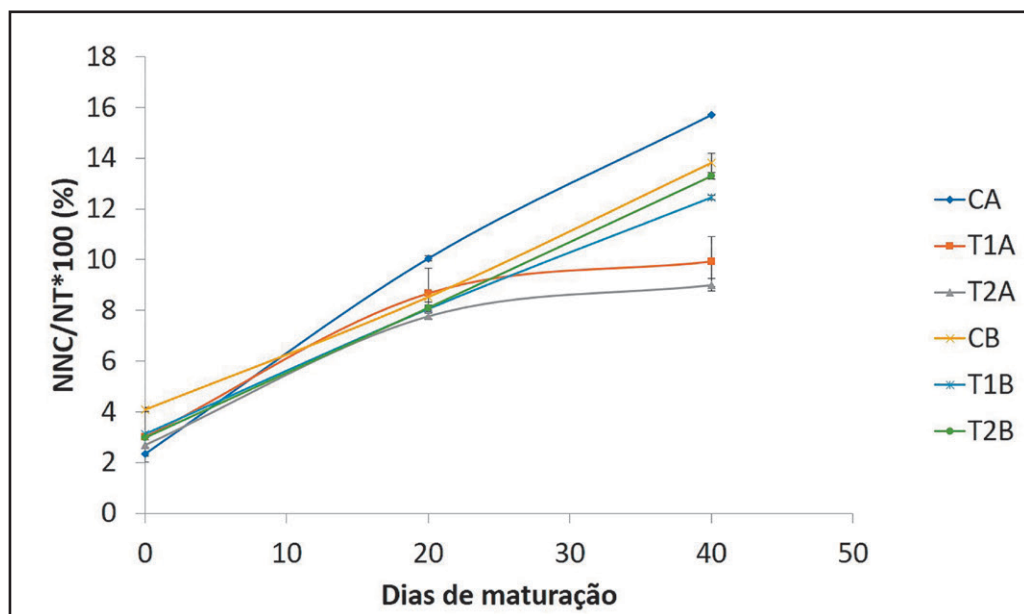
As notas atribuídas para os queijos com culturas homofermentativas apresentaram menor aceitação comparado aos mesmos níveis de sais nos queijos Minas padrão analisados sensorialmente por Katsuda et al. (2018). Neste estudo os provadores perceberam uma ligeira perda no gosto salgado de queijos que tiveram redução nas concentrações de sódio com fermento homofermentativo, em especial o T2A, atribuindo menor nota comparado aos queijos com culturas adjuntas. Alguns provadores mencionaram que o queijo com 70% de redução do sódio maturado com cultura homofermentativa (T2A) apresentou gosto amargo e metálico. Este gosto não foi mencionado pelos provadores em queijos elaborados com cultura adjunta, possivelmente por mascarar o gosto devido à sua característica de produzir aroma e maior atividade proteolítica.

Os provadores não detectaram diferenças significativas na textura dos queijos avaliados neste estudo, uma vez que em virtude do tempo de maturação não foi possível promover atividades proteolíticas que contribuam com aumento na maciez. De acordo com Katsuda et al. (2017b), ao substituir NaCl por KCl em proporções acima de 40 % em queijo Minas padrão com 20 dias de maturação, os provadores notaram perceptível aumento da maciez do queijo, o que melhorou a aceitação dos mesmos.

No tempo inicial o fermento láctico e a substituição do sal parecem não ter afetado a solubilidade do nitrogênio caseico (Figura 1).

Com o avançar do tempo de maturação todos os tratamentos apresentaram o mesmo comportamento crescente da fração nitrogenada. Aos 40 dias de maturação o tratamento CA apresentou maior índice de extensão de proteólise, enquanto os queijos com culturas adjuntas, independente dos níveis de redução de sódio apresentaram o mesmo comportamento de proteólise, o que permite observar que a redução do sódio parece não afetar a atividade proteolítica primária.

Figura 1-Evolução do índice de extensão de proteólise (NNC/NT) ao longo dos 40 dias de maturação



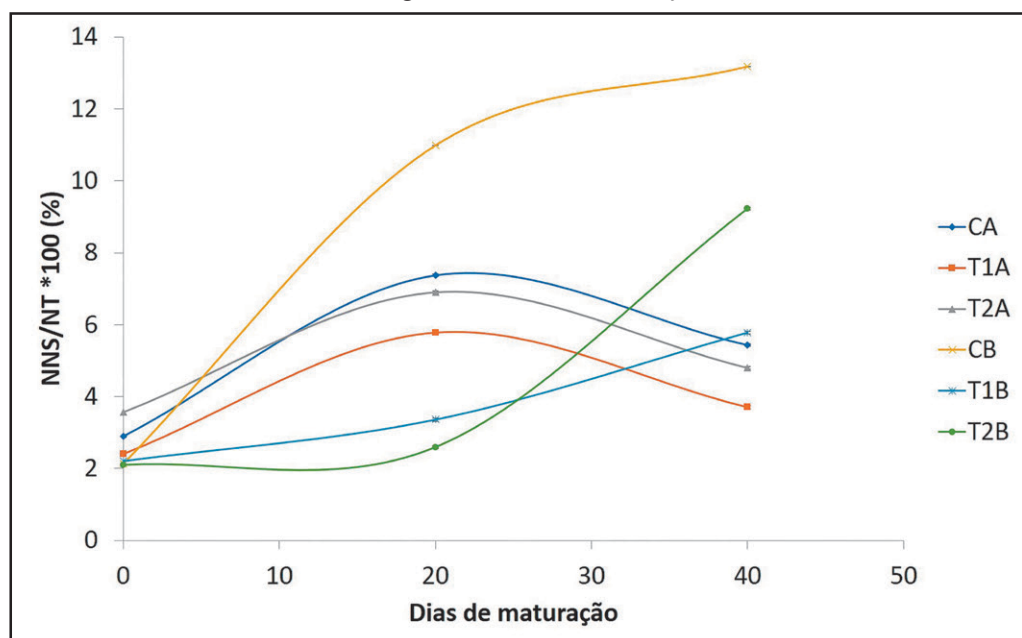
Fonte: Autoria própria (2019).

A proteólise primária ou índice de extensão ocorre principalmente pela atuação das enzimas residuais do coagulante e não pelas bactérias ácido lácticas (WOLFSCHOON-POMBO, 1983; FOX et al., 2000). Gomes-Santis et al. (2018) não observaram efeito da adição da cultura adjunta e redução do sódio no índice de extensão de proteólise.

A maioria dos tratamentos apresentaram os mesmos índices de NNS/NT similares, exceto o tratamento T2A que apresentou significativamente superior (Figura 2).

Aos 20 dias de maturação o queijo adicionado de cultura adjunta (CB) apresentou maior atividade proteolítica, comparado aos demais tratamentos. Enquanto os queijos adicionados de culturas homofermentativas tiveram o mesmo comportamento, embora o queijo CA tenha apresentado aumento no índice de profundidade de proteólise. Os queijos maturados com cultura adjunta e substituintes de cloreto de sódio apresentaram menores atividades proteolíticas neste período.

Figura 2 - Evolução do índice de profundidade de proteólise (NNS/NT) ao longo dos 40 dias de maturação



Fonte: Autoria própria (2019).

Analisando o índice de profundidade de maturação observa-se que após os 20 dias, somente o tratamento CA apresentou aumento no índice profundidade. Os demais tratamentos apresentaram queda significativa da proteólise secundária nos queijos elaborados com o fermento homofermentativo (A) comparado à cultura adjunta (B). O que parece ter ocorrido uma estabilidade na atividade proteolítica neste tempo de maturação. Silva (2014) constatou que o índice de profundidade apresentou-se estável ao longo de 45 dias de maturação ao utilizar o mesmo tipo de fermento homofermentativo mesofílico no queijo Minas Padrão. Gomes-Santis et al. (2018) observaram o efeito da adição da cultura

adjunta sobre o índice de profundidade de proteólise ao longo do tempo, com aumento significativo. Porém não houve efeito significativo sobre a substituição do NaCl por KCl. Quanto maior a atividade proteolítica maior a concentração de peptídeos menores e aminoácidos, o que contribui com o aroma dos queijos (FOX et al., 2000).

Portanto, a adição da cultura lática adjunta contribuiu com a aceitação sensorial, bem como promoveu maior atividade proteolítica o que pode ser uma proposta promissora na aplicação em queijos com substituição de sódio pelo potássio.

## 4. CONCLUSÃO

A substituição do NaCl por KCl contribuiu com o aumento da atividade de água e redução do teor de sódio, enquadrando sua classificação como queijos de muito baixo teor de sódio de acordo com a legislação para alimentos hipossódicos. Não houve efeito nas características físico-químicas nos queijos adicionados de culturas adjuntas.

Os queijos adicionados de culturas adjuntas aliados à redução de sódio não apresentaram diferença estatística comparado aos queijos maturados por fermento mesófilo homofermentativo com as mesmas proporções da mistura dos sais de cloretos.

A adição das culturas adjuntas não afetou o índice de extensão de proteólise, mas houve efeito significativo no índice de profundidade de proteólise, em especial após 40 dias de maturação.

O uso de culturas adjuntas pode ser uma alternativa promissora para mascarar o sabor residual do cloreto de potássio em queijos de média maturação.

## AGRADECIMENTOS

Os nossos agradecimentos ao CNPq e à Fundação Araucária pela concessão da bolsa. Em especial ao Laboratório Multiusuário da UTFPR no Câmpus Londrina pelo apoio instrumental no desenvolvimento das análises físico-químicas. Agradecemos ao Instituto Federal do Paraná Londrina pela realização das análises dos minerais.

## REFERÊNCIAS

ARDÖ, Y. Flavour and texture in low-fat cheese. In: LAW, B. A. **Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk**. London, Blackie Academic & Professional, 1997. p. 208-218.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 17. ed. Washington, DC: AOAC, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do queijo**. Diário Oficial da União, 11 de março de 1996.

\_\_\_\_\_. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 54 de 12 de Novembro de 2012. **Regulamento técnico sobre informação nutricional complementar**. Diário Oficial da União, Seção 1, n. 219, Brasília, DF, 13 de novembro de 2012.

DE VUYST, L.; TSAKALIDOU, E. Streptococcus macedonicus, a multi-functional and promising species for dairy fermentations. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 476-485, 2008.

DRAKE, M. A.; SWANSON, B. G. Reduced and low fat cheese technology: a review. **Trends in Food Science and Technology**., v. 6, n. 11, p. 366-369, 1995.

FELÍCIO, T. L. et al. Cheese. What is its contribution to the sodium intake of Brazilians? **Appetite**, v. 66, p. 84-88, 2013.

FOX, P. F. et al. **Fundamentals of Cheese Science**. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers Inc., 587 p., 2000.

FURTADO, m. m. Quesos típicos de Latinoamérica. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda.: [s.n], 2005.

GOMES-SANTIS, V. B. et al. Minas Padrão cheese with low sodium and fat: a physicochemical and sensory evaluation. In: HENRIQUES, M. H. F.; PEREIRA, C.J.D. **Cheese production, consumption and health benefits**. New York: Nova Science Publishers. 2018, Chapter 4, p. 97-128.

GRIPON, J. C. et al. Role of proteolytic enzymes of *Streptococcus lactis*, *Penicillium roquefort* and *Penicillium caseicolum* during cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 60, n. 10, p. 1532-1538, 1977.

GUINNE, T. P. Salting and the Role of the Salt in Cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 57, p. 99-109, 2004.

HOIER, E. et al. The Production, Application and Action of Lactic Cheese Starter Cultures. In: LAW, B. A; TAMIME, A. Y (Ed). **Technology of cheesemaking**. 2 ed. Westmorland: Blackwell Publishing Ltd, 2010. p. 166-178.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

JOHNSON, M. E.; et al. Reduction of Sodium and Fat Levels in Natural and Processed Cheeses: Scientific and Technological Aspects. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, p. 252-268, 2009.

KATSUDA, M. S. et al. Queijo Minas Padrão com reduzido teor de sódio: efeito na composição e textura. In: Leite, D. B. G.; Frasson, A.C. **Desafios da Ciência e Tecnologia de Alimentos 3**. Curitiba: Atena, 2017a, p.157-167.

\_\_\_\_\_. Aceitação sensorial de queijo Minas Padrão com reduzido teor de sódio. In: LEITE, D. B. G.; FRASSON, A. C. **Desafios da Ciência e Tecnologia de Alimentos 3**. p. 8-16, Curitiba: Atena, 2017b.

\_\_\_\_\_. Aceitação sensorial de queijo Minas padrão com teor de sódio reduzido. In: OLIVEIRA, A. F. **Tópicos em ciência e tecnologia de alimentos: Resultados de pesquisas acadêmicas**. v.4, São Paulo: Editora Blucher, p. 313-334, 2018.

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2008.

VAKALERIS, D. G.; PRICE, W. C. Rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 42, n. 2, p. 264-276, 1959.

VILLANUEVA, N. D. M.; PETENATE, A. J.; DA SILVA, M. A. A. P. **Performance of the Hybrid Hedonic Scale As Compared to the Traditional Hedonic**, Self-adjusting and Ranking Scales. *Food Quality and Preference*, v. 16. Issue 8, p. 691-703, 2005.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F. Índices de proteólise em alguns queijos brasileiros. **Boletim do leite**, v. 51, p. 1-8 1983.

ZACARCHENCO, P. B.; VAN DENDER, A. G. F.; REGO, R. A. **Brasil dairy trends 2020**. Campinas: ITAL, 1. ed., 2017.

## **DETERMINAÇÃO DE VITAMINA C EM PREPARADOS SÓLIDOS PARA REFRESCO**

*Heloísa Gabriel Falcão  
Lúcia Felicidade Dias  
Ana Flávia de Oliveira*

### **1. INTRODUÇÃO**

As frutas e algumas hortaliças são as melhores fontes alimentares de vitamina C na alimentação diária e, pela praticidade, os sucos de frutas destacam-se, principalmente o suco de laranja. No entanto, devido ao ritmo de vida acelerado associado à facilidade no preparo e armazenamento, os sucos e refrescos industrializados têm sido preferidos pelo consumidor, porém, pouco se conhece sobre sua estabilidade (SILVA et al., 2005).

Embora o consumo de néctares e sucos prontos industrializados no Brasil tenha crescido ao longo dos últimos anos, sua ingestão é menor comparada ao refresco em pó. Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não Alcoólicas (ABIR), em 2017 o consumo per capita do mercado brasileiro de refrescos em pó foi de 19,2 litro/habitante/ano contra 5,3 litro/habitante/ano para néctares e sucos prontos (ABIR, 2017).

Os preparados em pó para a elaboração de refresco surgiram em 1960 e eram comercializados em embalagens pequenas e sem adição de açúcar. A partir daí, foram ocorrendo modificações nas formulações, como o emprego misto de açúcar e adoçante (CALEGUER; TOFFOLI; BENASSI, 2006) e são usados para



o preparo de bebidas não alcóolicas diluídos em água, simulando sabores de frutas (MÜLLER et al., 2018).

Os preparados sólidos para refresco (PSR) têm sido submetidos a alterações em sua formulação com adição de polpa, suco e gomas, apresentando hoje grande diversidade nos produtos comercializados. Um exemplo das modificações que ocorreram na formulação dos preparados sólidos para refresco é a adição de micronutrientes, como a vitamina C. Essa é a vitamina mais facilmente degradável (GOMES, 2006) e sua estabilidade depende de vários fatores como oxigênio, pH, enzimas, luz e catalisadores metálicos (ORDÓNEZ, 2005).

A estabilidade das vitaminas em alimentos restituídos ou fortificados é um dado muito importante. O objetivo deste trabalho foi determinar o teor de vitamina C em preparados sólidos para refresco, confrontando esse dado com o informado na rotulagem nutricional, bem como avaliar sua estabilidade ao longo de 12 horas sob refrigeração.

## 2. SUCOS ARTIFICIAIS

Segundo a legislação vigente, PSR é definido como o produto à base de suco ou extrato vegetal de sua origem, adicionado de açúcar e/ou edulcorante hipocalórico e não-calórico, destinado à elaboração de bebida para o consumo após sua diluição em água potável. A mesma legislação ressalta que se não houver matéria-prima de origem vegetal no produto, será denominado de preparado sólido para refresco artificial (BRASIL, 1998).

Trata-se de um alimento industrializado de preparo rápido e fácil, além de ser relativamente mais acessível quando comparado aos refrigerantes e néctares e sucos prontos industrializados, dessa forma faz-se mais presente na alimentação da população de baixa renda (INMETRO, 1999).

Para a produção dos PSR utiliza-se do processo de desidratação, no entanto, se este for realizado de maneira inadequada, pode causar sérios danos às características sensoriais e nutricionais do produto desidratado. A vitamina C é utilizada como índice de qualidade nutricional dos produtos derivados de frutas e vegetais, porque, comparada a outros nutrientes, é a vitamina mais sensível à degradação durante o processamento e estocagem (SILVA et al., 2005).

## 2.1 VITAMINA C

O nome vitamina C é utilizado para denominar genericamente todos os compostos que apresentam quantitativamente a atividade biológica do ácido ascórbico, como ácido ascórbico (forma reduzida), ácido deidroascórbico (forma oxidada), ascorbato e vitamina antiescorbútica (SILVA; COZZOLINO, 2007; RIOS; PENTEADO, 2003). Contudo, o principal composto natural que apresenta esta atividade é o ácido L-ascórbico (RIOS; PENTEADO, 2003).

O ácido ascórbico é um material cristalino branco, com peso molecular de 176,13 g/mol e fórmula molecular  $C_6H_8O_6$ , hidrossolúvel, com ponto de fusão de 192 °C e facilmente oxidável pelo calor (RIOS; PENTEADO, 2003), sendo que sua oxidação pode ser acelerada pela presença do cobre, pelo pH alcalino (OLSZEWER, 1987; RIOS; PENTEADO, 2003) e pela presença de enzimas e luz (ROMÃO, 2004). Gomes (2006) e Ordóñez (2005) também relatam que os fatores capazes de degradar o ácido ascórbico são o meio alcalino, o calor, o oxigênio, a ação da luz, os metais (Fe, Cu, Zn) e a enzima ácido ascórbico oxidase.

Os cristais secos do ácido ascórbico são estáveis quando expostos à luz do dia, ao ar e à temperatura ambiente por longo período. Quando em solução aquosa com pH menor que 7, o ácido ascórbico não se oxida na ausência do ar, a não ser que estejam presentes na solução substâncias catalisadoras. Caso estejam presentes, ou na presença de ar, a vitamina C é facilmente oxidada reversivelmente a ácido deidroascórbico (ROMÃO, 2004; ORDÓNEZ, 2005). Esse, por sua vez, é razoavelmente estável em pH menor que 4, sendo que, acima desse valor, o ácido deidroascórbico torna-se inativo (ROMÃO, 2004). No entanto, Ordóñez (2005) relata que esse composto possui maior estabilidade entre o pH 2,5 e 5,5 mantendo a atividade vitamínica.

De acordo com Ordóñez (2005), após a vitamina C ser oxidada a ácido deidroascórbico, posteriormente, na presença de água, passa a ácido 2,3-dicetogulônico, com conseqüente perda da atividade vitamínica. Essa transformação pode variar de acordo com a condições do meio, sendo os fatores de maior influência o pH, a pressão parcial de oxigênio, a temperatura e a presença de catalisadores, como  $Cu^{2+}$  e  $Fe^{3+}$ .

A estabilidade do ácido ascórbico também aumenta à medida que a temperatura cai, chegando ao máximo em temperaturas menores que -18 °C. Segundo Gomes (2006), a vitamina C é, portanto, considerada a mais facilmente degradável de todas as vitaminas.

A oxidação química da vitamina C pode ser diminuída se, durante o processamento, for realizada a passagem de um gás inerte ou uma desaeração. A vitamina é muito estável em alimentos embalados na ausência do oxigênio e estocados à baixa temperatura ao abrigo da luz (RIOS; PENTEADO, 2003). As substâncias que são adicionadas aos sucos ou bebidas como fonte de SO<sub>2</sub>, como os sulfitos e metassulfitos, exercem efeito estabilizante sobre a vitamina C. A adição de antioxidantes como butilhidroxinizol (BHA), butilhidrozitolueno (BHT) e propilgalato também ajudam a protegê-la (RIOS; PENTEADO, 2003).

## 2.2 ENRIQUECIMENTO DE VITAMINA C PELA INDÚSTRIA

O ácido ascórbico é utilizado como aditivo em alimentos por várias finalidades. Ele apresenta ação sinérgica com outros antioxidantes, como butil-hidroxitolueno, butil-hidroxianisol e tocoferóis, além de exercer ação quelante, ligando-se a substâncias que funcionam como pró-oxidantes, os metais pesados e, proporcionando maior vida útil a óleos e gorduras. A legislação permite o uso do ácido ascórbico em diversos produtos como antioxidante, podendo ser adicionado em quantidade suficiente para que ele possa realizar essa função, além disso é utilizado para: melhorar a massa destinada à produção de pães; para evitar o escurecimento de frutas e hortaliças durante o armazenamento e como estabilizante de cor na carne, pois atua na fixação da cor em carnes curadas (ROMÃO 2004).

## 2.3 FUNÇÕES DA VITAMINA C NO ORGANISMO HUMANO

A vitamina C foi conhecida por muito tempo como um nutriente essencial, cujo consumo prevenia o escorbuto, uma doença causada pela falta da ingestão desse mineral (SILVA; COZZOLINO, 2007). Essa falta se dá porque sob condições fisiológicas, o ácido ascórbico, que está presente nos tecidos vegetais em sua forma reduzida (GOMES, 2006), é reversivelmente oxidado a ácido dehidroascórbico, o qual, posteriormente, é hidrolisado irreversivelmente para a vitamina inativa, ácido dicetogulônico (GOMES, 1987; RIOS; PENTEADO, 2003).

Dentre suas múltiplas funções, ela tem papel importante, o qual cresceu ao longo do tempo pelas descobertas de seu alto poder antioxidante sobre os radicais livres (SILVA; COZZOLINO, 2007), sendo que esta função se deve

ao grupo diol (-COH-COH-), o qual oxida-se e forma o ácido desidroascórbico (ROCHA et al., 2008). Nesse sentido, a vitamina tem a função de reciclar a vitamina E além de atuar na proteção de doenças coronarianas. Estudos relacionam a vitamina com um possível papel de proteção no desenvolvimento de tumores em seres humanos (RIOS; PENTEADOS, 2003).

O ácido ascórbico é essencial para a formação do tecido conjuntivo e do colágeno, duas substâncias básicas intercelulares importantes para a sustentação de todos os órgãos e tecidos. Disso decorrem as lesões causadas pela avitaminose C. Com a falta da vitamina C os vasos rompem-se facilmente provocando hematomas e petéquias. O colágeno é importante porque une as células e sustenta o tecido conjuntivo, atuando no crescimento, em feridas e em tecidos de recém-nascidos (GOMES, 2006).

A vitamina C também desempenha um importante papel na respiração celular, na atividade das enzimas, na estimulação dos centros formadores dos glóbulos de sangue, na ativação da fagocitose, nos mecanismos da coagulação sanguínea, na defesa do organismo contra intoxicações e infecções, no equilíbrio dos hormônios sexuais e no aumento da resistência ao calor e ao frio (GOMES, 2006). A vitamina também exerce um importante papel na absorção do ferro e no metabolismo do ácido fólico (SILVA; COZZOLLINO, 2007).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Analisaram-se 10 amostras de preparados sólidos para refresco (denominação A a J, Tabela 1) comercializados em nível nacional, adquiridas em supermercados de Londrina-PR e região. Foram selecionados os seguintes sabores dos sucos artificiais para a realização das análises: laranja, abacaxi, pêssego e laranja com mamão, devido à sua coloração que variava do laranja para o amarelo, pois a análise realizada exige cores claras das amostras, a fim de que haja melhor visualização do ponto de viragem do método utilizado.

Tabela 1 – Denominação utilizada no trabalho e sabor de cada suco analisado

<b>Denominação da marca avaliada</b>	<b>Sabor</b>
A	Abacaxi
B	Laranja
C	Laranja
D	Laranja
E	Pêssego
F	Laranja
G	Laranja
H	Laranja
I	Laranja e Mamão
J	Laranja

Fonte: Autoria Própria.

Ressalta-se que, dentro de uma mesma marca, a vitamina C é constante para todos os sabores, segundo seus respectivos rótulos. Não foi possível manter o mesmo sabor para a realização das análises devido à sua indisponibilidade nos pontos de venda.

Todos os sucos foram preparados conforme orientação de seus rótulos, com água potável à temperatura ambiente e com adição de açúcar quando solicitado, simulando a situação de consumo habitual.

### 3.1 DETERMINAÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO

Determinou-se a vitamina C por meio do método de dosagem iodométrica, com iodato de potássio (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008) nos tempos: 0, 3, 6, 9 e 12 horas. Os sucos foram mantidos sob refrigeração entre 4 e 6 °C, em jarras plásticas tampadas, com o objetivo de simular o consumo caseiro dos sucos artificiais. No momento das análises dos sucos, foram retirados aproximadamente 40 mL de cada amostra de suco armazenado, para titulação em triplicata.

Todos os reagentes utilizados para a realização do trabalho foram de grau analítico (PA) e utilizou-se água deionizada no preparo de todas as soluções. As soluções utilizadas nas análises foram: Solução de iodato de potássio 0,01

N, partindo de uma solução padrão 0,1 N; Solução de iodeto de potássio a 5%, recentemente preparada; Solução de ácido sulfúrico 2 N; Solução de goma de amido a 1% conservada sob refrigeração entre os intervalos de análise, por no máximo sete dias, a solução foi gelatinizada para evitar a sedimentação do amido; Solução de ácido sulfossalicílico a 4%.

Finalizada a titulação, o valor médio gasto de iodato de potássio 0,01 N foi multiplicado por 0,88 (pois 1 ml da solução de iodato de potássio a 0,01 N gasto corresponde a 0,88 mg de ácido ascórbico) e por 20. Dessa forma, obteve-se a quantidade de vitamina C presente em 100 ml de suco analisado.

### 3.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores obtidos em triplicata foram transcritos para uma planilha do Excel® para apresentação descritiva dos resultados em gráficos e tabelas. Para verificação da diferença entre as médias do ascorbato nos diferentes tempos analisados, utilizou-se da Análise de Variância (ANOVA), com o teste *pos hoc* de Tukey, com auxílio do programa Bioestat®. O nível de significância adotado foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta os teores de vitamina C para cada amostra no tempo zero ( $t_0$ ) comparado com os valores informados em seus respectivos rótulos. Quase todas as amostras apresentaram quantidade de ácido ascórbico superior àquela indicada no rótulo do produto, com exceção da amostra C, que apresentou aproximadamente 29% a menos.

Tabela 2 – Teor de vitamina C obtido no tempo zero (t0), teor de vitamina C informado na rotulagem de cada amostra e a adequação entre esses valores

<b>Marca</b>	<b>Teor de Vitamina C<sup>1</sup> no t0 (mg/L)</b>	<b>Teor informado na rotulagem (mg/L)</b>	<b>Adequação<sup>2</sup> (%)</b>
A	186,6	180,0	103,6
B	110,9	60,0	184,8
C	64,0	90,0	71,1
D	59,8	34,0	176,0
E	111,5	75,0	148,6
F	67,5	34,0	198,4
G	61,6	34,0	181,2
H	71,0	33,5	211,9
I	158,4	115,0	137,7
J	59,8	34,0	176,0

<sup>1</sup>Valor médio de três repetições.

<sup>2</sup>Adequação entre o valor informado da rotulagem e o valor obtido de vitamina C.

Fonte: Autoria própria.

Granato, Piekarski e Masson (2012) avaliaram o conteúdo de ácido ascórbico em bebidas e refrescos em pó, comparando os valores encontrados com os declarados no rótulo do produto. Nas 60 amostras avaliadas, em 76,7% não foram encontrados valores similares aos declarados nas embalagens. Além disso, os teores de vitamina C encontrados no estudo foram de 12% a 90% menores do que os valores declarados pelos fabricantes.

A RDC 360 (BRASIL, 2003), que apresenta o regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados no Brasil, permite uma tolerância de 20% com relação aos valores de nutrientes declarados no rótulo. No entanto, observa-se que apenas a marca A está dentro dessa tolerância.

O descumprimento aos termos da RDC 360 (BRASIL, 2003) constitui uma infração sanitária sujeita às penalidades da Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, que configura infrações à legislação sanitária federal, estabelece as sanções respectivas e dá outras providências. Essas infrações podem variar desde advertências e multas até o cancelamento da autorização de funcionamento da empresa. No entanto, para aqueles produtos que contenham micronutrientes em quantidade superior à tolerância estabelecida, a empresa responsável deve manter à

disposição os estudos que justifiquem tal variação para evitar tais penalidades (BRASIL, 2003).

Outro ponto importante que deve ser considerado quando se trata da fidedignidade das informações dos rótulos de alimentos é o direito que o consumidor possui de conhecer o que está ingerindo e, de acordo com o artigo 39 da Lei nº 8.078 de 11 de setembro de 1990, que estabelece normas de proteção e defesa do consumidor, é vedado ao fornecedor de produtos ou serviços, dentre outras práticas abusivas “colocar, no mercado de consumo, qualquer produto ou serviço em desacordo com as normas expedidas pelos órgãos oficiais competentes [...]” (BRASIL, 1990).

Em relação à ingestão de quantidades em excesso de vitamina C contida nas amostras, de acordo com Silva e Cozzolino (2007), um grande número de indivíduos tomam habitualmente de 1 a 2 g/dia desta vitamina e as doses de 1 g têm sido consumidas sem efeitos adversos conhecidos; mas doses de 2 g ou mais podem causar gastroenterite transiente ou diarreia osmótica em algumas pessoas, além de promover mais formação de oxalato, favorecendo o aparecimento de litíase renal em indivíduos propensos. Doses de 0,5 g/dia de vitamina C podem afetar a biodisponibilidade da vitamina B12 contida nos alimentos e aquelas pessoas que tomam 1 g ou mais de vitamina C podem desenvolver deficiência em B12 (SILVA; COZZOLINO, 2007).

Portanto, esta quantidade em excesso contida nas amostras, não representa um risco à saúde dos consumidores, pois se um indivíduo consumir 1 L de suco durante o dia, a maior ingestão possível diante das amostras analisadas, seria de aproximadamente 0,2 g. A ingestão somente desses sucos analisados não deve causar nenhum risco à saúde dos consumidores, mas é de extrema importância para a segurança e garantia dos direitos do consumidor, o cumprimento da legislação vigente.

A Tabela 3 apresenta o teor de vitamina C nas amostras de refresco analisadas logo após a diluição dos respectivos preparados sólidos (t0) e sua adequação para a ingestão diária recomendada (IDR) de vitamina C (45 mg) para adultos (BRASIL, 2005). As marcas A, I, B e E apresentaram maior teor de vitamina C comparado aos demais refrescos.



Tabela 3 – Teor médio de vitamina C dosado no T0 e quantidade de vitamina C fornecida em relação à Ingestão Diária Recomendada (IDR) para indivíduos adultos saudáveis

<b>Amostra</b>	<b>Teor de Vit. C no T0 (mg/100 mL)</b>	<b>Quantidade (%) de Vit. C fornecida em relação à IDR*</b>
A	18,7	41,6
B	11,1	24,7
C	6,4	14,2
D	6,0	13,3
E	11,2	24,9
F	6,8	15,1
G	6,2	13,8
H	7,1	15,8
I	15,8	35,1
J	6,0	13,3

\*Ingestão Diária Recomendada para adultos: 45 mg por dia (BRASIL, 2005).

Fonte: Autoria própria.

Para que um produto tenha a chamada nutricional, ou seja, o *claim* “FONTE”, é necessário fornecer, no mínimo, 15% da IDR de referência para produtos líquidos já prontos para o consumo (BRASIL, 2012). Dessa forma, o suco deve apresentar, no mínimo, 6,75 mg de vitamina C em 100 mL para ser considerado fonte dessa vitamina. As amostras D, G e H não atingiram este valor.

A presença de vitamina C em preparados sólidos para refresco é muito importante para os consumidores, uma vez que esse produto entra na dieta do brasileiro em substituição ao suco de fruta *in natura*, devendo fornecer os micronutrientes necessários para o bom desenvolvimento do organismo. Atualmente, a indústria alimentícia tem usado das adições de micronutrientes para fazer *marketing*, uma vez que o consumidor brasileiro tem exigido cada vez mais qualidade nutricional dos produtos que consome. No entanto, essa adição pode ter um papel maior na alimentação de indivíduos que não ingerem outras fontes alimentares de vitamina C, tais como frutas e verduras.

A Tabela 4 apresenta os valores médios de vitamina C obtidos para cada amostra nos tempos 0, 3, 6, 9 e 12 horas de armazenagem sob refrigeração. Observa-se que, de maneira geral, houve pouca perda de vitamina C ao longo do tempo de refrigeração. A amostra J foi a que teve maior perda, atingindo um

valor de 20%, seguida das amostras G e B com 14,5% e 11,8%, respectivamente. A amostra C, embora com uma perda de quase 10% em relação ao teor inicial, não apresentou diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os tempos estudados.

Tabela 4 – Determinação do ácido ascórbico (mg/100 mL) nos sucos artificiais de acordo os tempos estudados<sup>1</sup>

Amostra	Tempo 0	Tempo 3	Tempo 6	Tempo 9	Tempo 12	Perda <sup>2</sup> (%)
A	18,7±0,18 <sup>a</sup>	18,5±0,27 <sup>a</sup>	18,5±0,56 <sup>a</sup>	18,3±0,71 <sup>a</sup>	18,2±0,10 <sup>a</sup>	2,7
B	11,0±0,00 <sup>a</sup>	10,4±0,20 <sup>a</sup>	10,4±0,18 <sup>a</sup>	9,7±0,44 <sup>a</sup>	9,7±0,27 <sup>a</sup>	11,8
C	6,4±0,20 <sup>a</sup>	6,4±0,20 <sup>a</sup>	6,0±0,10 <sup>a</sup>	5,8±0,37 <sup>a</sup>	5,8±0,37 <sup>a</sup>	9,4
D	6,0±0,31 <sup>a</sup>	6,0±0,31 <sup>a</sup>	5,9±0,57 <sup>a</sup>	5,9±0,53 <sup>a</sup>	5,8±0,44 <sup>a</sup>	3,3
E	11,2±1,02 <sup>a</sup>	10,9±1,02 <sup>a</sup>	10,7±0,31 <sup>a</sup>	10,7±0,79 <sup>a</sup>	10,7±0,20 <sup>a</sup>	4,5
F	6,8±0,51 <sup>a</sup>	6,8±0,51 <sup>a</sup>	6,8±0,51 <sup>a</sup>	6,6±0,44 <sup>a</sup>	6,5±0,51 <sup>a</sup>	4,4
G	6,2±0,00 <sup>a</sup>	6,0±0,18 <sup>a</sup>	5,9±0,10 <sup>a</sup>	5,9±0,20 <sup>a</sup>	5,3±0,10 <sup>b</sup>	14,5
H	7,1±0,41 <sup>a</sup>	7,1±0,10 <sup>a</sup>	7,0±0,00 <sup>a</sup>	7,0±0,00 <sup>a</sup>	7,0±0,00 <sup>a</sup>	1,4
I	15,8±0,00 <sup>a</sup>	15,8±0,00 <sup>a</sup>	15,8±0,00 <sup>a</sup>	15,8±0,00 <sup>a</sup>	15,8±0,00 <sup>a</sup>	0
J	6,0±0,18 <sup>a</sup>	5,5±0,31 <sup>b</sup>	5,2 ±0,20 <sup>b</sup>	5,0±0,51 <sup>b</sup>	4,8±0,20 <sup>b</sup>	20,0

<sup>1</sup> Valores médios e desvio-padrão de três repetições.

<sup>2</sup> Comparação em percentual da perda entre os tempos 0 e após 12 horas.

Médias seguidas pelas mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

Fonte: Autoria própria.

Em trabalho realizado por Silva (2005) que analisou dez marcas de preparado sólido para refresco pelo método de Tillmans adaptado por Benassi e Antunes (1988) com o objetivo de avaliar a estabilidade da vitamina C, foram obtidos valores de vitamina C na faixa de 0,67-32,0 mg por 100 mL de suco no t0, diferente da faixa encontrada neste trabalho que foi de 5,98-18,66 mg por 100 mL de suco. Essa diferença pode ser atribuída pelo fato das marcas analisadas serem diferentes.

Silva (2005) relata em seu trabalho que suas amostras analisadas não podem ser consideradas fonte de vitamina C, apesar de todas, com exceção de uma, ter a adição de vitamina C declarada no rótulo. Já, a maioria das amostras analisadas na presente pesquisa, como já mencionadas anteriormente, podem ser consideradas fonte de vitamina C de acordo com a legislação vigente.

No trabalho realizado por Lima et al. (2007), verificaram a degradação da vitamina C pelo método de Tillmans em sucos industrializados de caju com alto teor de polpa, frutos de caju *in natura* e cajuína, e observaram que os sucos industrializados até o sétimo dia de armazenamento sob refrigeração, apenas uma amostra resultou na perda de 24% de vitamina C e as demais (8 amostras) tiveram uma perda média de quase 20%. Mas, vale ressaltar que mesmo havendo decréscimo nos teores de vitamina C, as quantidades se encontravam superiores ao mínimo estabelecido para esse produto (80 mg/100 mL), sendo, portanto, a recomendação na rotulagem sobre o tempo de armazenamento após aberto de no máximo oito dias, conveniente para esse produto.

Maia, Monteiro e Guimarães (2001) avaliaram a estabilidade do suco de caju com alto teor de polpa mantido em temperatura ambiente (28 °C) em garrafas de vidro transparente por 360 dias de armazenamento, com o teor de ácido ascórbico determinado pelo método colorimétrico (2,6-diclorofenolindofenol) descrito por Pearson, obteve-se perda de 2,8% de vitamina C após 30 dias de armazenagem nos sucos tratados com injeção de nitrogênio e 300 ppm de SO<sub>2</sub> e, para aqueles sucos tratados somente com injeção de nitrogênio, houve uma perda de 4,4%. Os autores apontam para a importância dos tratamentos utilizados para a conservação da vitamina C nos sucos de caju com alto teor de polpa.

O suco proveniente dos frutos *in natura* no trabalho realizado por Lima et al. (2007) destacou-se pelo alto teor de vitamina C no t<sub>0</sub>, com 244 mg/100 mL de suco, mas após 11 dias de armazenamento o mesmo teve uma perda considerável, que é justificada pela ausência de conservantes. Essa perda considerável de vitamina C citada pelos pesquisadores, deve-se à forma química da vitamina C encontrada naturalmente nos tecidos vegetais, que é a L-ácido ascórbico, sendo ela mais instável que a forma sintética utilizada nas amostras analisadas na pesquisa.

Esses trabalhos exemplificam os diversos comportamentos da vitamina C dependendo da matriz em que ela se encontra, portanto, diversos fatores são responsáveis pela sua maior estabilidade ou não. Esses podem ser oriundos de sua natureza ou dos artificios que a indústria alimentícia usa para sua maior conservação.

## 5. CONCLUSÃO

Quase todas as amostras analisadas apresentaram teor de vitamina C superior ao indicado no rótulo, com exceção de uma. Houve pouca perda de vitamina

C ao longo de 12 h de estocagem sob refrigeração, demonstrando que o consumidor não terá perdas nutricionais importantes caso armazene esses sucos por 12 horas em geladeira para seu posterior consumo.

Seria interessante que o fabricante disponibilizasse nos ingredientes dos rótulos a forma química da vitamina C adicionada. Esse dado poderia orientar a atividade vitamínica, bem como a estabilidade dessa vitamina no suco.

## REFERÊNCIAS

ABIR. Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não Alcoólicas. **Dados**. 2017. Disponível em: <https://abir.org.br/o-setor/dados/>. Acesso em: 30 jun. 2020.

BENASSI, M. T.; ANTUNES, A. J. A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 31, n. 4, p. 507-513, 1988.

BRASIL. Lei nº 8.078 de 11 de setembro de 1990. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l8078.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8078.htm). Acesso em: 30 jun. 2020.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 544, de 16 de novembro de 1998. Regulamento técnico para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para preparado sólido para refresco. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1150> Acesso: em 30 jun. 2020.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. RDC nº 360 de 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0360\\_23\\_12\\_2003.pdf/5d4fc713-9c66-4512-b3c1-afee57e7d9bc](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0360_23_12_2003.pdf/5d4fc713-9c66-4512-b3c1-afee57e7d9bc). Acesso em: 30 jun. 2020.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico sobre Ingestão Diária Recomendada (IDR) para proteína, vitaminas e

minerais. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC\\_269\\_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_269_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3) Acesso em: 30 jun. 2020.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/%2033880/2568070/rdc0054\\_12\\_11\\_2012.pdf/c5ac23fd-974e-4f2c-9fbc-48f7e0a31864](http://portal.anvisa.gov.br/documents/%2033880/2568070/rdc0054_12_11_2012.pdf/c5ac23fd-974e-4f2c-9fbc-48f7e0a31864) Acesso em: 30 jun. 2020.

CALEGUER, V. F.; TOFFOLI, E. C.; BENASSI, M. T. Avaliação da aceitação de preparados sólidos comerciais para refresco sabor laranja e correlação com parâmetros físico-químicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n. 4, p. 587-598, 2006.

GOMES, E. R. S. **Concentração de suco de acerola (*Malpighia spp.*) por ultrafiltração e osmose inversa**. 2006. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

GRANATO, D.; PIEKARSKI, F. V.W.; MASSON, M. L. Assessing the ascorbic acid contents in beverages and powdered juices: comparison between the experimental data and the values displayed on the product label. **Rev. Inst. Adolfo Lutz** (Impr.), São Paulo, v. 71, n. 2, 2012.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia. **Preparado sólido artificial para refresco** (pó para refresco) 1999. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/refresco.asp>. Acesso em: 30 jun. 2020.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Vitaminas. In: \_\_\_\_\_. **Métodos Físico-químicos para análise de alimentos**. 1 ed. Digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 666.

LIMA, E. S. et al. Redução de vitamina C em suco de caju (*anacardium occidentale L.*) industrializado e cajuína. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1143-1146, 2007.

MAIA, G. A.; MONTERO, J. C. S.; GUIMARÃES, A. C. L. Estudo da estabilidade físico-química e química do suco de caju com alto teor de polpa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 43-46, 2001.

MÜLLER, A. J. et al. Avaliação Físico-Química de Preparados Sólidos para Refresco de Diferentes Marcas e Sabores. **Rev. Virtual Quim**, v. 10, n.4, p. 798-810, 2018.

OLSZEWER, Efrain. Medicina ortomolecular. In: \_\_\_\_\_. **Super Saúde**. São Paulo: Ágora, 1987. p. 19-84.

ORDÓNEZ, Juan A. Vitaminas, minerais e enzimas. In: \_\_\_\_\_. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos**. v.1. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 81-100.

RIOS, M. D. G.; PENTEADO, M. V. C. Vitamina C. In: PENTEADO, M. V. C. **Vitaminas: Aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. Barueri, SP: Manole, 2003. p. 201- 221.

ROMÃO, R. B. M. Vitamina C. In: \_\_\_\_\_. **Desenvolvimento e vida-de-prateleira de bala dura enriquecida com ferro e vitamina C**. 2004. 74f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2004.

SILVA, P. T. et al. Sucos de laranja industrializados e preparados sólidos para refrescos: estabilidade química e físico-química. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.25, n.3, Jul./Set. 2005.

SILVA, V. L.; COZZOLINO, S. M. F. Vitamina C (ácido ascórbico). In: COZZOLINO, Silvia, M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 2 ed. Barueri, SP: Manole, 2007. p. 305-324.



# Capítulo 19

## **ESTUDO PARA ESTABELEECER OS PARÂMETROS DE RELAÇÃO ENTRE O TEOR DE CINZAS E A COLORIMETRIA NA FARINHA DE TRIGO**

*Eloisi Galindo Ferreira  
Paulo de Tarso Carvalho  
Mayka Reghiany Pedrão  
Lúcia Felicidade Dias*

### **1. INTRODUÇÃO**

A cultura de cereais surgiu há 11 mil anos A.C., no Oriente Médio e, posteriormente, na Europa. Desde então, o trigo tem se destacado pela sua importância para a economia global, sendo o trigo um dos três cereais mais cultivados no mundo, juntamente com o milho e o arroz (CONAB, 2017).

Este cereal é de grande importância para a economia brasileira, devido ao elevado consumo de seus derivados, principalmente pão, macarrão e biscoitos. O trigo (matéria-prima) possui importante papel na economia, a farinha é muito aplicada na indústria alimentícia, por isso deve-se considerar a variedade de grão utilizado, e também condições de clima e solo de cada região para seu cultivo (SILVA, 2017).

A qualidade da farinha de trigo pode ser avaliada através de testes físicos, químicos e reológicos como: umidade, cor, material mineral (teor de cinzas), lipídeos, proteínas, alveográfica, *faliing number* e farinografia (PIZZINATTO; MAGNO; CAMPAGNOLLI, 1996). O teor de cinzas determina o resíduo



inorgânico na farinha e este teor determinará a classificação da farinha de trigo junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) conforme a Instrução Normativa 08/2005 (BRASIL, 2005), sendo ela definida como Tipo 1 (teor máximo de cinzas 0,80%), Tipo 2 (teor máximo de cinzas 1,40%) e Integral (teor máximo de cinzas até 2,50%). O teor de cinzas é fortemente influenciado pela extração da farinha de trigo, aquela que tem maior grau de extração e em consequência, maior quantidade de farelo incorporado apresentará teor de cinza mais alto. A moagem do trigo também influenciará na cor da farinha. As farinhas que apresentam maior grau de extração apresentam cor mais escura, maior teor de cinzas (GERMANI, 2007).

O presente trabalho teve como princípio avaliar a correlação entre os resultados de análises de cinzas e cor, com intuito de desenvolver um modelo matemático, assim sendo solicitado pela indústria moageira Moinho Globo Alimentos, para otimização do tempo da análise de cinzas.

## 2. FARINHA DE TRIGO

O trigo é uma gramínea do gênero *Triticum*, que é representado por cerca de 30 tipos geneticamente diferenciados (ABITRIGO, 2014). Entre as numerosas espécies cultivadas, o *Triticum durum* (trigo duro) e o *Triticum vulgare* (trigo comum) são os mais expressivos (ALDREAD; MAGAN, 2014). O trigo ocupa o primeiro lugar em volume de produção mundial, obtido por meio de moagem e seu produto final são designados, simplesmente, por “farinha de trigo” (COSTA et al., 2018).

Este cereal é de grande importância para a economia brasileira, devido ao elevado consumo de seus derivados, principalmente pão, macarrão e biscoitos. O trigo (matéria-prima) possui importante papel na economia, a farinha é muito aplicada na indústria alimentícia, por isso deve-se considerar a variedade de grão utilizado, e também condições de clima e solo de cada região para seu cultivo (SILVA, 2017).

A produção brasileira em 2019 alcançou 5,5 milhões de toneladas, com crescimento de 1,1% em relação à safra de 2018, conforme dados da Associação Brasileira da Indústria do Trigo (ABITRIGO, 2019). De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), as informações de 2019 indicam melhoria da produtividade, considerando que a área plantada foi de 1,993 milhão de hectares 2,4% menor em relação ao ano anterior. A produtividade projetada é de

2.753 quilos por hectare, 3,6% acima do ano anterior. O Paraná obteve uma safra de 2,7 milhões de toneladas, com queda de 3,1% sobre o ano anterior. No Rio Grande do Sul, a produção subiu 3,4%, chegando a 1,936 milhão de toneladas. Com a diversificação dos fornecedores, incluindo a Argentina, os produtores brasileiros e os de outros países, nossa indústria moageira conta com quantidade e variedades adequadas de trigo para atender ao mercado nacional em volume e tipos de farinhas (ABITRIGO, 2019).

A classificação comercial do trigo brasileiro entrou em vigor na Instrução Normativa nº 38, de 30/11/2010, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Esta procurou estabelecer uma relação entre as características do grão de trigo e a qualidade tecnológica para os principais usos da farinha de trigo. Assim sendo, temos: pães industriais, massas alimentícias secas e biscoitos tipo cracker (classes de trigo Melhorador e Pão); uso doméstico e pães caseiros (classes de trigo Doméstico e Pão); e biscoitos semidoces, duros e bolos (classes de trigo Básico e Outros Usos). Na Classe de trigo “Outros Usos” também estão incluídos produtos que não se enquadram nos usos tradicionais, como produção de ração animal e utilização industrial (BRASIL, 2010; CONAB, 2017).

O principal produto obtido do beneficiamento do trigo é a farinha, sendo obtida pelo processo de moagem. Esta deve ser oriunda do endosperma de trigo limpo e sadio, seu glúten deve possuir boas características viscoelásticas, apresentar baixo teor de umidade, de cinzas e garantir atividade enzimática adequada (BRASIL, 1978).

A composição da farinha abrange proteínas, amido, lipídeos e cinzas. O total de proteínas no trigo corresponde entre 8 a 21% do grão, distribuídas entre globulinas e albuminas no total de 15%, gliadina e glutenina no total de 85%. O amido é formado por amilose e amilopectina, que quando adicionado à água aquecida acima de 60 °C sofre um processo de gelatinização. Os lipídeos variam de 2 a 3,5% dependendo da extração e estão presentes as enzimas  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase e Glucoamilase (SILVA, 2017).

A farinha de trigo possui sua classificação segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) conforme a Instrução Normativa 08/2005, cujo teor de cinzas é fortemente influenciado pela extração da farinha de trigo, aquela que tem maior grau de extração e em consequência maior quantidade de farelo incorporado apresentará teor de cinza mais alto. A moagem do trigo também influenciará na cor da farinha. As farinhas que apresentam maior grau de extração apresentam cor mais escura, maior teor de cinzas (GERMANI, 2007).

De acordo com Instrução Normativa Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) nº 08 de 02 de junho de 2005 que estabelece o regulamento técnico da farinha, se define farinha de trigo como o produto elaborado com grãos de trigo (*Triticum aestivum L.*) ou outras espécies de trigo do gênero *Triticum* ou combinações por meio de trituração ou moagem e outras tecnologias ou processos. Conforme essa Instrução Normativa, a farinha de trigo apresenta a seguinte classificação (Tabela 1).

Tabela 1 – Classificação da farinha de trigo

<b>Tipos</b>	<b>Teor de Cinzas* (máximo)</b>	<b>Granulometria</b>	<b>Teor de Proteína* (mínimo)</b>	<b>Acidez Graxa (mg de KOH/100 g do produto) (máximo)</b>	<b>Umidade (máximo)</b>
Tipo 1	0,8%	95% do produto deve passar pela peneira com abertura de malha de 250 µm.	7,5%	100	15,0%
Tipo 2	1,4%	95% do produto deve passar pela peneira com abertura de malha de 250 µm.	8,0%	100	15,0%
Integral	2,5%	-	8,0%	100	15,0%

\*Os teores de cinzas e de proteína deverão ser expressos em base seca.

Fonte: Brasil (2005).

O teor de cinzas serve como um indicador do grau de separação do endosperma e do farelo durante o processo de moagem uma vez que aleurona e o farelo possuem maiores teores de minerais do que o endosperma (OLIVEIRA, 2013).

Elevados teores de cinzas indicam uma alta extração da farinha com o farelo, sendo esse de fato indesejável, pois irá causar alterações na cor, tornando-a mais escura (BALHMANN; LANZARINI, 2013). As farinhas com maior grau de extração apresentam maior teor de cinzas, fibras e cor mais escura, sendo que o consumidor as classifica como produto de qualidade tecnológica inferior às farinhas mais claras. O conteúdo de minerais ou cinzas nos grãos de trigo oscila

de acordo com a variedade, condições de plantio e aplicação de fertilizantes no solo, no caso do trigo (OLIVEIRA, 2013).

A cor da farinha de trigo deriva principalmente do seu teor de carotenoides, de proteínas, de fibras e da presença de impurezas na moagem (NORETO; PARO; FERREIRA, 2009). A cor pode ser controlada de diferentes maneiras, entre os padrões de calorímetros. Alguns outros fatores são considerados intrínsecos ao tipo de trigo e se transmite à farinha como o teor de pigmentos. Um fator que tem influência na coloração da farinha é o seu teor de farelo. A cor da farinha de trigo é afetada por muitas variáveis. As mais importantes são: genótipo de trigo, processo de moagem (grau de extração, condicionamento do trigo antes da moagem, tamanho de partículas e teor de cinzas), estocagem da farinha. As condições climáticas no ano da colheita e o local do plantio também podem afetar a cor da farinha (OLIVEIRA, 2013). Segundo Ortolan (2006), o genótipo exerce forte influência nas concentrações de minerais e pigmentos dos grãos, o que resulta em mudanças, especialmente na cor dos produtos fabricados a partir deste cereal.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Para este trabalho foram utilizadas 292 amostras de farinhas Tipo 1 e Tipo 2, sendo essas cedidas pela indústria moageira Moinho Globo S.A, localizada na cidade de Sertanópolis-Paraná. As análises foram realizadas na própria empresa, durante o ano de 2018/2019, em que a origem do trigo processado neste período foi do estado do Paraná.

#### 3.1 DETERMINAÇÃO DE CINZAS

Conforme o método da *International Association for Cereal Science and Technology* (ICC), a determinação de cinzas foi feita em triplicata.

Os resultados foram expressos em percentual de cinzas na base seca utilizando as equações:

$$\text{CINZAS (\% base úmida)} = \frac{(P1 + P2 - P3) \times 100}{P2} \quad \text{Equação 1: base úmida}$$

$$\text{CINZAS (\% base seca)} = \frac{BU \times 100}{(100-U)} \quad \text{Equação 2: base seca}$$

Em que:

P1 - Peso do cadinho vazio (g)

P2 - Peso da amostra (g)

P3 - Peso do cadinho + resíduo após incineração (g)

U - % Umidade da amostra

BU - % de cinzas base úmida

### 3.2 COR

A medida de cor da farinha foi realizada com um colorímetro da marca Konica Minolta. Essa faixa então quantifica os dados espectrais em um espaço de  $L^*a^*b^*$  apresentando informações em termos numéricos. O modelo utilizado foi o “CR-410” com iluminante C D65, por meio dos parâmetros coloração, brilho e saturação de cores, em que foi colocada uma porção de 20 g de farinha em um recipiente de formato circular, com diâmetro 3,25 cm altura 4 cm, assim o equipamento é sobreposto a este recipiente para medida de cor, obtendo-se os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , através de um flash Xenônio emitido na mesma.

- $L^*$ : medida da luminosidade da amostra, com variação de 0 a 100, em que 0 é o preto total e 100 o branco total;
- $a^*$  (+): Tendência da cor para o vermelho;
- $a^*$  (-): Tendência da cor para o verde;
- $b^*$  (+): Tendência da cor para o amarelo;
- $b^*$  (-): Tendência da cor para o azul.

### 3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software RStudio, em que foram realizadas análise descritiva dos dados; distribuição dos dados; dispersão; coeficiente de Correlação de Pearson( $r$ ) e análise de resíduos para verificar qual a interação entre a coloração da farinha e o teor de cinzas.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os ensaios de determinação do teor de cinzas, todas as farinhas aplicadas atenderam a IN N° 8 de 05/2005 do MAPA. Foram utilizadas amostras com L\* entre 91,00 a 95,03 e Cinzas de 0,40% a 0,83%, como descrito na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados coletados de cinzas e L\* da farinha de trigo

<b>CINZAS</b>	<b>L*</b>	<b>CINZAS</b>	<b>L*</b>	<b>CINZAS</b>	<b>L*</b>	<b>CINZAS</b>	<b>L*</b>
0,83	91,82	0,79	92,86	0,77	92,06	0,75	91,7
0,82	92,16	0,79	92,18	0,77	91,92	0,75	91,67
0,8	91,38	0,79	92,22	0,76	92,06	0,74	92,28
0,8	91,74	0,78	91,66	0,76	91,97	0,74	92,01
0,8	92,28	0,78	92,23	0,76	91,11	0,74	91,63
0,8	92,16	0,78	91,99	0,76	91,72	0,74	91,35
0,8	91,96	0,78	91,84	0,76	91,93	0,74	91,19
0,8	91,43	0,78	91,69	0,76	92,06	0,74	92,01
0,8	91,55	0,78	91,52	0,76	91,71	0,72	91,64
0,8	91,82	0,78	91,34	0,76	91,66	0,72	91,52
0,8	91,46	0,78	91,22	0,76	91,98	0,71	92,59
0,8	91,89	0,78	91,37	0,76	91,73	0,7	91,85
0,8	91,43	0,78	91,61	0,76	91,53	0,7	91,97
0,8	91,7	0,78	91	0,76	91,78	0,69	92,33
0,8	91,2	0,78	91,49	0,76	91,78	0,69	92,4
0,8	91,56	0,78	92,5	0,76	91,71	0,69	92,53
0,79	91,61	0,78	91,54	0,76	91,63	0,69	92,29
0,79	91,41	0,77	91,63	0,76	91,28	0,69	92,03
0,79	91,19	0,77	92,22	0,76	91,56	0,69	92,38
0,79	91,53	0,77	92,24	0,75	92,25	0,69	92,27
0,79	91,22	0,77	92,06	0,75	91,46	0,69	92,61
0,79	91,27	0,77	92,3	0,75	91,95	0,69	92,43
0,79	91,24	0,77	92,35	0,75	91,92	0,69	92,32
0,79	91,57	0,77	91,63	0,75	91,73	0,69	92,36
0,79	91,46	0,77	91,46	0,75	91,72	0,69	92,65
0,79	91,88	0,77	91,39	0,75	91,7	0,68	92,54

Fonte: A autoria própria (2019).

Continuação dos dados da Tabela 2

<b>CINZAS</b>	<b>L*</b>	<b>CINZAS</b>	<b>L*</b>	<b>CINZAS</b>	<b>L*</b>	<b>CINZAS</b>	<b>L*</b>
0,68	92,27	0,65	92,22	0,59	93,15	0,55	93,28
0,68	92,55	0,65	92,78	0,59	93,27	0,55	94,68
0,68	92,46	0,65	92,89	0,58	92,91	0,54	93
0,68	92,27	0,65	92,98	0,58	93,29	0,54	93,41
0,68	92,59	0,64	92,33	0,58	93,32	0,54	93,82
0,68	92,34	0,64	92,86	0,58	93,27	0,54	93,44
0,68	92,41	0,64	92,85	0,58	93,12	0,53	93,24
0,68	92,6	0,64	92,72	0,58	92,91	0,53	94,14
0,68	92,15	0,64	92,89	0,58	92,84	0,53	94,14
0,68	92,69	0,63	93,04	0,58	92,87	0,52	93,67
0,67	92,68	0,63	92,55	0,58	92,82	0,52	94,66
0,67	92,45	0,63	92,6	0,58	92,83	0,51	94,11
0,67	92,14	0,63	92,6	0,58	93,03	0,51	94,48
0,67	92,47	0,62	92,4	0,57	93,21	0,51	94,72
0,67	92,39	0,62	92,35	0,57	93	0,51	94,54
0,66	92,63	0,62	92,41	0,57	93,07	0,51	94,66
0,66	92,5	0,62	92,76	0,56	93,42	0,51	93,81
0,66	92,57	0,62	93,26	0,56	93,49	0,51	93,71
0,66	92,46	0,6	92,48	0,56	93,12	0,5	94,78
0,66	92,68	0,6	92,35	0,56	93,18	0,5	94,39
0,65	92,44	0,6	92,4	0,56	93,06	0,5	94,19
0,65	92,6	0,6	93,24	0,56	93,16	0,5	94,5
0,65	92,48	0,6	93,04	0,56	93,89	0,5	94,73
0,65	92,7	0,6	92,88	0,56	93,13	0,5	93,97
0,65	92,58	0,6	93,25	0,56	93,21	0,5	93,95
0,65	92,3	0,59	93,15	0,56	93,84	0,49	93,82

Fonte: Autoria própria (2019).

Continuação dos dados da Tabela 2

<b>CINZAS</b>	<b>L*</b>	<b>CINZAS</b>	<b>L*</b>	<b>CINZAS</b>	<b>L*</b>	<b>CINZAS</b>	<b>L*</b>
0,49	94,8	0,47	94,72	0,44	94,47	0,4	94,84
0,49	94,69	0,46	94,1	0,44	94,67	0,4	94,89
0,49	94,69	0,46	94,02	0,44	94,92	0,4	94,91
0,49	94,64	0,46	94,06	0,44	94,92	0,4	94,96
0,49	94,59	0,46	94,23	0,43	94,47	0,4	94,96
0,49	94,56	0,46	94,2	0,43	94,84	0,4	94,97
0,49	94,22	0,46	94,25	0,43	94,86	0,4	95,01
0,49	94,05	0,46	94,01	0,42	94,24	0,4	95,03
0,49	94,1	0,46	93,94	0,42	94,44		
0,49	94,99	0,46	94,07	0,42	94,5		
0,48	94,2	0,46	94,21	0,42	94,71		
0,48	94,1	0,46	94,31	0,42	94,89		
0,48	94,07	0,45	94,31	0,42	94,91		
0,48	93,9	0,45	94,18	0,42	94,91		
0,48	93,87	0,45	94,18	0,42	94,94		
0,48	93,77	0,45	94,46	0,42	95		
0,48	93,86	0,45	94,48	0,42	94,85		
0,47	94,03	0,45	94,76	0,41	94,34		
0,47	94,01	0,45	94,87	0,41	94,51		
0,47	93,9	0,45	94,92	0,41	94,66		
0,47	94,01	0,44	94,14	0,41	94,77		
0,47	93,96	0,44	94,23	0,41	94,77		
0,47	94	0,44	94,31	0,41	94,9		
0,47	94,04	0,44	94,36	0,4	94,48		
0,47	94,02	0,44	94,43	0,4	94,61		
0,47	93,95	0,44	94,45	0,4	94,65		

Fonte: Autoria própria (2019).

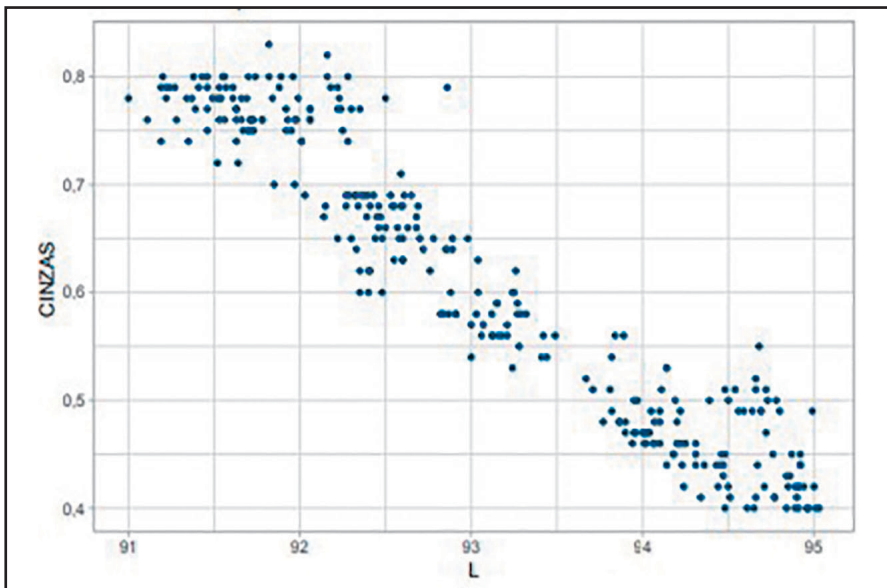
O diagrama de dispersão é um gráfico onde pontos no espaço cartesiano XY são usados para representar simultaneamente os valores de duas variáveis quantitativas medidas em cada conjunto de dados (SHIMAKUR, 2012). Técnicas



estatísticas e matemáticas são úteis para o desenvolvimento, melhoria e otimização de processos produtivos. Os efeitos transmitidos por esses fatores são denominados efeitos na dispersão (*dispersion effects*). O conhecimento desses efeitos possibilita um ajuste nos fatores que propiciam a minimização da variância resposta (VIEIRA; EPPRECHT, 2009).

Conforme o Gráfico 1, observou-se que existe uma correlação negativa entre o teor de cinzas e  $L^*$ , ou seja, conforme as cinzas aumentam, o valor de  $L^*$  diminui, assim expondo a existência de uma correlação entre as variáveis, com altos valores de uma, relacionada a baixos valores da outra variável. Se não houvesse correlação entre elas, os pontos estariam distribuídos ao meio do gráfico sem alguma tendência, o gráfico de dispersão nos fornece uma ideia do tipo e extensão da correlação entre as duas variáveis, com isso, também foi medido a relação entre as variáveis, aplicando o coeficiente de correlação( $r$ ).

Gráfico 1 – Dispersão Cinza x  $L^*$



Fonte: Autoria própria (2019).

Em função do resultado do Gráfico 1, se fez o coeficiente de correlação, para avaliar qual o nível de relação entre as variáveis. O coeficiente de correlação ( $r$ ) pode variar de  $-1,00$  a  $+1,00$ , com um coeficiente de  $+1$ , indicando uma correlação linear positiva perfeita. Um coeficiente de correlação de  $-1$  indica correlação linear perfeita negativa, com os escores padronizados exatamente

iguais em valores absolutos, diferindo apenas no sinal. Uma correlação de +1 ou -1 é raramente observada. O mais comum é que o coeficiente fique situado no intervalo entre estes dois valores. Um coeficiente de correlação “0” significa que não existe um relacionamento linear entre as duas variáveis (VIALI, 2012).

O coeficiente de correlação de Pearson é atribuído ao autor Karl Pearson, a origem desse coeficiente afirma que correlação é uma medida de associação ao relacionamento entre duas variáveis, ou seja, o coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) é uma medida de associação linear entre variáveis (FIGUEIREDO FILHO; SILVA JUNIOR, 2009).

Assim, usamos o coeficiente de correlação de *Pearson* ( $r$ ) para medir o grau da correlação linear entre as variáveis cinza e  $L^*$ .

Tabela 3 – Correlação de *Pearson*

<b>Correlação de Pearson</b>
CINZAS X L
$t = -54$ , $df = 290$ , $p\text{-valor} < 0,000000000000000002$ ou $2e^{-16}$
Hipótese alternativa: correlação verdadeira não é igual a 0.
95 intervalos de confiança percentual:
-0,9632 -0,9423
Estimativas de amostra:
-0,9539

- $t$  é o valor da estatística do teste  $t$  ( $t = -54$ ),
- $df$  é o grau de liberdade ( $df = 290$ ),
- $p$ -valor é o nível de significância do teste  $t$  ( $p\text{-valor} = 2e^{-16}$ )
- Intervalo de confiança do coeficiente de correlação a 95%
- estimativas da amostra é o coeficiente de correlação ( $r = -0,9539$ )

Fonte: Autoria própria (2019).

A partir dos resultados, os dois valores de *p-valor* são menores do que o nível de significância de 0,05, com isso a distribuição dos dados é significativamente diferente da distribuição normal. Isto é, não podemos assumir a normalidade o  $p$ -valor do teste é  $2e^{-16}$ , que é menor que o nível de significância  $\alpha = 0,05$ . Podemos concluir que cinzas e  $L^*$  estão significativamente correlacionadas com um coeficiente de correlação de -0,95, que nos indica uma correlação forte

negativa entre as 2 variáveis, ou seja, são altamente correlacionadas, em que apenas a variável  $L^*$  pode ser aleatória.

Os valores de cinzas são aleatórios, pois eles dependem não apenas de  $L^*$ , mas também de outras variáveis que não estão sendo apresentadas neste experimento. Estas variáveis não apresentadas são consideradas “erro”.

A análise de regressão linear tem como objetivo, verificar a existência de uma relação funcional entre uma variável dependente com uma ou mais variáveis independentes. Ou seja, consiste na obtenção de uma equação que tenta explicar a variação dos níveis das variáveis independentes (PETERNELLI, 2017).

A fórmula matemática da regressão linear pode ser escrita como:

$$Y = \beta_0 + \beta_1x + e$$

Onde:

$\beta_0$  e  $\beta_1$  são conhecidos como coeficientes ou parâmetros de regressão beta.

$\beta_0$ : é o intercepto da linha de regressão; esse é o valor previsto quando  $x = 0$ .

$\beta_1$ : é a inclinação da linha de regressão.

$e$ : é o termo de erro (também conhecido como os erros residuais), a parte de  $y$  que pode ser explicada pelo modelo de regressão.

Matematicamente, os coeficientes betas ( $\beta_0$  e  $\beta_1$ ) são determinados para que a Soma Residual de Quadrados (RSS) ou *Ordinary Least Squares* (OLS) seja o mínimo possível. Este método de determinação dos coeficientes beta é tecnicamente chamado de regressão por regressão de mínimos quadrados ordinários (OLS).

Uma vez que os coeficientes betas são calculados, um teste  $t$  é realizado para verificar se esses coeficientes são significativamente diferentes de zero. Um coeficiente beta diferente de zero significa que existe uma relação significativa entre os dados ( $x$ ) e a variável de resultado ( $y$ ).

Erro padrão residual ficou expresso em:

- 0,0402 em 290 graus de liberdade Múltipla;
- R-quadrado: 0,91;

- F-estatística:  $2,93e + 03$  em 1 e 290 DF, valor p:  $<2e^{-16}$ .

O erro padrão residual é o desvio padrão dos valores previstos da variável dependente ao redor da linha de regressão estimada, em que o erro padrão residual é uma medida da proximidade dos valores estimados. Ela deve estar próxima de zero, pois é o resíduo (BERTOLO, 2017).

Os graus de liberdade são os números de pedaços de informações independentes que são usadas para estimar os parâmetros de regressão. No cálculo dos parâmetros de regressão, usamos os seguintes pedaços de informações:

- A média das variáveis dependentes;
- A média das variáveis independentes (BERTOLO, 2017).

O R-quadrado é a porcentagem da variação da variável dependente explicada pela variável independente(s) (BERTOLO, 2017). O  $R^2$  com 0,91 indica que as variáveis independentes explicam 91% da variação da variável dependente.

A estatística-F é uma medida de quão bem um conjunto de variáveis independentes, como um grupo, explica a variação na variável dependente.

Na Tabela 4, temos a obtenção de uma equação através da estimativa do intercepto ( $\beta_0$ ).

Tabela 4 – Estimativa do Intercepto ( $\beta_0$ )

<b>Interceptar (<math>\beta_0</math>)</b>	<b>10,73675</b>
L*	-0,10883

Fonte: Autoria própria (2019).

A Equação 3 da linha de regressão estimada pode ser escrita da seguinte forma:

$$\text{Teor de cinzas} = 10,73 - 0,1088 \times L$$

Equação 3, onde L é cor.

O intercepto ( $\beta_0$ ) é 10,73, sendo interpretado como a unidade de CINZAS prevista para um valor de zero de  $L^*$ , o coeficiente beta de regressão para a variável  $L^*(\beta_1)$ , também conhecido como declive, é -0,1088. Isto significa que, para cada unidade de  $L^*$ , podemos esperar um decréscimo de 0,1088 unidades de CINZAS.

#### EXEMPLO:

- Quando tivermos um  $L^*$  80,00 teremos:  $CINZAS = 10,73 - 0,1088 * 80 = 2,02\%$
- Quando tivermos um  $L^*$  90,00 teremos:  $CINZAS = 10,73 - 0,1088 * 90 = 0,94\%$

Conforme o exemplo acima, os resultados são inversamente proporcionais, assim afirmando o resultado do teste de dispersão (Gráfico 1), ou seja, quanto maior o valor de  $L^*$  menor o teor de cinzas.

Noreto, Paro e Ferreira (2009), também afirmam que os minerais estão presentes em maior quantidade na casca do trigo, portanto, quanto mais escura for a farinha, maior será a quantidade de minerais presentes em seu interior.

## 4.1 ANÁLISE DE RESÍDUOS

Na Regressão Linear as suposições do modelo ajustado precisam ser validadas para que os resultados sejam confiáveis. Assim é chamado de **Análise dos Resíduos** um conjunto de técnicas utilizadas para investigar a adequabilidade de um modelo de regressão com base nos resíduos. O resíduo é dado pela diferença entre a variável resposta e a variável estimada, isto é a ideia da análise dos resíduos é que, se o modelo for apropriado, os resíduos devem refletir as propriedades impostas pelo termo de erro do modelo (TEIXEIRA, 2019).

Com auxílio da Tabela 5 podemos avaliar os resíduos do modelo, em que eles devem estar em torno de zero.

Tabela 5 – Resíduos do modelo

Mínimo	1Q	Média	3Q	Máximo
-0,08638	-0,02978	-0,00466	0,01982	0,15912

Fonte: Autoria própria (2019).

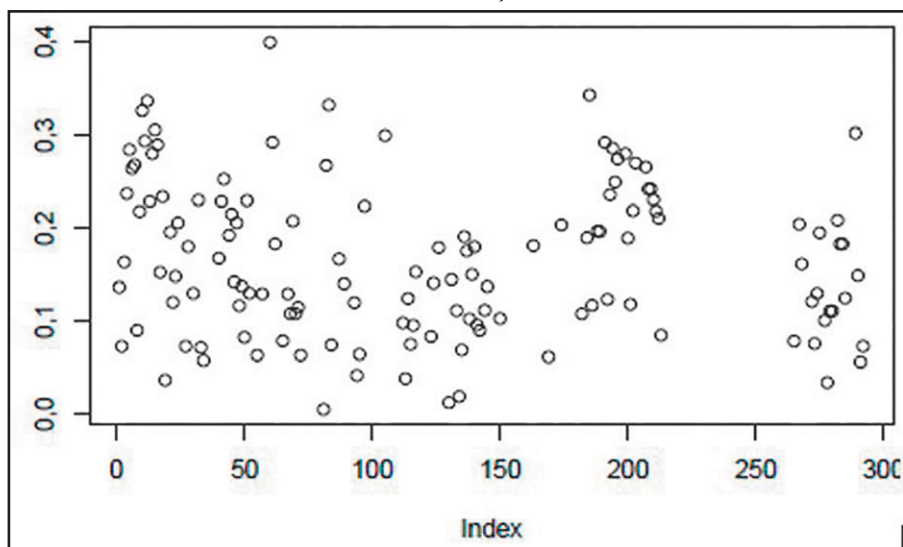
Conforme descrito na Tabela 5, estas informações são utilizadas para tomada de decisão e formação de modelos estatísticos paramétricos. Definiremos como:

- **Mínimo:** menor elemento da amostra;
- **Máximo:** maior elemento da amostra.

Quartis (1Q e 3Q): São valores dados a partir do conjunto de observações ordenado em ordem crescente, que dividem a distribuição em quatro partes iguais. O primeiro quartil, 1Q, é o número que deixa 25% das observações abaixo e 75% acima, enquanto que o terceiro quartil, 3Q, deixa 75% das observações abaixo e 25% acima (TEIXEIRA, 2019).

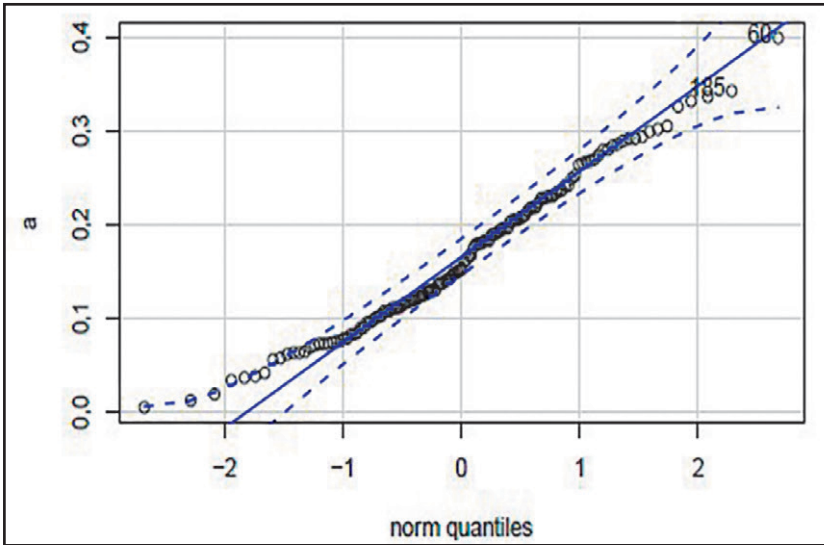
A análise dos resíduos é constituída por um conjunto de técnicas para avaliar a distribuição em estudo avaliando o comportamento da variável resposta e ainda identificando a presença de possíveis pontos extremos no conjunto de dados.

Gráfico 2 – Distribuição dos dados



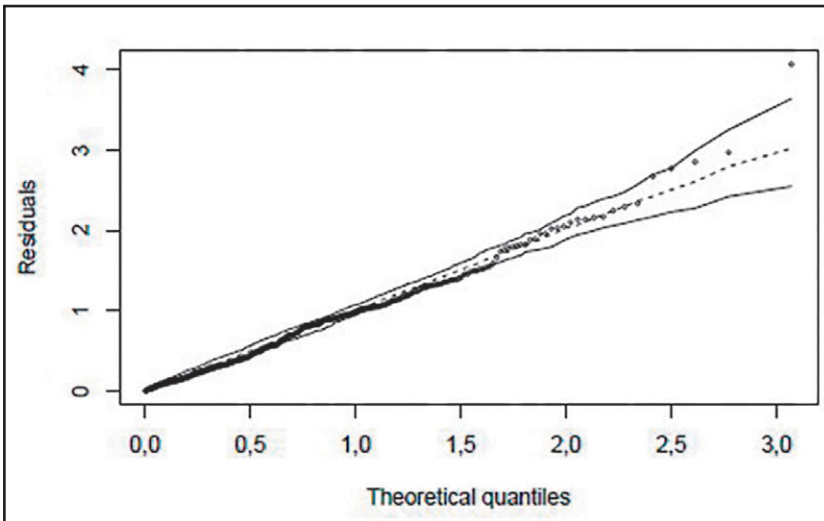
Fonte: Autoria própria (2019).

Gráfico 3 – Envelope



Fonte: Autoria própria (2019).

Gráfico 4 – Envelope



Fonte: Autoria própria (2019).

O Gráfico 4 é conhecido como Quantil-Quantil, ou como gráfico envelope; são de fato um gráfico do quantil amostral versus o quantil esperado sob normalidade. Podem ser usados para validar outras distribuições diferentes da normal. Quando a configuração de pontos no gráfico se aproxima de uma reta, a suposição

de normalidade é sustentável. A normalidade é suspeita se houver pontos que se desviam do comportamento linear. A forma como os pontos se desviam do comportamento linear pode fornecer pistas sobre a natureza da não normalidade das observações. Conhecida a razão da não normalidade dos dados, ações corretivas podem ser tomadas: transformações visando normalizar os dados ou uso de técnicas para dados não normais (JOHNSON; WICHERN, 2011).

Observa-se 2 amostras extremas (amostra 60 e amostra 185), indicando que esses dados são *outliers*, ou seja, dados com valores muito discrepantes dos demais. Observa-se estes dados com melhor clareza no Gráfico 4, onde apenas 1 ponto sai para fora do envelope.

As farinhas do Tipo 1, que possuem menores teores de cinzas, apresentaram valores de “L” que variam de 91 a 95,03 e as farinhas do Tipo 2 apresentaram valores abaixo de 91, ou seja, apresentaram uma coloração mais escura devido à presença de maior teor de farelo incorporado à farinha.

## 5. CONCLUSÃO

Com os resultados encontrados neste trabalho, o modelo ajustado e os resíduos em geral estão bem satisfatórios, o  $R^2$  é o coeficiente de determinação, esse valor nos indicou um modelo com 91% de explicação. Isto indica que sim, existe uma forte correlação entre eles e que o modelo matemático encontrado pode ajudar a indústria moageira com uma prévia do resultado de cinzas, assim também evitando os riscos de acidentes de trabalhos, como queimaduras e fumaça. Dessa forma, foram feitos testes práticos no dia a dia da produção da indústria moageira patrocinada, haja vista, que no momento a mesma utiliza trigos de várias regiões do país. Por meio dos testes, conclui-se que o modelo matemático pode ser utilizado em farinhas tipificadas com menor teor de cinzas, e com mesmo padrão de trigo, pois em casos das composições de farinhas que possuem alta pigmentação (Tipo 2) e que apresenta valor  $L^*$  não coerente, o modelo matemático não coincide com resultado original (prática); isso se origina devido algumas composições que aquela determinada farinha possui e que esteja excessivamente pigmentada (teor de cinzas elevado). O genótipo do trigo também influencia, como por exemplo, se é trigo importado ou trigo nacional, assim o modelo matemático fica indicado somente para farinhas mais puras, que possuem menor teor de cinzas. Com isso, serão necessários mais estudos para se avaliar a composição das farinhas referente à tipificação de cada uma delas e seu genótipo.



## REFERÊNCIAS

ALDREAD, D.; MAGAN, N. Prevention strategies for trichothecenes. **Toxicology Lattes**, v. 153, n. 1, p. 165-171, 2004.

ABITRIGO - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO TRIGO. **Site oficial**. 2014. Disponível em: <http://www.abitrigo.com.br/index.php>. Acesso em: 08 out. 2016.

\_\_\_\_\_. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO TRIGO. **Cresce produtividade da cultura do trigo, diz Abitrigo**. 17 jul. 2019. Disponível em: <https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/trigo/238991-cresce-produtividade-da-cultura-do-trigo-diz-abitrigo.html#.XTXPYI5Kh1s>. Acesso em: 22 jul. 2019.

BALHMANN, C. L.; LANZARINI, D. P. **Estudo reológico e físico-químico das farinhas de trigo destinadas à panificação produzidas em moinhos da região de Francisco Beltrão**. Francisco Beltrão, 2013, 32f. Monografia (Tecnólogo em Alimento) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná-Campus Francisco Beltrão. Francisco Beltrão, 2013.

BERTOLO, L. A. **Correlação e regressão**. 2017. Disponível em: <http://www.bertolo.pro.br/AdminFin/AnallInvest/NotasSobreRegressao.pdf>. Acesso em: 09 set. 2019.

BRASIL. Resolução CNNPA nº 12, de 1978. **Diário Oficial da União**. Brasília, 24 jul. 1978.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8, de 2 de junho de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade da farinha de trigo. **Diário Oficial da União**. Brasília, n. 105, p. 91, Seção 1, 3 jun. 2005.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 38 de 30 de novembro de 2010. Estabelece o Regulamento Técnico do Trigo, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 nov. 2010.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **A cultura do trigo**. Brasília, 2017. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17\\_05\\_03\\_16\\_09\\_46\\_a\\_cultura\\_do\\_trigo\\_versao\\_digital\\_nova\\_logo.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_05_03_16_09_46_a_cultura_do_trigo_versao_digital_nova_logo.pdf). Acesso em: 16 out. 2017.

COSTA, R. S. et al. Avaliação do teor de glúten úmido e glúten seco de farinhas de trigo comercializadas em Vitória da Conquista-BA. **Anais...** 4ª Semana de Engenharia de Alimentos e I Simpósio de pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. UESB, 20 a 23 nov. 2018.

FIGUEIREDO FILHO, D. B.; SILVA JUNIOR, J. A. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson ( $r$ )\*. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). **Revista Política Hoje**, v. 18, n. 1, p. 115-146, 2009.

GERMANI, R. **Características dos grãos e farinhas de trigo e avaliações de suas qualidades**. Rio de Janeiro: Embrapa, 2007.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Avaliação da suposição de normalidade**. Capítulo 4. set. 2011. Disponível em: <https://document.onl/documents/referencia-johnson-e-wichern-cap-4-setembro-de-2011.html>. Acesso em: 11 out. 2019.

NORETO, L. M.; PARO, P.; FERREIRA, D. T. L. Correlação entre a cor da farinha de trigo e o teor de minerais. **Anais...** I Seminário Internacional de Ciência, Tecnologia e Ambiente. Cascavel: UNIOESTE, 28 a 30 abr. 2009.

OLIVEIRA, A. J. **Avaliação da qualidade industrial da farinha de trigo**. Palotina, 2013 (Relatório de Estágio) – Universidade Federal do Paraná, Palotina, 2013.

ORTOLAN, F. **Genótipos de Trigo do Paraná – Safra 2004**: Caracterização e fatores relacionados à alteração de cor de farinha. Santa Maria, 2006, 143f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

PETERNELLI, L. A. **Capítulo 9 – Regressão linear e correlação**. 2017. Disponível em: <http://www.dpi.ufv.br/~peterneli/inf162.www.16032004/materiais/CAPITULO9.pdf>. Acesso em: 09 set. 2019.

PIZZINATTO, A.; MAGNO, C. P. R. S.; CAMPAGNOLLI, D. M. F. **Avaliação e controle de qualidade da farinha de trigo**. Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas: CEPEC, 1996.

SHIMAKUR, S. E. **O diagrama de dispersão**. 20 set. 2012. Disponível em: <http://leg.ufpr.br/~shimakur/CE055/node15.html>. Acesso em: 07 set. 2019.

SILVA, K. A. **Análises reológicas e físico-químicas da farinha de trigo de seis diferentes cultivares recomendadas para o estado do Paraná (safra 2016)**. Ponta Grossa, 2017, 33f. Monografia (Título de Tecnólogo em Alimento) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2017.

VIALI, L. **Correlação e regressão**. Material didático. Série Estatística Básica. Texto V. 2012. Disponível em: [http://www.pucrs.br/ciencias/viali/graduacao/engenharias/material/apostilas/Apostila\\_5.pdf](http://www.pucrs.br/ciencias/viali/graduacao/engenharias/material/apostilas/Apostila_5.pdf). Acesso em: 07 set. 2019.

VIEIRA, A. F. C.; EPPRECHT, E. K. Métodos de identificação de efeitos na dispersão em experimentos fatoriais não replicados. **Gestão & Produção**, São Carlos, v. 16, n. 1, p. 99-110, jan./mar. 2009.

TEIXEIRA, L. S. **Análise de resíduos**. Disponível em: <http://www.portaaction.com.br/analise-de-regressao/analise-dos-residuos>. Acesso em: 07 out. 2019.