

SIMEALI

IV Simpósio de Engenharia
de Alimentos

Controle de qualidade:
análise sensorial, química de
alimentos e análise de alimentos

2
Volume



A Cadeia Produtiva de
Alimentos e os Desafios
dos Novos Tempos

.....

Claudia Regina Vieira
Érika Endo Alves
Neide Judith Faria de Oliveira
Roberta Torres Careli

ORGANIZAÇÃO:

ICA
INSTITUTO
DE CIÊNCIAS
AGRÁRIAS

UFMG
UNIVERSIDADE FEDERAL
DE MINAS GERAIS

SIMEALI 4.0



SIMEALI

IV Simpósio de Engenharia
de Alimentos

Controle de qualidade: análise sensorial, química de alimentos e análise de alimentos

2
Volume



A Cadeia Produtiva de Alimentos e os Desafios dos Novos Tempos

.....

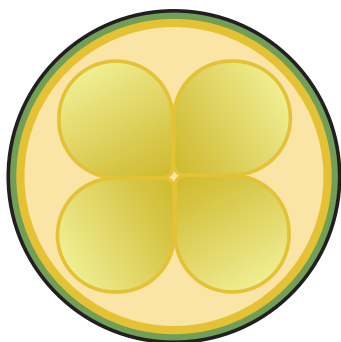
Claudia Regina Vieira
Érika Endo Alves
Neide Judith Faria de Oliveira
Roberta Torres Careli

ORGANIZAÇÃO:

ICA
INSTITUTO
DE CIÊNCIAS
AGRÁRIAS

UFMG
UNIVERSIDADE FEDERAL
DE MINAS GERAIS

SIMEALI 4.0



SIMEALI

IV Simpósio de Engenharia
de Alimentos

MONTES CLAROS, 11 A 13 DE AGOSTO DE 2021

INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

EDITORES:

Claudia Regina Vieira

Érika Endo Alves

Neide Judith Faria de Oliveira

Roberta Torres Careli

ORGANIZAÇÃO:

ICA
INSTITUTO
DE CIÊNCIAS
AGRÁRIAS

UFMG
UNIVERSIDADE FEDERAL
DE MINAS GERAIS

APOIO:



ISBN – 978-65-88389-08-9

Copyright © 2021 Claudia Regina Vieira, Érika Endo Alves,
Neide Judith Faria de Oliveira, Roberta Torres Careli.

Diagramadores: Claudia Regina Vieira e Priscylla Isis de Oliveira.

Fotografias: Claudia Regina Vieira

Direitos reservados dessa edição à
Claudia Regina Vieira, Érika Endo Alves,
Neide Judith Faria de Oliveira, Roberta Torres Careli.

Avenida Universitária, 1000
39 404 – 547 – Montes Claros, MG – Brasil
Tel: +55 38 2101 7710
Fax: +55 38 2101 7753
E-mail: organizacao.simeali@gmail.com
Web site: www.simeali.com

Todos os direitos reservados. A reprodução não autorizada dessa publicação,
no todo ou em parte, constitui violação do *copyright* (Lei nº 9.610/98).

Os conceitos emitidos neste e-book são de inteira responsabilidade dos autores.

1ª Edição - 2021

Vieira, Claudia Regina (org.).

V658c
2021 Controle de qualidade: análise sensorial, química de alimentos e análise de
alimentos [recurso eletrônico] / Claudia Regina Vieira, Érika Endo Alves, Neide
Judith Faria de Oliveira e Roberta Torres Careli (organizadoras). Montes Claros:
ICA/UFMG, 2021.
349 p. : il.

Inclui referências.
ISBN: 978-65-88389-08-9

1. Alimentos -- Indústria -- Controle de qualidade. 2. Análise sensorial. 3.
Alimentos -- Conservação química. 4. Compostos bioativos. I. Alves, Érika Endo
(org.). II. Oliveira, Neide Judith Faria de (org.). III. Careli, Roberta Torres (org.).
III. Instituto de Ciências Agrárias da UFMG. V. Título.

CDU: 664

Apresentação

O IV SIMEALI - SIMPÓSIO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS teve como objetivo a busca por avanços na área de Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos, apresentando temas atuais relacionados à área, especialmente no que se refere à cadeia produtiva de alimentos, à Indústria 4.0 e aos desafios dos novos tempos.

O IV SIMEALI ocorreu entre os dias 11 e 13 de agosto de 2021, excepcionalmente no formato *online*, devido à pandemia da COVID-19, e contou com a participação da Comissão Organizadora, incluindo o Comitê científico, composta por trinta e quatro integrantes: quatorze docentes do ICA/UFMG; seis docentes/pesquisadores de diferentes instituições de Ensino e Pesquisa do Brasil (Embrapa Agroindústria de Alimentos, UERGS, UESB, USP e UFG); quatro servidores técnicos administrativos do ICA/UFMG; oito discentes de Graduação do ICA/UFMG e dois discentes de Pós-Graduação do ICA/UFMG.

Colaboraram com o Simpósio dezenove conferencistas de diferentes Instituições, na realização de seis palestras de temas variados – D.Sc. Fabiana Cunha Viana Leonelli (FZEA/USP), D.Sc. Fausto Makishi (ICA/UFMG), CEO Gabriel Alves Machado (FaçaAgora), Marta Duran Fernandez (Especialista em Tecnologia da Informação), D.Sc. Nilda de Fátima Ferreira Soares (UFV) e D.Sc. Uelinton Manoel Pinto (USP) – e na realização de treze minicursos: D.Sc. Alcinei Místico Azevedo (ICA/UFMG); D.Sc. Bárbara Santos (PADRONIZA); D.Sc. Christian Dias Cabacinha (ICA/UFMG); M.Sc. Deborah Lelis (UNIMONTES); D.Sc. Eduardo Spers (USP); D.Sc. Gabriela da Rocha Lemos Mendes (ICA/UFMG); Eng. Isabela Garcia (Nestlé); D.Sc. Junio Cota (ICA/UFMG); D.Sc. Mariana Zanatta; D.Sc. Rosires Deliza (Embrapa Agroindústria de Alimentos); M.Sc. Sabrina Ferreira (UNIMONTES); Eng. Verônica Rufato e Wilson Fogaça (Escola Yokoten).

Nesta edição, contamos com a participação de 366 congressistas inscritos, oriundos de diferentes localidades do Brasil e com a submissão de 105 trabalhos científicos, dos quais 92 foram aprovados e se encontram disponíveis neste *E-book*.

O processo de avaliação foi realizado via Plataforma Even3® e contou com a colaboração de 138 avaliadores de diferentes instituições de Ensino e Pesquisa do País, de subáreas diversificadas e afins às áreas de Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos.

O presente *E-book* está dividido em seis volumes, correspondentes às áreas temáticas: Biotecnologia de alimentos, tratamento e aproveitamento de subprodutos; Controle de qualidade: análise sensorial, química de alimentos e análise de alimentos; Engenharia: desenvolvimento, modelagem, simulação, controle e automação de processos e operações; Nutrição: alimentos e saúde, alimentos funcionais, fortificação de alimentos, rotulagem obrigatória; Segurança dos alimentos: microbiologia de alimentos, higiene em indústria de alimentos e toxicologia de alimentos; Tecnologia de alimentos: embalagens de alimentos, desenvolvimento e processamento de alimentos.

Os capítulos possuem como tema central os desafios enfrentados pela cadeia produtora de alimentos e representam o compartilhamento do conhecimento entre pesquisadores, professores, profissionais e acadêmicos de Cursos Técnicos, Graduação e Pós-Graduação das áreas de Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos, Nutrição, Ciências Agrárias e demais áreas afins da região Norte de Minas Gerais e demais regiões do Brasil.

Claudia Regina Vieira
Coordenadora do IV SIMEALI



Instituto de Ciências Agrárias
Foto: Claudia Vieira
Novembro de 2021

Agradecimentos

Aos autores, por compartilharem os resultados de suas pesquisas e possibilitarem a publicação deste *E-book*.

Aos avaliadores, pelas correções, sugestões e contribuições valiosas para o aprimoramento dos trabalhos avaliados.

Aos apoiadores e patrocinadores, pela confiança depositada e pela concessão de recursos que viabilizaram a realização do IV SIMEALI.

À Organização, pelo trabalho árduo, comprometimento e dedicação na realização do evento.

A todos os inscritos no IV SIMEALI, razão principal de nossos esforços e dedicação para realizar o evento, mesmo que à distância.

Aos servidores do Setor de Informática do Instituto de Ciências Agrárias, em especial, ao servidor técnico administrativo Roberto Versiani Santos Júnior, pelo suporte providencial durante a realização do IV SIMEALI.

A todos que, de alguma uma forma, tornaram possível a realização do IV SIMEALI e, por conseguinte, a publicação deste *E-book*.

Nossos sinceros agradecimentos.

Claudia Regina Vieira
Coordenadora do IV SIMEALI

Érika Endo Alves
Subcoordenadora do IV SIMEALI

Instituto de Ciências Agrárias
Foto: Claudia Vieira
Novembro de 2021



Organização

Coordenação Geral

Claudia Regina Vieira – Docente (ICA/UFMG)

Érika Endo Alves – Docente (ICA/UFMG)

Comitê Científico

Alessandra Lopes de Oliveira - Docente (FZEA/USP)

Clarissa Damiani – Docente (UFG)

Cristiane Patrícia Oliveira – Docente (UESB)

Júnia Capua de Lima Novello - Docente (UERGS)

Maximiliano Soares Pinto – Docente (ICA/UFMG)

Neide Judith Faria de Oliveira – Docente (ICA/UFMG)

Roberta Torres Careli – Docente (ICA/UFMG)

Virgínia Martins da Matta – Pesquisadora (EMBRAPA Agroindústria de Alimentos)

Comissão Organizadora

Bruna Mara Aparecida de Carvalho Mesquita – Docente (ICA/UFMG)

Carla Adriana Ferreira Durães Pinheiro – Técnica (ICA/UFMG)

Caroline Liboreiro Paiva – Docente (ICA/UFMG)

Danielle Soares Malveira – Docente (FUNORTE)

Gabriela da Rocha Lemos Mendes – Docente (ICA/UFMG)

Hugo Calixto Fonseca – Técnico (ICA/UFMG)

Igor Viana Brandi – Docente (ICA/UFMG)

Janaína Teles de Faria – Docente (ICA/UFMG)

Juliana Pinto de Lima – Docente (ICA/UFMG)

Mariuze Loyanny Pereira Oliveira – Técnica (ICA/UFMG)

Milton Nobel Cano Chauca – Docente (ICA/UFMG)

Sandro Braga Soares – Técnico (ICA/UFMG)

Sérgio Henrique Souza Santos – Docente (ICA/UFMG)

William James Nogueira Lima – Docente (ICA/UFMG)

Comitê Discente

Aline Lopes Nascimento – Mestrado em Alimentos e Nutrição (ICA/UFMG)

Ane Caroline Silva – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

Ana Flávia Dias Costa – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

Caroline Batista dos Santos – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

Fernanda Santos Barros – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

Isabela Parolis Martins – Mestrado em Produção Animal (ICA/UFMG)

Lucélio Alves Marques Costa – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

Maria Clara Orsine Lopes de Castro – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

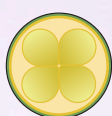
Maria Izabel de Jesus Viana – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

Maria Luiza de Freitas Paiva – Graduação em Engenharia de Alimentos (ICA/UFMG)

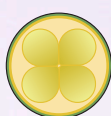
Sumário

Volume 2 - Controle de qualidade: análise sensorial,
química de alimentos e análise de alimentos

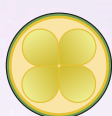
Capítulo 1	12 - 26
Logurte grego sabor caju: avaliação sensorial, caracterização físico-química e análise de estabilidade durante armazenamento. <i>Gabriel Cicalese Bevilaqua; Rikelyne Gonçalves Silva; Marcos Ubiratam Filgueira Oliveira Menezes; Graciliane Nobre da Cruz Ximenes; Neila Melo dos Santos Cortez.</i>	
Capítulo 2	27 - 41
Caracterização física de banana da terra: verde, “de vez” e madura. <i>Fabiane Rodrigues de Alencar; Katiúcia Alves Amorim; Ulisses Rodrigues de Alencar; Clarissa Damiani.</i>	
Capítulo 3	42 - 55
Influência da descrição do produto ideal na aceitação de produtos comerciais. <i>Katiúcia Alves Amorim; Silvia Deboni Dutcosky; Fernanda Salamoni Becker; Clarissa Damiani.</i>	
Capítulo 4	56 - 67
Efeito da temperatura na germinação induzida sobre as propriedades tecnológicas e sensoriais de arroz integral. <i>Thauana Heberle; Wyller Max Ferreira da Silva; Lucas Ávila do Nascimento; Jennifer Ferreira Ribeiro Saraiva; Bianca Pio Ávila; Márcia Arocha Gularte.</i>	
Capítulo 5	68 - 80
Determinação do índice de peróxidos em óleos vegetais usando imagens digitais obtidas com smartphone. <i>Amanda Carolina Souza Andrada Anconi; Nathália Cristina Silva Brito; Cleiton Antônio Nunes.</i>	
Capítulo 6	81 - 95
Estrutura superficial de microcápsulas contendo lactoferrina e da integridade conformacional da lactoferrina encapsulada. <i>Luciana Helena Maia Porte; Alexandre Porte.</i>	
Capítulo 7	96 - 107
Determinação do índice de maturação de azeitonas usando imagens digitais. <i>Felipe de Carvalho; Amanda Carolina Souza Andrada Anconi; Cleiton Antônio Nunes.</i>	



Capítulo 8	108 - 121
Teores de corantes artificiais em refrigerantes e pós para preparo de bebidas. <i>Alexandre Porte; Luciana Helena Maia Porte; Marília dos Santos Galvão; Carlos Rafael de Araujo Pais; Victor Hugo Lima de Medeiros Macedo; Ana Carolina Rabello da Silva Mazzoli.</i>	
Capítulo 9	122 - 135
Avaliação de parâmetros físicos de grãos de café de cultivares de <i>Coffea arabica</i> L. em relação a face de exposição das plantas e via de processamento pós-colheita. <i>Sabrina Alves da Silva; Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira; Fabiana Carvalho Pires; Bruno Batista Ribeiro.</i>	
Capítulo 10	136 - 149
Caracterização e comparação das propriedades físico-químicas das farinhas de quiabo oriundas dos cultivos orgânico e convencional. <i>Luzia Almeida Couto; Daniele de Brito Trindade.</i>	
Capítulo 11	150 - 164
Óleo essencial de gengibre: extração, caracterização e avaliação das atividades antioxidante e inibitória da enzima acetilcolinesterase. <i>Cassia Duarte Oliveira; Maria das Graças Cardoso; Ianca Carneiro Ferreira; Luciano de Souza; Vanuzia Rodrigues Fernandes Ferreira; Gabriela Fontes Alvarenga.</i>	
Capítulo 12	165 - 180
Padrão de qualidade de cachaças produzidas em alambiques no Território de Identidade - Região do Sertão Produtivo Baiano. <i>Amália Michelle Gomes Costa; Marciene Vieira de Souza; Daniele de Brito Trindade; Mariana Texeira Rodrigues Vila.</i>	
Capítulo 13	181 - 193
Influência da marca e embalagem de sorvetes na aceitação e na intenção de compra dos consumidores. <i>Jesilaine Aparecida Vargas; Tatielle Aparecida de Carvalho Rodrigues; Lara Aguiar Borges; Juliana Pinto de Lima; Gerson de Freitas Silva Valente; Rejiane Avelar Bastos.</i>	
Capítulo 14	194 - 207
Quantificação dos compostos bioativos da casca e polpa dos frutos de pitayas de polpa branca e vermelha. <i>Vander Rocha Lacerda; Andres Felipe Gaona Acevedo; Juliana Aparecida dos Santos; Rogério Lopes Vieites.</i>	



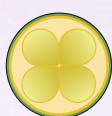
Capítulo 15	208 - 222
Condições de produção e perfil da qualidade de gelados comestíveis produzidos e comercializados em Cuiabá, MT. <i>Thamme dos Santos Clini Iaworski; Jonatã Henrique Rezende-de-Souza; Túlio Henrique Batista da Silva; Danilo Florisvaldo Brugnera; Luciana Kimie Savay-da-Silva.</i>	
Capítulo 16	223 - 237
Determinação da doçura ideal e caracterização físico-química de néctar de tamarindo (<i>Tamarindus indica</i>). <i>Anne Caroline Mendes de Oliveira; Júlia Nascimento Caldas; Larissa Tacimara Santos; Talita Fernandes Ferreira; Paulo Costa Sobrinho; Tatiana Nunes Amaral.</i>	
Capítulo 17	238 - 250
Avaliação dos parâmetros de qualidade de polpas de acerola comercializadas em Guanambi-BA. <i>Edivânia Ribeiro Lopes; Edilene Ribeiro Lopes; Elizângela Ribeiro Lopes; Rômicy Dermondes Souza; Cristiane Patrícia de Oliveira; Elizabete Soares Cotrim Levi.</i>	
Capítulo 18	249 - 266
Caracterização de polpa e resíduo do despulpamento de jamelão (<i>Syzygium cumini</i>). <i>Victor Augusto Dias de Carvalho; Jeferson dos Santos Silva; Amanda Maria da Silva; Gerson de Freitas Silva Valente; Gilma Auxiliadora Santos Gonçalves; Patrícia Érica Fernandes.</i>	
Capítulo 19	267 - 279
Efeito de diferentes copigmentos sobre a estabilidade de antocianinas extraídas de berinjela (<i>Solanum melogena</i> L.). <i>Juliano Daniel Perin; Patrícia Beltrão Lessa Constant; Andréa Gomes da Silva; Paulo César Stringheta .</i>	
Capítulo 20	280 - 294
Avaliação da estabilidade lipídica em canudinhos fritos. <i>Juliana Rech, Noriê Finimundi, Elizete Maria Pesamosca Facco.</i>	
Capítulo 21	295 - 307
Validação de metodologia para determinação de benzo(a)pireno em amostras de salame usando SPE e UHPLC. <i>Gustavo Zanetti de Rossi; Marina Missae Ossugui; Simone Alves da Silva; Adriana Palma de Almeida; Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres; Geni Rodrigues Sampaio.</i>	



Capítulo 22	308 - 321
Otimização de método de extração, identificação e quantificação de aminoácidos por HPLC-FL. <i>Anelise Christ-Ribeiro; Marcy Heli Paiva Rodrigues; Janaína Barreto Alves; Eliana Badiale-Furlong.</i>	
Capítulo 23	322 - 334
Avaliação e comparação do teor alcoólico real com informações dos rótulos e acidez volátil de cachaças e aguardentes comercializadas na cidade de Campinas/SP <i>Nadson Libio Bezerra Ferreira; Renato Anulino da Silva.</i>	
Capítulo 24	335 - 349
Avaliação do processo de extração da própolis de abelha sem ferrão oriunda de Salvador/Bahia a partir da avaliação do seu potencial bioativo. <i>Thinara de Freitas Oliveira; Acsa Santos Batista; Ana Clara Guimarães Carvalho; Amanda Beatriz Sales de Lima; Leandro Soares Santos.</i>	



Instituto de Ciências Agrárias
Foto: Claudia Vieira
Novembro de 2021



01 Capítulo

*loqure grego sabor
caju: avaliação sensorial,
caracterização físico-
química e análise de
estabilidade durante
armazenamento*

Capítulo 1

Iogurte grego sabor caju: avaliação sensorial, caracterização físico-química e análise de estabilidade durante armazenamento

Gabriel Cicalese Bevilaqua*¹; Rikelyne Gonçalves Silva²; Marcos Ubiratam Filgueira Oliveira Menezes³; Graciliane Nobre da Cruz Ximenes⁴; Neila Melo dos Santos Cortez⁵

Resumo

Iogurte é um dos produtos lácteos mais consumidos pelo mercado. Atualmente, com o aumento da demanda por produtos saudáveis, inovações no setor e o desenvolvimento de novos produtos vêm ganhando destaque. Nesse contexto, esse estudo objetivou desenvolver um novo iogurte, concentrado em proteínas, saborizado com polpa de caju fresca. Para isso, produziu-se um iogurte grego com adição de leite desnatado em pó, nas versões tradicional e light. A caracterização físico-química foi realizada para a determinação do conteúdo de proteínas, lipídios, umidade e cinzas, além de pH, acidez, sinérese e teor de Vitamina C ao longo de 35 dias de armazenamento em temperatura de refrigeração (6 ± 2 °C). Testes de aceitação sensorial foram realizados com 101 provadores não treinados com escala hedônica de 9 pontos. Com os resultados, o iogurte produzido na versão tradicional pôde ser classificado como concentrado em proteínas, mas a versão light apresentou conteúdo proteico inferior ao mínimo requerido para tal denominação. Os valores de acidez, pH e sinérese apresentaram-se de acordo com o esperado por outros relatos na literatura. Ambas as formulações obtiveram um índice de aceitabilidade superior a 70%. O conteúdo de vitamina C dos produtos foi maior do que o de produtos similares, estabilizando-se em valores acima de 95 mg/100 g ao longo do tempo de prateleira avaliado. Concluiu-se, a partir dos resultados obtidos, que o iogurte grego saborizado com polpa de caju, devido a sua aceitação evidenciada e ao respectivo valor nutricional, com ênfase em relação ao teor de vitamina C, é um produto com potencial a ser explorado como um meio de valorizar o uso da polpa de caju e, de forma associada, expandir o mercado de produtos lácteos.

Palavras-chave: Iogurte de frutas. Novos produtos. Produtos funcionais.

¹ Graduado em Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco.

² Graduanda em Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco.

³ Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Ciências do Consumo, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

⁴ Química, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco.

⁵ Professora Doutora em Medicina Veterinária, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco.

*E-mail para correspondência: gabriel.cicalese@gmail.com

Introdução

Considerando o comportamento da indústria de lácteos no Brasil e o interesse do consumidor em produtos mais nutritivos, o iogurte é evidenciado como sendo um produto saudável e rico em nutrientes, além de ser uma excelente fonte de vitaminas, minerais e proteínas, caracterizando o efeito positivo na saúde do consumidor (FAO, 2020; HOBBS *et al.*, 2019). Associado a isso, também há um grande interesse em produtos lácteos reduzidos em gordura, fazendo com que as indústrias produzam novos produtos e tecnologias de acordo com tal demanda do mercado. Por outro lado, com a redução do teor de lipídios, comumente são gerados efeitos negativos nas características sensoriais do produto final, como no sabor e na textura (ATAMIAN *et al.*, 2014).

O sucesso comercial de um produto no mercado está relacionado a características de boa aceitação sensorial, garantia da segurança do consumidor e qualidade nutricional. Esses parâmetros são bastante comuns em iogurtes gregos já que esse é um produto concentrado em relação a proteínas ou gorduras quando comparados a um iogurte tradicional, resultando em um produto mais firme e viscoso, usualmente apreciado pelos consumidores (SILVEIRA *et al.*, 2016; VIANNA *et al.*, 2017).

Devido à concentração dos sólidos, o potencial nutricional do iogurte é enriquecido no iogurte grego, que também é conhecido como búlgaro ou Labneh. Esse produto pode ser considerado um intermediário entre um leite fermentado tradicional e um queijo não maturado com alto teor de umidade, como o Quark, o Boursin e o Petit Suisse (SILVEIRA *et al.*, 2016). Outra alternativa para melhorar as características organolépticas do iogurte é a adição de polpa de frutas. Isso tem se tornado uma das melhores opções para fornecer vitaminas, fibras e minerais, fazendo o iogurte um produto ainda mais saudável (SILVA, 2015).

No contexto do uso nutricional de produtos vegetais, o caju é um pseudofruto que não é comumente adicionado em iogurtes. É rico em nutrientes, tendo três a cinco vezes mais vitamina C do que em laranjas, além de conter açúcares, vitaminas do complexo B, fibras, cálcio, fósforo e outros nutrientes (COSTA *et al.*, 2016; PAIVA *et al.*, 2000).

O caju é consumido fresco ou utilizado na produção de geleias, bebidas e produtos desidratados. Apesar do grande potencial nutricional como uma matéria prima para diversos produtos, o uso industrial no Brasil é de apenas 15% desse produto, com o maior lucro atribuído apenas à castanha de caju. O pseudofruto é comumente rejeitado na colheita, levando a uma estimativa de que a cada quilograma de castanha de caju, dez quilogramas do pseudofruto são descartados (LUCIANO *et al.*, 2011; PROMMAJAK *et al.*, 2014).

Nesse contexto, esse trabalho objetivou produzir iogurtes tipo grego com adição de proteína láctea e polpa de caju, nas versões tradicional e desnatada, como uma metodologia para aumentar o consumo do pseudofruto do caju a partir do desenvolvimento de um novo produto. As características físico-químicas e sensoriais dos produtos foram avaliadas visando a expansão dos mercados de caju e de lácteos, que possui uma demanda constante por inovações.

Material e Métodos

Culturas de fermentação

As cepas de culturas iniciadoras de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* foram preparadas a partir de culturas Direct Vat Set para iogurte (Globalfood, Brazil) na concentração de 10^{12} UFC/mL em leite desnatado reconstituído estéril. O leite com as culturas foi armazenado a 22 ± 1 °C e reativado, anteriormente à produção, por 12 ± 1 h na temperatura de 6 ± 2 °C seguido de 6 ± 1 h em uma estufa à 37 ± 1 °C.

Polpa de caju

Os cajus utilizados no processo foram obtidos em mercados da região metropolitana de Recife-PE. As castanhas foram separadas dos pseudofrutos e estes foram higienizados com detergente neutro e enxaguados com água abundante. Em seguida, os cajus foram sanitizados por imersão em solução 200 ppm de hipoclorito de sódio por 30 ± 1 min. Em seguida, os pseudofrutos foram lavados com água destiladas e imersos em uma solução de ácido acético 10% (v/v) por 10 ± 1 min e posterior imersão em água destilada por 10 ± 1 min.

Os cajus sanitizados foram esmagados em um processador de alimentos (Philco Mix 700) por 5 minutos, com posterior filtração em peneira para a remoção parcial das fibras e obtenção da polpa filtrada.

Produção dos iogurtes

Dois iogurtes foram produzidos: Iogurte Grego Tradicional (IGT) e Iogurte Grego *Light* (IGL). Ambos foram produzidos com adição de 14% (m/v) de leite em pó desnatado, 8% (m/v) de



açúcar e 20% de polpa de caju (m/v), nas proporções relativas ao volume de leite, com IGT sendo preparado a partir de leite UHT integral e IGL com leite UHT desnatado.

Todos os ingredientes, exceto a polpa de caju, foram misturados e submetidos à pasteurização lenta de 30 ± 1 min a 80 ± 2 °C seguida de resfriamento por imersão do recipiente em uma mistura de água e gelo até atingir 44 ± 1 °C. Em seguida, em ambos produtos, foi adicionada a cultura de iogurte preparada (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) na proporção de 2% (v/v). As misturas foram colocadas em recipientes estéreis a uma temperatura de 44 ± 1 °C por $6,5 \pm 0,5$ h para o processo de fermentação. Em seguida, os iogurtes IGT e IGL foram resfriados a 6 ± 2 °C e as polpas de caju foram adicionadas, os produtos foram homogeneizados e armazenados novamente a 6 ± 2 °C por 35 dias.

pH e acidez

As análises de acidez e pH foram realizadas após a produção e semanalmente por 35 dias de armazenamento a 6 ± 2 °C utilizando os procedimentos descritos na Instrução Normativa nº 68 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2006). Foi utilizado um medidor de pH digital de bancada (BEL PHS3-BW). Para a determinação da acidez, foi utilizado um acidímetro Dornic com solução de hidróxido de sódio 0,11 mol/L. Os procedimentos foram realizados em triplicata.

Composição centesimal

Após a produção, foram realizadas as determinações de umidade, gordura, proteína e cinzas seguindo os procedimentos descritos na Instrução Normativa nº 68 (BRASIL, 2006). A determinação dos carboidratos totais (digeríveis e fibras) foi realizada pela diferença, considerando os resultados obtidos para os outros parâmetros.

Vitamina C

A determinação do teor de ácido ascórbico foi realizada de acordo com o método de titulação de Tillmans (IAL, 2008). A avaliação da vitamina C foi realizada após a produção e semanalmente até 35 dias de armazenamento, com os resultados expressos em miligramas de ácido ascórbico por 100 g de produto. Os ensaios foram realizados em triplicata.



Sinérese

Para a determinação da sinérese espontânea, em triplicata, 10 mL de cada amostra foram armazenados nas mesmas condições dos produtos em tubos estéreis Falcon de fundo cônico e analisados semanalmente em 35 dias de armazenamento. A porcentagem de sinérese foi determinada com base na relação entre a altura da coluna de soro desprendido e a altura da coluna inicial de iogurte no tubo (FISZMAN *et al.*, 1999; SILVA *et al.*, 2010).

Análise sensorial

As análises sensoriais dos iogurtes produzidos foram realizadas com 101 provadores não treinados, independente de sexo, idade ou escolaridade. As amostras foram apresentadas de forma simultânea e aleatória e oferecidas em copos plásticos com aproximadamente 5 mL dos produtos.

Os provadores foram solicitados a classificar os parâmetros aparência, cor, textura, aroma, sabor e impressão geral usando uma escala hedônica de 9 pontos, sendo 1 - “Desgostei muitíssimo” e 9 - “Gostei muitíssimo” e uma avaliação da intenção de compra, com uma escala de 1 a 5, sendo 1 - “certamente não compraria” e 5 - “certamente compraria”.

Para os resultados, foram calculados os valores médios e o índice de aceitabilidade de cada amostra (TEIXEIRA *et al.*, 1987). A validação estatística foi realizada a partir da Análise de Variância - ANOVA e a comparação entre as médias pelo teste de Tukey.

Esta pesquisa foi aprovada (Protocolo nº 3.473.519) pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Associação Educativa do Brasil e realizada dentro dos preceitos éticos estabelecidos na Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde sobre pesquisa com seres humanos.

Resultados e Discussão

Composição centesimal

Os valores obtidos nas análises de composição química dos produtos são apresentados na Tabela 1.

Avaliando o teor de gordura (Tabela 1), inferiu-se que o produto IGT pôde ser classificado como integral (teor de gordura maior que 3 g/100 g) e o IGL como desnatado (teor de gordura menor que 0,5 g/100 g) de acordo com o disposto na Instrução Normativa nº 46 (BRASIL, 2007). Além



disso, o IGL pôde ser considerado um alimento *light*, pois apresenta uma redução de pelo menos 25% de um componente (gordura) em relação à versão tradicional, conforme descrito na Resolução Brasileira nº 54 (BRASIL, 2012).

Tabela 1 – Composição centesimal dos iogurtes gregos de caju nas variedades tradicional (IGT) e *light* (IGL)

Componente	Composição (g/100 g de iogurte)	
	IGT	IGL
Umidade	75,76 ± 0,20 ^a	77,95 ± 0,12 ^b
Cinzas	1,30 ± 0,03 ^a	1,28 ± 0,02 ^a
Gorduras	3,10 ± 0,05 ^a	< 0,05 ^b
Proteínas	6,03 ± 0,57 ^a	5,38 ± 0,17 ^a
Carboidratos Totais (Digeríveis e Fibras)	15,15 ± 0,61 ^a	15,39 ± 0,21 ^a

Fonte: Dos autores, 2019.

Legenda: IGT: Iogurte Grego Tradicional; IGL: Iogurte Grego Light.

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha (comparação entre formulações) não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Em um estudo com produtos comercializados nos Estados Unidos, por exemplo, foram encontrados valores de 0,05% a 4,9% para o teor de gordura dos iogurtes gregos (DESAI *et al.*, 2013), enquanto em produtos similares comercializados no mercado brasileiro, o teor de gordura observado varia de 3,7% a 6,3% (FARIAS; FARIAS, 2017; MAGALHÃES; DELLA TORRE, 2018). O baixo teor de lipídios do iogurte integral produzido, quando comparado aos produtos comerciais, pode ser justificado devido ao uso de leite UHT padronizado com 3% de gordura na produção do IGT, levando a um produto final com teor semelhante ao da matéria-prima utilizada.

Em relação ao teor de proteína (Tabela 1), o iogurte concentrado deve ter uma concentração mínima de 5,6%, o que foi evidenciado no IGT, podendo este, portanto, ser classificado como iogurte grego (FAO, 2011). O IGL apresentou menor concentração de proteína, o que indica a necessidade de adequação da formulação para atender aos requisitos de denominação de iogurte concentrado para sua comercialização.

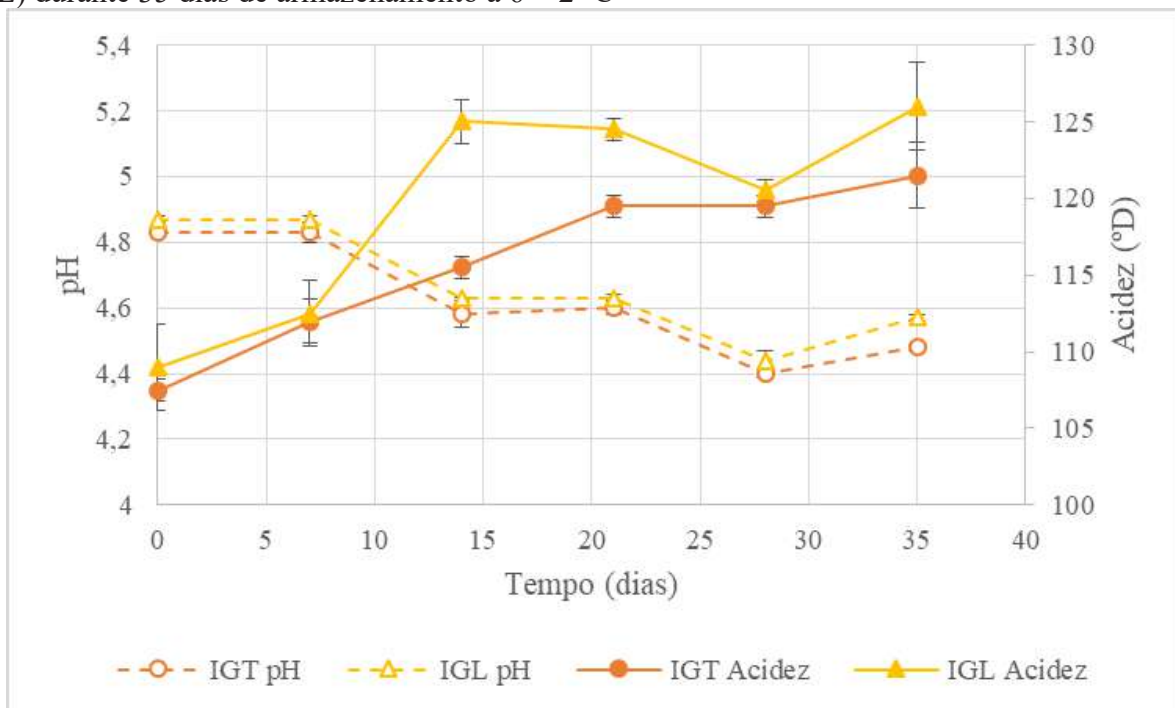
Em outros estudos, o teor de umidade dos iogurtes do tipo grego variou entre 74,9% e 88,9% (LIMA *et al.*, 2011; MAGALHÃES; DELLA TORRE, 2018; TOLEDO, 2013) e as concentrações de carboidratos totais variaram de 11,6% a 18,2% (COSTA *et al.*, 2019; TOLEDO, 2013). Portanto, os valores encontrados para esses parâmetros no IGT e no IGL (Tabela 1) estão dentro do esperado pela literatura.

Em relação ao teor de cinzas, estudos mostram variação, para o iogurte natural, de 0,51% a 1,26% (MAGALHÃES; DELLA TORRE, 2018; TOLEDO, 2013). Apesar disso, o teor de cinzas atingiu até 1,40% com a adição da farinha de maracujá em estudo realizado por Toledo (2013). Portanto, o teor de cinzas acima do esperado para o iogurte natural (Tabela 1) pode estar associado à adição de sólidos não lácteos, possivelmente, neste caso, da polpa do caju.

pH e acidez

Os resultados de pH e acidez dos produtos durante o período de armazenamento avaliado são mostrados na Figura 1

Figura 1 – pH e acidez dos iogurtes do tipo grego produzidos nas variedades tradicional (IGT) e light (IGL) durante 35 dias de armazenamento a $6 \pm 2^\circ\text{C}$



Fonte: Dos autores, 2019.

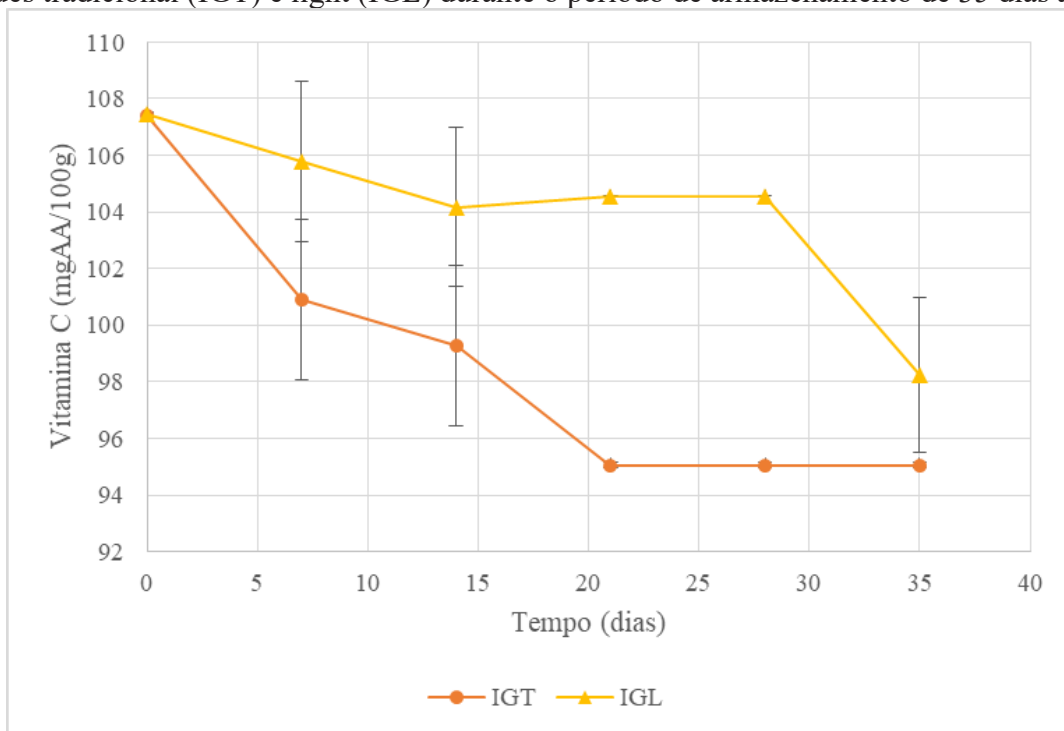
Percebe-se que, logo após a produção, os valores de pH dos produtos ficaram entre 4,8 e 4,9 e a acidez entre 105 e 110 °D. Durante o armazenamento, o pH diminuiu para valores finais entre 4,4 e 4,6, e a acidez aumentou para valores entre 120 e 126 °D. Esses resultados eram esperados considerando que as bactérias lácticas continuam em atividade fermentativa com produção de ácido láctico durante o período de armazenamento, mesmo sob a temperatura de refrigeração (BARBOSA; GALLINA, 2017; RANASINGHE; PERERA, 2016; REVERS *et al.*, 2016). Em um estudo com

iogurte tradicional, por exemplo, uma diminuição do pH de 4,7 para 4,3 foi encontrada após 30 dias de armazenamento (REVERS *et al.*, 2016). Ressalta-se que o ácido lático produzido durante a fermentação aumenta a qualidade organoléptica do produto e contribui para o período de armazenamento ao inibir bactérias contaminantes e putrefativas. Devido a isso, o iogurte e outros produtos fermentados têm vida útil mais longa quando comparados ao leite pasteurizado, por exemplo (CHOLAKOV *et al.*, 2017).

Vitamina C

Os resultados para o teor de vitamina C dos produtos no período de armazenamento avaliado são mostrados na Figura 2.

Figura 2 - Teor de vitamina C (ácido ascórbico - AA) nos iogurtes de caju grego produzidos nas variedades tradicional (IGT) e light (IGL) durante o período de armazenamento de 35 dias a 6 ± 2 °C



Fonte: Dos autores, 2019.

Os iogurtes gregos produzidos apresentaram concentração final de 95,06 mg AA/100 g para IGT e 98,23 mg AA/100 g para IGL ao final do período de armazenamento. Declínios sutis foram notados para ambos produtos na concentração de vitamina C em diferentes períodos. Porém, o conteúdo final faz com que o consumo de 100 g de IGT ou IGL atinja as recomendações diárias de

Vitamina C para uma pessoa adulta de acordo com a legislação brasileira, que é de 45 mg (BRASIL, 2005).

A perda total de vitamina C durante o armazenamento foi de 11,51% para IGT e 8,45% para IGL. Em estudo com sucos de caju naturais e industrializados armazenados sob refrigeração, houve perda média de 32,8%, podendo chegar a 66% para os sucos naturais, sem adição de conservantes (LIMA *et al.*, 2007). Em outro estudo com néctares de caju, foi constatada perda de até 40% do ácido ascórbico, exibindo produtos com teor inferior a 100 mg AA/100 g após 30 dias de armazenamento (SABE, 2016). Assim, a perda observada nesses iogurtes pode ser considerada baixa, o que contribuiu para a manutenção de quantidades significativas de ácido ascórbico no produto durante a vida de prateleira. Isso pode ter sido garantido pelo correto manuseio e uso do suco de caju *in natura* e pelo cuidado com a preservação dos iogurtes durante o armazenamento, protegendo o produto da luz e mantendo a temperatura de refrigeração constante.

Vale ressaltar que, dependendo das condições da atividade fermentativa, as bactérias lácticas são capazes de aumentar ou reduzir o teor de ácido ascórbico. Além disso, outros fatores podem contribuir para a degradação do ácido ascórbico nos alimentos, como etapas de processamento, condições de armazenamento, embalagem, exposição ao oxigênio e à luz, temperaturas elevadas e pH inadequado (ABRANCHES *et al.*, 2008; ATHMASELVI *et al.*, 2017; KAPRASOB *et al.*, 2017).

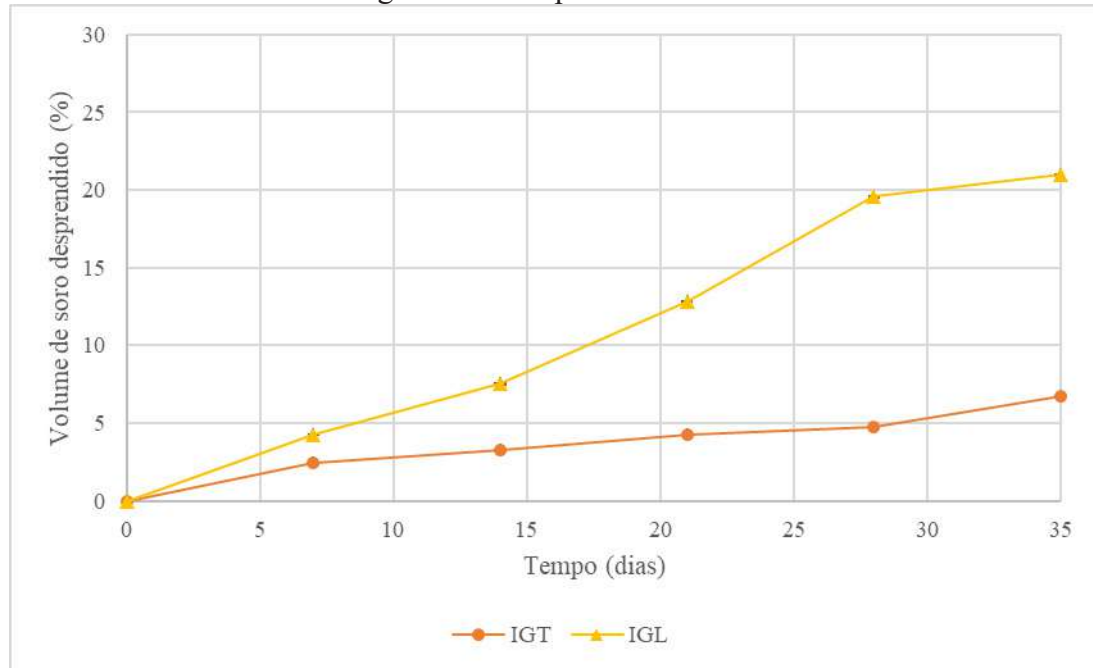
Sinérese

Os resultados para a sinérese dos produtos durante o período de armazenamento avaliado são apresentados na Figura 3.

Percebeu-se que o soro liberado pelo IGT correspondeu a 6,71% após 35 dias de armazenamento, enquanto na versão light correspondeu a 21,00%. Outros trabalhos relataram taxas de sinérese superiores a 41% com iogurte integral tradicional após 28 a 30 dias de armazenamento sob refrigeração e classificando os produtos como satisfatórios (REVERS *et al.*, 2016; TOLEDO, 2013). Outra pesquisa envolvendo iogurtes gregos encontrou sinérese de 10,0% a 29,5% na versão tradicional e de 16,4% a 49,1% na versão desnatada (UDUWERELLA *et al.*, 2017). Portanto, os resultados encontrados para IGT e IGL estão dentro do esperado pela literatura. Vale ressaltar que a sinérese é um defeito causado pela liberação espontânea de soro do gel formado no iogurte e parâmetros como teor de proteínas e sólidos totais, variações de temperatura, pH, acidez e fatores mecânicos, como agitação e vibração, podem ampliar essa liberação, o que pode ser uma explicação

para a diferença entre os valores encontrados para as versões tradicional e desnatada (LIMA *et al.*, 2011; RAŠIĆ; KURMANN, 1978; TOLEDO, 2013).

Figura 3 - Porcentagem de soro liberado em relação ao volume total de iogurtes de caju grego produzidos na versão tradicional e light durante o período de armazenamento de 35 dias a 6 ± 2 °C



Fonte: Dos autores, 2019.

Legenda: IGT: Iogurte Grego Tradicional; IGL: Iogurte Grego Light.

Análise sensorial

Os resultados obtidos para a análise sensorial são apresentados na Tabela 2.

Observou-se que a cor e o aroma foram estatisticamente equivalentes entre os produtos. Isso era esperado, considerando que esses fatores não são afetados pelo uso de leite integral ou desnatado. Todos os demais atributos apresentaram diferença estatística, revelando valores médios mais elevados no IGT, o que poderia ser antecipado, pois o teor de gordura desempenha um papel relevante na aceitação do consumidor por afetar o sabor e a textura dos iogurtes. Comparando diferentes características sensoriais dos iogurtes gregos, alguns autores encontraram notas mais altas para sabor, textura e impressão global em iogurtes integrais em comparação com os semidesnatados ou desnatados (DESAI *et al.*, 2013). No entanto, todos os parâmetros IGT e IGL apresentaram notas entre “gosto ligeiramente” (6) e “gosto extremamente” (9) e índice de aceitabilidade acima de 70%, o que pode caracterizar os produtos como bem aceitos (TEIXEIRA *et al.*, 1987).

Tabela 2 – Análise sensorial dos iogurtes gregos de caju nas variedades tradicional (IGT) e *light* (IGL) com escala hedônica de 9 pontos e intenção de compra com escala de 5 pontos

Atributo	Valores médios e desvios padrão	
	IGT	IGL
Aparência	8,14 ± 0,97 ^a	7,66 ± 1,29 ^b
Cor	8,06 ± 0,97 ^a	7,88 ± 1,09 ^a
Aroma	7,66 ± 1,23 ^a	7,35 ± 1,49 ^a
Textura	7,88 ± 1,31 ^a	6,81 ± 1,76 ^b
Sabor	7,85 ± 1,34 ^a	6,63 ± 1,90 ^b
Impressão global	7,89 ± 1,16 ^a	7,11 ± 1,54 ^b
Intenção de compra	4,32 ± 0,94 ^a	3,52 ± 1,12 ^b

Fonte: Dos autores, 2019.

Legenda: IGT: Iogurte Grego Tradicional; IGL: Iogurte Grego Light.

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha (comparação entre formulações) não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Em outros estudos sensoriais com iogurtes gregos tradicionais, as notas para a impressão global foram encontradas entre 5,63 e 7,69 (ATAMIAN *et al.*, 2014; DESAI *et al.*, 2013; SILVEIRA *et al.*, 2016; VIANNA *et al.*, 2017). Em um estudo com iogurte batido adicionado com polpa de caju e mel de abelha, foram encontrados graus de aceitação global entre 5,33 e 7,08, dependendo da porcentagem de polpa de caju adicionada (MACEDO *et al.*, 2014). Esses trabalhos mostram que os resultados obtidos para IGT e IGL concordam e são ainda mais elevados do que os resultados sensoriais para alguns produtos semelhantes.

Conclusão

A partir dos experimentos realizados, foi possível obter iogurtes do tipo grego saborizados com polpas frescas de caju na versão tradicional, de acordo com a legislação. A versão *light* não atendeu aos requisitos proteicos para tal designação de produto, mas é possível ajustar a formulação com adição de leite em pó desnatado para tal classificação. Os dois iogurtes apresentaram resultados de parâmetros físico-químicos semelhantes aos encontrados em estudos anteriores, com destaque para a estabilidade da sinérese. Além disso, a adição da polpa de caju resultou em um aumento significativo no teor de vitamina C dos produtos finais, que se manteve em níveis satisfatórios durante todo o período de armazenamento, configurando-se como uma fonte de vitamina C que atende às necessidades diárias do consumidor. Todos esses fatores, associados aos altos escores em atributos

sensoriais e intenção de compra, principalmente na versão tradicional, revelam que as formulações apresentam potencial a ser explorado, agregando valor ao pseudofruto do caju e valorizando o mercado de laticínios.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro.

Referências

ABRANCHES, M. V. *et al.* Perdas De Vitaminas Em Leite E Produtos. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 2, p. 207–217, 2008.

ATAMIAN, S. *et al.* The characterization of the physicochemical and sensory properties of full-fat, reduced-fat and low-fat bovine, caprine, and ovine Greek yogurt (Labneh). **Food Science & Nutrition**, v. 2, n. 2, p. 164–173, 2014.

ATHMASELVI, K. A., KUMAR, C., POOJITHA, P. Influence of temperature, voltage gradient and electrode on ascorbic acid degradation kinetics during ohmic heating of tropical fruit pulp. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 11, n.1, p. 144–155, 2017.

BARBOSA, P. D. P. M.; GALLINA, D. A. Viabilidade de bactérias (starter e probióticas) em bebidas elaboradas com iogurte e polpa de manga. **Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.72, n.2, p. 85–95, 2017.

BRASIL. RDC 269 de 22 de setembro de 2005: **Regulamento Técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais**. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005.

BRASIL. Instrução Normativa nº68, de 12 de dezembro de 2006: **Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos**. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2006.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 46, de 23 de outubro de 2007: **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados**. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2007.

BRASIL. RDC nº54, de 12 de novembro de 2012: **Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar**. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2012.



CHOLAKOV, R. *et al.* Antimicrobial activity of *Leuconostoc lactis* strain BT17, isolated from a spontaneously fermented cereal beverage (Boza). **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v.7, n.1, p. 47–49, 2017.

COSTA, J. A. *et al.* Avaliação microbiológica e sensorial de doce em pasta elaborado com soro de leite e pedúnculo do caju. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.10, n. 1, p. 9–15, 2016.

COSTA, M. F. *et al.* Impact of prebiotics on the rheological characteristics and volatile compounds of Greek yogurt. **Lwt**, v. 105, p. 371–376, 2019.

DESAI, N. T.; SHEPARD, L.; DRAKE, M. A. Sensory properties and drivers of liking for Greek yogurts. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 12, p. 7454–7466, 2013.

FAO - Food and Agriculture Organization. **Dairy market review**, p. 1-15, Mar, 2020.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Codex Alimentarius: Milk and Milk Products**, 2011.

FARIAS, Y.M.; FARIAS, T. A. L. Avaliação da composição nutricional em embalagens de iogurtes grego comercializados em Recife-PE. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 1, p. 115–118, 2017.

FISZMAN, S. M.; LLUCH, M. A.; SALVADOR, A. Effect of addition of gelatin on microstructure of acidic milk gels and yoghurt and on their rheological properties. **International Dairy Journal**, v. 9, n. 12, p. 895–901, 1999.

HOBBS, D. A.; GIVENS, D. I.; LOVEGROVE, J. A. Yogurt consumption is associated with higher nutrient intake, diet quality and favourable metabolic profile in children: a cross-sectional analysis using data from years 1–4 of the National diet and Nutrition Survey, UK. **European Journal of Nutrition**, v. 58, n. 1, p. 409–422, 2019.

IAL – Instituto Adolf Lutz. **Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos**. In Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 1 ed., 2008.

KAPRASOB, R. *et al.* Fermentation-based biotransformation of bioactive phenolics and volatile compounds from cashew apple juice by select lactic acid bacteria. **Process Biochemistry**, v. 59, 2017.

LIMA, S. C. G. *et al.* Efeito da adição de diferentes sólidos na textura, sinérese e característica sensorial de iogurte firme. **Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 66, n. 383, p. 32–39, 2011.

LIMA, E. S. *et al.* Redução de vitamina C em suco de Caju (*Anacardium occidentale* L.) industrializado e cajuída. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1143–1146, 2007.

LUCIANO, R. C. *et al.* Revisão sobre a potencialidade do pedúnculo do caju na alimentação animal. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 5, n. 3, p. 53–59, 2011.

MACEDO, M. A. *et al.* Efeito da adição de polpa de caju sobre as qualidades sensoriais de iogurte integral adoçado com mel de abelha. **Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 1, 2014.

MAGALHÃES, A. U.; DELLA TORRE, A. C. G. Composição química e análise sensorial do iogurte grego comercializado no sul do estado de Minas Gerais. **Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 1, p. 10–18, 2018.

PAIVA, F. F. A.; GARRUTTI, D. S.; NETO, R. M. S. **Aproveitamento Industrial do Caju**. Embrapa - CNPAT, Documentos, 38, 2000.

PROMMAJAK, T.; LEKSAWASDI, N.; RATTANAPANONE, N. Biotechnological valorization of cashew apple: A review. **Chiang Mai University Journal of Natural Sciences**, v. 13, n. 2, p. 159–182, 2014.

RANASINGHE, J.; PERERA, W. Prevalence of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* stability in commercially available yogurts in Sri Lanka. **Asian Journal of Medical Sciences**, v. 7, n. 5, p. 97–101, 2016.

RAŠIĆ, J. L.; KURMANN, J. A. *Yoghurt: Scientific Grounds Technology, Manufacture & Preparation*. **Technical Dairy Publishing House**, 1978.

REVERS, L. M. *et al.* Obtenção e caracterização de iogurtes elaborados com leites de ovelha e de vaca. **Revista Ceres**, v. 63, n. 6, p. 747–753, 2016.

SABE, I. L. S. Avaliação das características físico-químicas e sensoriais de diferentes formulações do néctar de caju (*Anacardium occidentale* L.). (**Dissertação de Mestrado**). Universidade Eduardo Mondlane, Maputo, 2016.

SILVA, C. J. Desenvolvimento de preparado de fruta com massa base de casca de maracujá e aplicação em iogurte (**Dissertação de Mestrado**). Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, 2015.

SILVA, M. E. C.; PACHECO, M. T. B.; ANTUNES, A. E. C. Estudo da viabilidade tecnológica da aplicação de coacervado de proteínas de soro de leite com carboximetil celulose em iogurte probiótico. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 1, p. 30–37, 2010.

SILVEIRA, M. P. *et al.* Avaliação da qualidade de labneh (iogurte grego): estudo com consumidores. **Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 2, 2016.

TEIXEIRA, E.; BARBETTA, P. A.; MEINERT, E. M. **Análise Sensorial de Alimentos**, Editora UFSC, 1987.

TOLEDO, N. M. V. Aproveitamento de subprodutos da industrialização do maracujá para elaboração de iogurte (**Dissertação de Mestrado**). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

UDUWERELLA, G.; CHANDRAPALA, J.; VASILJEVIC, T. Minimising generation of acid whey during Greek yoghurt manufacturing. **Journal of Dairy Research**, v. 84, n. 3, p. 346–354, 2017.

VIANNA, F. S. *et al.* Development of new probiotic yoghurt with a mixture of cow and sheep milk: effects on physicochemical, textural and sensory analysis. **Small Ruminant Research**, v. 149, p. 154–162, 2017.



02 Capítulo

Caracterização física
de banana da terra:
verde, “de vez”
e madura

Capítulo 2

Caracterização física de banana da terra: verde, “de vez” e madura

Fabiane Rodrigues de Alencar*¹; Katiúcia Alves Amorim²;
Ulisses Rodrigues de Alencar³; Clarissa Damiani⁴

Resumo

A banana é a segunda fruta mais cultivada no Brasil, ficando em segundo lugar no consumo de frutas no país, seja ela nanica, maçã, prata, ouro ou banana da terra. A maior parte da produção brasileira é consumida *in natura*. A composição química da banana madura contém 26% de matéria seca; 3,8% de proteínas; 20% de extrativos não azotados; 1,1% de sais minerais; 2,6% de proteínas digestíveis e 22,4% de amido. Por ser uma fruta climatérica, suas características físico-químicas estão intimamente ligadas ao grau de maturação, evidenciando suas modificações físicas da cor da casca e polpa, bem como sua textura, que são fatores levados em consideração no momento da escolha do consumidor. O objetivo deste estudo foi avaliar as características físicas da banana da terra em três diferentes estádios de maturação (verde, “de vez” e madura). Foram realizadas análises da cor instrumental, atividade de água e textura das frutas *in natura*, das quais apenas as frutas maduras foram mantidas em refrigeração (4 a 5 °C) e as demais mantidas à temperatura ambiente até o momento das análises. Os resultados encontrados foram de acordo com os relatados na literatura, a exceção do valor obtido para luminosidade (36,25) na amostra de banana madura, revelando que a temperatura de estocagem para frutas climatéricas geram modificações perceptíveis diversas na estrutura física dessas frutas, influenciando na decisão de compra dos consumidores, bem como no íntegro aproveitamento pelas indústrias de processamento.

Palavras-chave: Açúcares. *Musa sapientum*. Rigidez. Senescência.

¹ Acadêmica em Engenharia de Alimentos, Bolsista em Iniciação Científica, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

² Nutricionista, Doutoranda em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil.

³ Engenheiro de Alimentos, Mestre, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

⁴ Engenheira de Alimentos, Mestre, Doutora, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

*E-mail para correspondência: fabiralencar@gmail.com

Introdução

A banana (*Musa sapientum*) é pertencente à família *Musaceae*, da ordem *Scitaminales* (DANTAS, 2010). Há relatos da existência de sua produção há cerca de 4.000 anos na Índia, Malásia e Filipinas. Sua origem não é definida, segundo a literatura acredita-se ter surgido no extremo Oriente, continente Asiático ou ainda no sul da China e Indochina (RANIERI; DELANI, 2014; DANTAS, 2010; PONTES, 2009). Esta espécie foi introduzida no continente Americano no século XV, trazida pelas grandes navegações portuguesas e espanholas. Apresentou fácil adaptação aos solos brasileiros, sendo cultivada pelos indígenas àquela época (SEBRAE, 2008).

As bananeiras são plantas monocotiledôneas, suas “árvores” podem alcançar cerca de 1,50 m a 8,00 m de altura, suas frutas formam cachos que se distribuem em pencas, podendo conter de uma a centenas de bananas, presas aos “troncos”, que segundo a botânica são pseudocauls (BARROS *et al.*, 2016). Possuem “troncos” curtos e subterrâneos denominados rizomas que geram as raízes responsáveis por emergirem novas frutas, esta parte da planta é popularmente chamada de “coração da fruta” (SEBRAE, 2008).

A fruta da banana da terra (*Musa sapientum*) pode alcançar peso médio de 500 g e medir cerca de 30 cm de comprimento. Tem formato curvilíneo, alongado, com coloração de casca amarelada e polpa com tom amarelo rosáceo, é rico em amido e açúcares (PONTES, 2009). Esta espécie surgiu do cruzamento genético das espécies *Musa acuminata* Colla e *Musa balbisiana* Colla, assim a banana da terra é definida como uma fruta triploide, que contém dois gametas femininos, devido a sua formação proveniente da mutação genotípica das espécies *Musa* (LIMA *et al.*, 2012).

A banana é a segunda fruta mais cultivada no Brasil, ficando atrás apenas do consumo de laranjas, o que segundo Castilho, Alcantara e Clemente (2014) se dá em razão aos atributos sensoriais e nutricionais da banana. As bananas são fontes de elevado valor energético, ricas em vitaminas A, do complexo B, fibras, proteínas, carboidratos, cinzas, potássio, fósforo, magnésio e outros elementos traços (ÁLVARES *et al.*, 2003; RANIERI; DELANI, 2014). Dentre as cultivares da banana consumidas no país, encontra-se a banana da terra (*Musa sapientum*).

Os maiores produtores, exportadores e importadores de bananas do globo são a Índia, Equador e Estados Unidos da América (EUA), respectivamente (LIMA *et al.*, 2012). Segundo Barros *et al.* (2016), a produção brasileira se encontra disseminada em todas as regiões do país, com aproximadamente 34% apenas na região Nordeste, seguida pelo Norte, Sudeste, Sul e Centro-Oeste (26%, 24%, 10% e 6%, respectivamente). Embora o Brasil seja um país fortemente produtor e

comercializador de frutas, favorecido pela condição de clima tropical em que se encontra, alguns autores calculam que cerca de 60% da produção nacional de bananas são perdidas durante as etapas de colheita, armazenamento e distribuição. Apenas 1,5% da safra total se destina ao mercado externo (VALLE; CAMARGOS, 2003; LIMA *et al.*, 2012; REETZ *et al.*, 2015).

Há dificuldades em se preservar essas frutas *in natura* por um maior período sem que haja grandes perdas para que os produtores e distribuidores consigam assegurar a integridade e qualidade na destinação final de seus produtos, em razão de se tratar de uma fruta perecível e climatérica. As frutas de bananeiras são conhecidas por conseguirem amadurecer mesmo quando retiradas da planta mãe. Logo depois de retiradas da planta mãe, a taxa respiratória e a produção de etileno endógeno são aumentadas, fatores estes responsáveis por desencadear o amadurecimento dessas frutas mesmo após a colheita em estágio fisiológico verde (ISRAELI; LAHAV, 2017).

Tradicionalmente, o grau de maturação das bananas está fortemente ligado à mudança de cor da casca. Na fase do desenvolvimento são verdes, ficando amareladas na fase do amadurecimento e na fase da senescência sua casca começa a ganhar pontos pretos. Além da cor, a maciez da banana é uma outra variável determinante do seu grau de maturação, tornando-se ela mais mole à medida que a fruta amadurece. Portanto, o grau de maturação da banana pode ser avaliado por sua textura (DIAS, 2011).

Assim, de modo que assegure a qualidade e padrão na produção de frutas e hortaliças, especialmente as climatéricas, o Brasil segue normas e regulamentos técnicos quanto à classificação das bananas, a fim de atender às exigências do mercado interno e externo. Essas padronizações foram criadas a partir do programa brasileiro para a modernização da horticultura e fruticultura, definindo-se diferentes critérios para a avaliação das diversas hortaliças e frutas. Segundo a Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP, 2006), a norma referente à classificação de bananas requer que os lotes de banana sejam caracterizados por grupo, classe (tamanho), subclasse (estádio de maturação), modo de apresentação e categoria (qualidade). Dentre esses parâmetros, o de maior complexidade é a determinação da subclasse, a qual separa as frutas de acordo com seu grau de maturação, sendo realizada através da coloração de cada fruta.

Diante disso, o que torna a padronização limitada e imprecisa é a falta de uma definição específica a respeito da classificação das cores. Embora já se tenham disponíveis processos automatizados para a leitura das cores, esse processo ainda é muito atribuído ao olhar humano de técnicos especializados, fazendo com que haja uma variação do valor comercial de região para região.



Logo, objetivou-se avaliar o estágio de maturação da banana da terra (*Musa sapientum*) a partir das análises da cor, atividade de água e textura da fruta *in natura* em três estádios diferentes de maturação, sendo banana verde, “de vez” e madura.

Material e Métodos

A matéria-prima para o presente estudo foi obtida em comércio local na cidade de Goiânia, Goiás. As análises foram realizadas nos laboratórios do Setor de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás. As frutas das bananas verdes e “de vez” foram estocadas à temperatura ambiente para análise posterior, enquanto que as frutas maduras foram mantidas em refrigerador doméstico sob temperatura de refrigeração (entre 4 e 5 °C), até o momento das análises.

Análise da cor

A determinação da cor foi realizada através da leitura das coordenadas L*, a* e b* do sistema CIE L*a*b* por meio do colorímetro, modelo DR 400, da marca Konica Minolta. As leituras foram realizadas em triplicata e, posteriormente, calculados os valores de C* (croma) e H (tonalidade) de acordo com as equações (1) e (2), respectivamente, conforme Minolta (1998).

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$H = \arctg(b^* . a^*) \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

a* = índice de vermelho; e

b* = índice de amarelo.

Análise da textura

A análise da textura foi feita com nove repetições, por ensaios de penetração em três pontos distintos (base do pedúnculo, ápice e centro) para três bananas com as cascas de cada estágio de maturação. As frutas foram posicionadas perpendicularmente à probe cilíndrica de aço inoxidável com diâmetro de 2 mm. O aparelho instrumental utilizado foi o texturômetro do modelo TA-Xt plus,



fabricante *Stable Micro Systems*, fabricado em Godalming – Inglaterra. A leitura dos dados foi expressa pelo próprio software analítico do equipamento (*Exponent Connect*).

A deformação da casca da banana foi calculada através da medida da diferença entre as distâncias final e inicial de perfuração, para cada estágio de maturação.

Determinação da atividade de água

A determinação da atividade de água foi feita em triplicata e realizada utilizando o equipamento *AquaLab*, modelo *CX-2*, fabricante *Decagon Devices*, fabricado em Washington - EUA. As bananas foram descascadas, amassadas e previamente ambientalizadas, para posterior quantificação da atividade de água sob temperatura média de 23,5 °C.

Análise estatística

Nos dados da análise da cor instrumental foram realizadas análise e interpretação estatística. Esses dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software estatístico *Excel*, da *Microsoft*, versão 2007.

Resultados e Discussão

A cor é um importante atributo na agricultura, em especial para frutas e hortaliças, indicando a qualidade e, muitas vezes, determinando o seu valor. Para obter uma avaliação objetiva da cor através dos Sistemas de Cores, têm sido aplicadas técnicas instrumentais utilizando espectrofotômetros (Munsell, Hunter, CIE, CIEL*a*b*). Os sistemas se baseiam numa mistura de cores a partir de quatro tons fundamentais (vermelho, amarelo, verde e azul), com relação à percepção humana dos atributos sensoriais de luminosidade, saturação e tonalidade analisados sob o espaço cromático em coordenadas retangulares. Entre estes sistemas, o sistema CIEL*a*b* é atualmente o mais aplicado, por definir o espaço cromático em coordenadas retangulares (L^* , a^* , b^*), no qual o L^* indica a luminosidade (escuro ao claro) e o a^* e b^* , são as coordenadas cromáticas, no qual a^* varia do vermelho ao verde ($+a^*$ indica vermelho e $-a^*$ indica verde) e b^* varia do amarelo ao azul ($+b^*$ indica amarelo e $-b^*$ indica azul) (MINOLTA, 1998).

Os resultados encontrados para os três diferentes estádios de maturação estão apresentados na Tabela 1.

Ao analisar a Tabela 1, observa-se que houve mudança na cor, de acordo com o estágio de maturação. Nota-se que embora o L* e o b* não tenham diferido estatisticamente ($p < 0,05$) entre os 3 estádios avaliados da banana, os seus valores diminuiram do estágio “de vez” para madura, evidenciando que a cor da casca passou do amarelo sem pontos pretos para o amarelo com pontos pretos e, conseqüentemente, perdeu luminosidade.

Tabela 1 - Médias \pm desvio padrão dos valores de luminosidade (L*), índice de vermelho (a*), índice de amarelo (b*), tonalidade (H) e croma (C*) da banana nos diferentes estádios de maturação

Estádios de maturação	L*	a*	b*	H	C*
Verde	45,71 ^a	-7,94 ^a	63,39 ^a	-82,85 ^a	63,90 ^a
Desvio padrão	2,69	1,81	1,83	1,70	1,77
“De vez”	59,46 ^a	4,20 ^a	53,69 ^a	85,60 ^a	53,86 ^a
Desvio padrão	4,55	1,69	4,34	1,39	4,47
Madura	36,25 ^a	5,31 ^a	34,53 ^a	80,00 ^a	34,99 ^a
Desvio padrão	12,06	0,27	14,88	4,70	14,68

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna (comparação entre tratamentos) não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Já o valor de a* obtido pela amostra da banana verde indica coloração verde (-7,94). Por se encontrar no início do desenvolvimento, esta fruta contém no tecido celular elevado teor de pigmentos de clorofila, o que caracteriza a cor verde. Conforme o estágio de maturação das bananas se intensifica (amostras “de vez” e madura), pôde-se observar um aumento no valor de a*, que neste caso é devido à degradação da clorofila pelo hormônio vegetal etileno (composto orgânico volátil produzido pela fruta, que se liga a receptores localizados no retículo endoplasmático, estimulando modificações químicas e bioquímicas como a coloração) (GOLDING *et al.*, 1998).

Em relação à cor amarela, todos os estádios apresentaram valor de b* acima de zero, justificando a cor amarelada das bananas, pois o pigmento amarelo (carotenóide) fica disponível no tecido vegetal após a degradação da clorofila (VILAS BOAS *et al.*, 2001). Porém, os valores diminuem conforme o estágio da banana tende para o maduro, isto porque a formação de pigmentos escuros é aumentada ao longo do desenvolvimento fisiológico da fruta. Segundo a Escala de Maturação de Von Loesecke a amostra madura, apresentada na Tabela 1, encontra-se no estágio 6 a 7 de cor (CEAGESP, 2006).

O croma é o valor de saturação da cor, ou seja, quanto maior o número, menor será a influência da luminosidade (MARTINAZZO *et al.*, 2008). Nota-se que os resultados do croma, decrescem nas bananas de estágio verde para o maduro, indicando a diminuição da intensidade da cor. Esses dados comportaram-se dentro do esperado, pois a banana, por ser uma fruta climatérica e de vida pós-colheita relativamente curta, revela mudanças perceptíveis durante seu acelerado amadurecimento, aumentando o escurecimento da casca, ainda mais se a região onde é cultivada possui clima quente (BRACKMANN *et al.*, 2008).

Já o H é o ângulo de tonalidade que se inicia do zero (vermelho) e segue em sentido anti-horário (90° (amarelo), 180° (verde), 270° (azul)) (MINOLTA, 1998). Os valores de tonalidade (H) para as amostras “de vez” (85,60) e madura (80,00) mostram a similaridade com a cor amarela, uma vez que estão próximas do ângulo de 90° . Os valores negativos para as amostras de banana verde são devido à predominância da coloração verde medidas pelos valores de (a^*), já que a tonalidade (H) é calculada a partir do arco tangente do produto dos índices colorimétricos de a^* e b^* . Segundo Morenval (2007), o espaço de cores, semelhantemente, pode ser descrito e localizado no espaço de cores CIEL^{*} C^*h^* , espaço tridimensional, cuja localização das cores utilizam coordenadas cilíndricas, onde L^* segue como coordenada para luminosidade, C^* como croma e h^* o ângulo de matiz, expresso em graus, comportando-se de 0° com localização no eixo trigonométrico de $+a^*$, seguindo até 90° para o eixo $+b^*$, 180° em $-a^*$, 270° em $-b^*$ e retornando para $360^\circ = 0^\circ$. Analisando por esta definição, o valor negativo da tonalidade (H) encontrado neste trabalho justifica-se pela localização do ponto no terceiro quadrante (entre 180° e 270°), o que coincide à influência da coordenada negativa para a^* encontrada neste estudo.

Estudo realizado por Pontes (2009) avaliou a cor de bananas da terra maduras e encontrou os seguintes valores, para L^* , a^* e b^* de 77,38, 7,82 e 34,98, respectivamente. Os valores de a^* e b^* estão de acordo com os obtidos neste estudo (5,31 e 34,53, respectivamente), enquanto que o valor de L^* encontrado (36,25) foi inferior ao encontrado por Pontes (77,38). A isto pode ser atribuído o acondicionamento sob refrigeração (4 e 5 °C) das bananas maduras, visto que frutas quando expostas ao estresse térmico sofrem efeitos na termotolerância ao frio ou calor, o que conseqüentemente leva a distúrbios fisiológicos que causam escurecimento da casca e polpa da fruta (BLEINROTH, 1995).

Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores de índice de vermelho (a^*), tonalidade (H) e croma (C^*) para os três estágios de maturação estudados, assim como relatado anteriormente para os valores de L^* e b^* .

Segundo Fagundes e Yamanishi (2001), as características de qualidade de uma fruta são influenciadas por fatores climáticos, variedade, época, local de cultivo, tratamento e manuseio pós-



colheita. A cor está dentro dessas características que sofrem alterações e influenciam na aceitação do produto.

Sabe-se que a taxa respiratória de frutas climatéricas é intensificada quando se retira a fruta da planta mãe, logo o desenvolvimento fisiológico da fruta será dependente dos picos mínimo, máximo, pós-climatérico e da produção de etileno, os quais seguem uma fase de acréscimo e posterior declínio na atividade respiratória. Em geral, bananas são colhidas ainda verdes, para facilitar a manipulação e prolongar o tempo de vida útil para que possam ser conservadas por um prazo mais longo, haja vista que frutas climatéricas apresentam taxas respiratórias elevadas. Segundo Abdi *et al.* (1998), o climatérico depende, de igual maneira, de fatores como: meios de cultivo, ponto de colheita, variedade da espécie e tempo de permanência da fruta à planta mãe.

A textura das bananas foi avaliada e os resultados da força e da deformação para cada um dos três estádios de maturação estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Médias \pm desvio padrão da força e da deformação das bananas em diferentes estádios de maturação

	Banana verde	Banana “de vez”	Banana madura
Força (N)	12,63 \pm 1,77	11,28 \pm 2,16	10,36 \pm 2,99
Deformação (mm)	2,26 \pm 0,49	2,95 \pm 0,81	8,58 \pm 1,53

Fonte: Dos autores, 2021.

Pôde-se observar na tabela acima, que a banana madura precisou de menor força e sofreu maior deformação para perfurar a casca, pois quanto mais madura a banana, mais macia, visto que no decorrer da maturação a fruta sofre mudanças na permeabilidade dos tecidos e na textura, sendo que neste período do amadurecimento ocorre o amaciamento da fruta, junto com as transformações bioquímicas que atingem os carboidratos, como as pectinas, o que conseqüentemente acarretará em maior deformação antes de ocorrer a perfuração da amostra. Já para a banana verde, foi necessária maior força e menor tempo para perfuração, devido à rigidez da casca e polpa. A rigidez corrobora para a firmeza da fruta a tal ponto de ter uma penetração mais estável do texturômetro, não ocorrendo o esmagamento/deformação da fruta. De acordo com Rocha (1984), a redução da firmeza é irremediável no decorrer do amadurecimento das frutas, pois o amaciamento vem da conversão do amido, substâncias da parede celular e do aumento da umidade da polpa, conseqüências das transformações bioquímicas dos vegetais.

Ao longo do amadurecimento das frutas, o amido passa pelo curso do metabolismo e é transformado em açúcares, que colaboram para o dulçor da fruta quando madura e ocorre a ação de

enzimas que degradam a parede celular, tornando essa estrutura menos rígida, promovendo a maciez da fruta (MEDINA; PEREIRA, 2004). Algumas frutas ao longo do desenvolvimento da maturação adquirem maciez, a qual está ligada à redução das substâncias pécicas que constituem os polissacarídeos das cascas desses vegetais, que sofrem modificações, caracterizando o seu amadurecimento (JEN; ROBINSON, 1984; VILAS BOAS *et al.*, 2000).

Ademais, segundo Chitarra e Alves (2001), a perda da textura em frutas climatéricas pode estar ligada com a degradação dos polissacarídeos advinda do *chilling*, o que a torna mais suscetível aos danos mecânicos. O *chilling* provoca uma série de alterações como depressões superficiais de coloração escura, devido à coagulação da seiva na região superficial, baixa taxa de conversão de amido a açúcares, descoloração da casca e/ou polpa, apresentando-se com estrias marrom-avermelhadas e a casca fica sem brilho, tendendo a aderir fortemente às camadas da subepiderme, sem brilho, se a descoloração for severa (MARTINS *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2004; BORGES, 2019). Portanto, pôde-se concluir que a injúria pelo frio foi um fator de escurecimento nas amostras da banana madura avaliadas neste estudo, por terem sido armazenadas em refrigeração no período anterior às análises. E, por se tratar de uma fruta climatérica, o que lhes confere um tempo de vida útil mais curto, devido à taxa respiratória ascendente e acelerada, características desses tipos de frutas.

Ainda fazendo constatações à textura das bananas, os autores Matsuura e Folegatti (2001) relatam que a conversão dos açúcares em amido, a qual ocorre justamente na fase de amadurecimento dessas frutas, está diretamente ligada às características da firmeza da fruta, pois, devido à ocorrência da troca osmótica da polpa com a casca da fruta, leva-se a um acréscimo de umidade nas polpas, fazendo com que a casca perca firmeza.

A atividade de água quantifica o teor da água livre contida no produto e, conseqüentemente, a sua disponibilidade para agir como solvente e participar das transformações químicas, bioquímicas e microbiológicas (LABUZA, 1977). Na Tabela 3 são apresentados os resultados da análise da atividade de água da banana da terra nos três estádios de maturação.

Tabela 3 - Médias ± desvio padrão da atividade de água (*A_w*) de bananas em diferentes estádios de maturação.

	Aw de banana verde	Aw de banana “de vez”	Aw de banana madura
M±DP	0,991±0,001	0,978±0,004	0,971±0,000

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: M: Média; DP: Desvio Padrão.

Nota-se que a atividade de água da banana da terra diminuiu de acordo com o ponto de maturação da fruta, ou seja, a fruta verde apresentou uma maior atividade de água em relação a fruta



madura, em razão da transferência da água da casca para a polpa no estágio de amadurecimento das frutas (MATSUURA; FOLEGATTI, 2001). As alterações na quantidade da água em um alimento afetam sua crocância, maciez, sabor, fraturabilidade, suscetibilidade microbiana, cor, textura e força para quebra.

Estudo realizado por Pontes (2009) determinou a atividade de água da banana madura e apresentou resultados similares (0,972) com a amostra testada. Os dados da atividade de água comprovam que bananas são frutas altamente perecíveis e suscetíveis a grandes perdas durante a produção, colheita, armazenamento e transporte (LIMA *et al.*, 2012).

Neves (2009) afirma que a fim de cumprir as exigências do mercado consumidor e garantir maior vida útil de frutas climatéricas, como a banana da terra, estas devem ser colhidas no ponto ideal de maturação, conhecido como desenvolvimento fisiológico “verde-maduro”, o que é dificultado devido à variação do ponto de colheita entre as cultivares (SOUZA, 2014).

Tendo em vista a desuniformidade no amadurecimento das bananas, o etileno exógeno encontra-se diretamente ligado a essa promoção do desenvolvimento fisiológico da fruta, o qual pode ser utilizado como regulador do seu amadurecimento para que se consiga alcançar a padronização no controle da maturação dessas frutas, sendo realizado pelo processo de climatização (BOTREL; SILVA; BITTENCOURT, 2001).

Levando em consideração as discussões apresentadas no presente estudo, a percepção do consumidor quanto à intenção de compra está fortemente ligada aos sentidos sensoriais que se julga para a escolha do produto. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), um importante fator determinante da qualidade na escolha da banana é a coloração, que serve como referência para o estabelecimento do padrão comercial para a definição de maturação dessa fruta, visto que a banana tem uma gama de cores ao longo do amadurecimento, de verde a amarelo (MATSUURA; CARDOSO; RIBEIRO, 2002). Minim e Dantas (2004) afirmam que a aparência, sendo ela forma, tamanho, coloração, ausência de defeitos, além do sabor, aroma e firmeza são os primeiros quesitos percebidos pelos consumidores na intenção de compra dos alimentos.

Portanto, a aplicação de métodos sensoriais possibilita prever a preferência dos consumidores antecedendo à compra. No caso de frutas e hortaliças, esse critério é significativo para a decisão de compra, pois o sentido visual, bem como tátil são as primeiras características admissíveis no momento da escolha desses alimentos. Assim, o consumidor sente-se mais confiante ao adquirir uma fruta que julgue madura e pronta para o consumo, quando esse produto se assemelha, visualmente, o mais próximo com o característico. Neste caso, o consumidor é instigado a escolher frutas de boa aparência

física. No caso da banana madura, é comum optar-se pelas frutas que possuam casca lisa, íntegra, de coloração amarelada, livre de pontos pretos e sem deformações físicas ou por agentes diversos.

Conclusão

Diante dos resultados obtidos para a avaliação física dos três diferentes estádios de maturação da banana da terra (*Musa sapientum*), verde, “de vez” e madura, foi possível concluir que as análises físicas da cor instrumental, textura e atividade de água foram pertinentes para a definição do desenvolvimento fisiológico dessas frutas, haja vista que são pontos iniciais a serem avaliados pelos produtores, a fim de garantir produtos de qualidade. Como considerações finais, a temperatura de armazenamento foi um fator preponderante neste trabalho, sendo importante estudos futuros sobre a sua influência nos distintos estádios de maturação da banana da terra.

Referências

- ABDI, N. *et al.* Responses of climacteric and suppressed-climacteric plums to treatment with propylene and 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, v. 14, n. 1, p. 29-39, 1998.
- ÁLVARES, V. *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, p. 155-160, 2003.
- BARROS, E. C. S. *et al.* A utilização da banana como fonte de renda para pequenos produtores. **Revista Científica Link Science Place**, n. 2, v. 3, p. 22-37, 2016.
- BLEINROTH, E. W. Matéria-Prima. In: INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS (Ed.). **Banana: Matéria-Prima, processamento e aspectos econômicos**. 2.ed. Campinas: ITAL, 1995. p. 133-196.
- BORGES, A. L. **Frutas do Brasil: banana fitossanidade**. 2. ed. Brasília DF: EMBRAPA, 2019. E-book.
- BOTREL, N.; SILVA, O. F.; BITTENCOURT, A. M. Procedimentos pós-colheita. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Banana pós-colheita**. Brasília, DF, 2001. p. 15-19. (Série Frutas do Brasil, 16).
- BRACKMANN, A. *et al.* Condições de atmosfera controlada para o armazenamento de maçãs 'Royal Gala' de diferentes tamanhos. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1049-1053, 2008.
- CASTILHO, L. G.; ALCANTARA, B. M.; CLEMENTE, E. Desenvolvimento e análise físico-química da farinha da casca, da casca in natura e da polpa de banana verde das cultivares maçã e



prata. **E-xacta**, v. 7, n. 2, p. 107-114. 2014. Disponível em: <http://www.unibh.br/revistas/exacta/>. Acesso em: 4 abr. 2021.

CHITARRA, B; ALVES, R. E. Tecnologia de pós-colheita para frutas tropicais. *In: SEMANA INTERNACIONAL DA FRUTICULTURA E AGROINDÚSTRIA*. 8., 2001, Fortaleza, **Anais [...]**, Fortaleza: SINDIFRUTA, 2001. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/43554383/Apostila-de-Pos-colheita-Frutal>. Acesso em: 4 abr. 2021.

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

COMPANHIA DE ENTREPÓSITOS E ARMAZÉNS GERAIS DO ESTADO DE SÃO PAULO – CEAGESP. 2006. **PBMH & PIF – Programa Brasileiro para a Modernização da Horticultura & Produção Integrada de Frutas**. Normas de Classificação de Banana. São Paulo: CEAGESP, 2006. (Documentos, 29).

DANTAS, J. D. **Características agrônômicas de bananeira em três ciclos de produção e reação de genótipos a *Cosmopolites sordidus* no Vale do Açu-RN**. 2010. 83 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Departamento de Ciências Vegetais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2010.

DIAS, J. S. A.; BARRETO, M. C. (Ed.). **Aspectos agrônômicos, fitopatológicos e socioeconômicos da sigatoka-negra na cultura da bananeira no Estado do Amapá**. Macapá: Embrapa Amapá, 95 p. 1 CD-ROM, 2011. ISBN 978-85-61366-14-8.

FAGUNDES, G. R.; YAMANISHI, O. K. Características físicas e químicas de frutos de mamoeiro do grupo 'solo' comercializados em 4 estabelecimentos de Brasília-DF. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 541-545, 2001.

GOLDING, J. B. *et al.* Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene dependent ripening processes in mature banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 14, n. 1, p. 87-98, 1998. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521498000325>. Acesso em: 16 abr. 2021.

ISRAELI, Y; LAHAV, E. Banana. **Encyclopedia of Applied Plant Sciences**, v. 3, n. 2, p. 363-381, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00072-1>. Acesso em: 3 mai. 2021.

JEN, J. J.; ROBINSON, M. L. Pectolytic enzymes in Sweet bell peppers (*Capsicum annum* L.) **Journal of Food Science**, v. 49. n. 4, p. 1045-1087, 1984.

LABUZA, T. P. The properties of water in relationship to water binding in food: a review. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 1, n. 2, p. 167-190, 1977.

LIMA. A. P. B. *et al.*. Avaliação das características físico-químicas de bananas desidratadas. *In: CONGRESSO NORTE NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO*. 7., 2012, Palmas, **Anais [...]** Disponível em: <http://propi.ifto.edu.br/ocs/index.php/connepi/vii/paper/viewFile/2062/2876>. Acesso em: 4 abr. 2021.



MARTINAZZO, A. P. *et al.* Avaliação colorimétrica de folhas secas de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf durante o armazenamento em diferentes embalagens. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 10, n. 2, p. 131-140, 2008.

MARTINS, R. N. *et al.* Armazenamento refrigerado de banana “prata anã” proveniente de cachos com 16, 18 e 20 semanas. **Ciência Agrotecnologia**, v. 31, n. 5, p. 1423-1429, 2006.

MATSUURA, F. C. A. U.; CARDOSO, R. L.; RIBEIRO, D. E. Qualidade sensorial de frutos de híbridos de bananeira cultivar Pacovan. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 263-266, 2002.

MATSUURA, F. C. A. U.; FOLEGATTI, M. I. S. **Banana pós-colheita**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2001.

MEDINA, V. M.; PEREIRA, M. E. C. Pós-colheita. *In*: BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. (Ed.). **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. Cap. 12.

MINIM, V. P. R.; DANTAS, M. I. S. Avaliação sensorial de produtos minimamente processados. *In*: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 3., 2004, Viçosa, **Anais [...]**

MINOLTA, K. **Precise color communication: color control from perception to instrumentation**. 1998. Disponível em: http://www.esac.pt/noronha/A.S/10_11/ColorCommunication.pdf. Acesso em: 11 jun. 2021.

MORENVAL, P. P. N. **Análise da diferença de cor entre exemplares de cores Munsell**. 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2007.

NEVES, L. C. *et al.* **Pós-colheita em frutos tropicais - banana**. *In*: NEVES, L. C. **MANUAL PÓS-COLHEITA DA FRUTICULTURA BRASILEIRA**, Londrina: EDUEL, 2009. 1. ed., p.387-397.

PONTES, S. F. O. **Processamento e qualidade de banana da terra (*Musa sapientum*) desidratada**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos de Alimentos) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2009.

RANIERI, L. M.; DELANI, T. C. O. **Banana verde (*Musa spp*): obtenção da biomassa e ações fisiológicas do amido resistente**. 2014. Disponível em: http://www.mastereditora.com.br/periodico/20141130_221712.pdf. Acesso em: 4 abr. 2021.

REETZ, E. R. *et al.* **Anuário brasileiro da fruticultura: 2014**. Santa Cruz do Sul, RS: Editora Gazeta, 2015. Disponível em: http://www.grupogaz.com.br/tratadas/eo_edicao/4/2015/03/20150301_106c8c2f1/pdf/4718_2015fruticultura.pdf. Acesso em: 4 abr. 2021.

ROCHA, J. L. V. Fisiologia pós-colheita de banana. *In*: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE BANANICULTURA. 1., 1984. Jaboticabal, **Anais [...]** Jaboticabal: FCAVJ/UNESP, 1984. p. 353-364.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO A MICRO E PEQUENA EMPRESA – SEBRAE. **Estudos de Mercados:** ESPN relatório completo. 2008.

SILVA, C. S. *et al.* Modificações físico-químicas da banana “prata”, submetida ao amadurecimento artificial em ambiente controlado: influência da temperatura e etileno. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, Vol. Sem., n. 6, p. 1-6, 2004.

SOUZA, E. G. **Amadurecimento, climatização e armazenamento refrigerado de frutos de bananeiras ‘BRS Platina’ e ‘Prata-Anã’**. 2014. 99 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2014.

VALLE, H. F.; CAMARGOS, M. **Yes, nós temos banana: história e receitas com biomassa de banana verde**. São Paulo: SENAC, 2003. 251 p.

VILAS BOAS, E. V. B. *et al.* Características da fruta. *In:* MATSUURA, F. C. A. U.; FOLEGATTI, I. S. **Banana: pós-colheita**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001, p.15-19.

VILAS BOAS, E. V. B. *et al.* Modificações texturais de tomates heterozigotos no loco alcobaça. **Revista de Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 7, p. 1447-1453, 2000.



03 Capítulo

*Influência da descrição
do produto ideal
na aceitação de
produtos comerciais*

Capítulo 3

Influência da descrição do produto ideal na aceitação de produtos comerciais

Katiúcia Alves Amorim ^{*1}; Silvia Deboni Dutcosky²;
Fernanda Salamoni Becker³; Clarissa Damiani³

Resumo

O aspecto sensorial é o que está mais ligado à escolha do produto alimentício pelo consumidor, deste modo a avaliação sensorial busca identificar as preferências do consumidor, em qualidades bem definidas, para um produto, sendo uma ferramenta muito valiosa para o fabricante. O objetivo desse estudo foi verificar se ao se perguntar sobre os atributos do produto ideal antes da escala hedônica, interfere na aceitação dos consumidores. Foram avaliadas três marcas comerciais de dois tipos de matrizes alimentares diferentes, chocolate ao leite (1, 2, 3) e suco de uva integral (1, 2, 3). Um total de 300 pessoas participaram do estudo, os quais foram divididos aleatoriamente, em dois grupos, o primeiro grupo primeiramente respondeu à pergunta da aceitação do produto (Hed 1), e o segundo grupo primeiramente respondeu como seria o produto ideal e depois a aceitação do produto (Hed 2). Para o suco de uva, para os dois métodos, a aceitação global foi de mais de 70% dos consumidores, para as três marcas de sucos avaliadas. Já para o chocolate, observou-se um comportamento diferente, entre os dois métodos, para os chocolates 1 e 2. Nota-se que, houve um aumento do percentual de consumidores que atribuíram notas maior que 6 para o chocolate 1, enquanto para o chocolate 2, essa proporção de consumidores diminuiu. Ao aplicar análise multivariada de componentes principais, observou que de modo geral as diferenças apresentadas entre os dois métodos, não foram significativas, ou seja, a apresentação dos atributos para o produto ideal, não influenciou significativamente a percepção sensorial dos produtos alimentares. Assim sendo a análise do produto ideal, pode ser aplicada antes da escala hedônica, sem prejuízos da aceitação do produto.

Palavras-chave: Chocolate ao leite. Consumidor. Suco de uva.

¹ Nutricionista, Doutoranda em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil.

² Engenheira Química, Mestre, Doutora, About Solution e Sensory Desing, Curitiba, Paraná, Brasil.

³ Engenheira de Alimentos, Mestre, Doutora, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

*E-mail para correspondência: kati_amorimm@hotmail.com

Introdução

Um dos produtos mais consumidos no mundo é o chocolate, o qual é impulsionado pelo despertar do prazer sensorial devido ao comportamento específico de fusão, aroma e sabor (JANUSZEWSKA; VIAENE, 2002; PARKER; PARKER; BROTCHE, 2006). O Brasil é o terceiro maior mercado de chocolates do mundo e de acordo com pesquisa do Ibope, 7 em cada 10 brasileiros são avaliadores de chocolate (SEBRAE, 2017). Sendo que o chocolate ao leite representa 51% da participação global dessa *commodity*, o consumo médio de chocolate por cada brasileiro, é de 2,4 kg por ano (incluindo Páscoa), isto corresponde à metade do que um americano consome (REZENDE; MELO, 2016).

Assim como o chocolate, as uvas são uma das maiores culturas de frutas do mundo. No ano de 2016, a produção mundial foi de cerca de 75,8 milhões de toneladas, das quais cerca de 21 milhões de toneladas para uvas de mesa. O mercado brasileiro apresenta crescimento tanto na oferta, quanto na demanda de derivados da uva, sendo que o consumo de suco integral/natural cresce de forma significativa, em decorrência do aumento da demanda provocada por consumidores mais adeptos a uma alimentação mais natural (COSTA, 2018). No Brasil são comercializados suco de uva integral em concentração natural; suco de uva concentrado parcialmente desidratado; néctar de uva, obtido pela diluição de suco concentrado em água e com adição de açúcares, sendo que o suco integral é 100% de polpa de fruta, mais próximo ao vinho, sem adição de água e açúcar (BRASIL, 2000).

De modo geral a qualidade dos alimentos envolve, três aspectos fundamentais: o microbiológico, o nutricional e o sensorial, sendo o aspecto sensorial, o que está mais ligado à escolha do produto alimentício pelo consumidor (ALAMAR, 2019). Portanto, ao desenvolver um novo produto, a aceitação e/ou preferência, por parte do consumidor, é de extrema importância, pois de nada vale para o consumidor um produto que apresente excelentes qualidades nutricionais, se o produto não preenche as necessidades e os anseios de quem o consumirá. Assim, a qualidade do alimento envolve, entre outras coisas, a satisfação do consumidor (MINIM, 2006).

Sendo assim, a avaliação sensorial busca identificar as preferências do consumidor, em qualidades bem definidas, para um produto, sendo uma ferramenta muito valiosa para o fabricante (LOURES *et al.*, 2010). Dentre as várias metodologias sensoriais, está a escala hedônica, a qual consiste em uma metodologia de graduação da aceitação em níveis de quantidade para alimentos, podendo ser empregada como um teste de qualidade para produtos não alimentícios, em que possui necessidade de avaliação subjetiva ou sensorial. Consiste, essencialmente, em apresentar as amostras dos produtos, de maneira totalmente ao acaso, e, então, pergunta-se aos avaliadores sobre sua

aceitação, conforme escala estabelecida (CIRILO, 2012). Essa escala baseia-se no grau de “gostar ou desgostar”, por meio da descrição das opiniões (que depois são convertidas em pontos), possuindo sempre um ponto central de indiferença; logo, apresentando número ímpar de classificações e variando, geralmente, entre três e nove pontos (TEIXEIRA, 2009).

Entretanto, são escassos os estudos que avaliam como a pergunta do produto ideal interferem na aceitação do produto final. Sendo assim o objetivo desse estudo foi verificar se ao se perguntar sobre os atributos do produto ideal antes da escala hedônica, interfere na aceitação dos consumidores.

Material e Métodos

O presente projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisas (CEP), da Universidade Federal de Goiás – UFG, e aprovado pelo número do parecer: 3.238.380, atendendo as exigências legais preconizadas pela Norma Operacional nº 001/2013 CONEP/CNS que aprova as normas regulamentadoras de pesquisa, envolvendo seres humanos (BRASIL, 2013).

Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial - LASA-UFG, do Setor de Engenharia de Alimentos da Escola, de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, entre os meses de abril e junho de 2019.

Material

Para a avaliação sensorial foram utilizadas três marcas comerciais de dois tipos de matrizes alimentares diferentes, chocolate ao leite (1, 2, 3) e suco de uva integral (1, 2, 3), os quais foram adquiridos em comércio local da cidade de Goiânia- Goiás.

Métodos

Recrutamento de Participantes

Os participantes foram recrutados, através de anúncios anexados em murais localizados nos setores dos cursos de graduação e pós-graduação da Universidade Federal de Goiás, no Campus Samambaia. Um total de 300 pessoas participaram do estudo. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e preencheram um questionário com o objetivo de caracterizar o perfil dos mesmos, antes de responderem os questionários sensoriais.



Análise sensorial

Os 300 participantes foram divididos aleatoriamente, em dois grupos de 150, sendo que o primeiro grupo primeiramente respondeu à pergunta da aceitação global do produto (Hed 1), utilizando escala hedônica de 9 pontos (nota 1 para “desgostei extremamente” e nota 9 para “gostei extremamente”), e o segundo grupo primeiramente respondeu como seria o produto ideal e depois a aceitação global do produto (Hed 2). Para a pergunta do produto ideal, utilizou-se o questionário CATA, composto por 22 atributos representativo de quatro categorias sensoriais: aparência, cheiro, sabor, consistência e sensação do consumidor, para o chocolate ao leite. E para o suco de uva integral o questionário CATA foi composto por 21 atributos representativo para quatro categorias de atributos sensoriais: aparência, cheiro, sabor e consistência. Neste estudo são apresentados apenas os dados da escala hedônica, os demais dados são apresentados em estudo anterior realizado pelos autores.

Todas as amostras foram apresentadas de forma monádica e codificadas com três dígitos aleatórios. Todas as amostras foram avaliadas em uma única seção, com uma ordem de apresentação balanceada e aleatorizada entre os avaliadores. As amostras de chocolate ao leite foram acondicionadas e apresentadas aos avaliadores para realização dos testes sensoriais, na temperatura de 15 ± 1 °C em pratos e o suco de uva integral na temperatura de refrigeração (5 ± 1 °C) em copos plásticos de 50 mL.

Análise dos dados

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software XLSTAT® e linguagem R. As análises dos dados, obtidos pela escala hedônica, foram realizadas pelo histograma de frequência dos escores, obtendo biplot da análise de componentes principais (ACP) e análise de agrupamentos hierárquico.

Resultados e Discussão

A grande maioria dos participantes (mais de 95%), eram compostos por estudantes de graduação da Universidade Federal de Goiás, com idade média de 21 anos, os demais participantes eram professores e técnicos de laboratórios da Universidade. Um dos critérios de classificação para



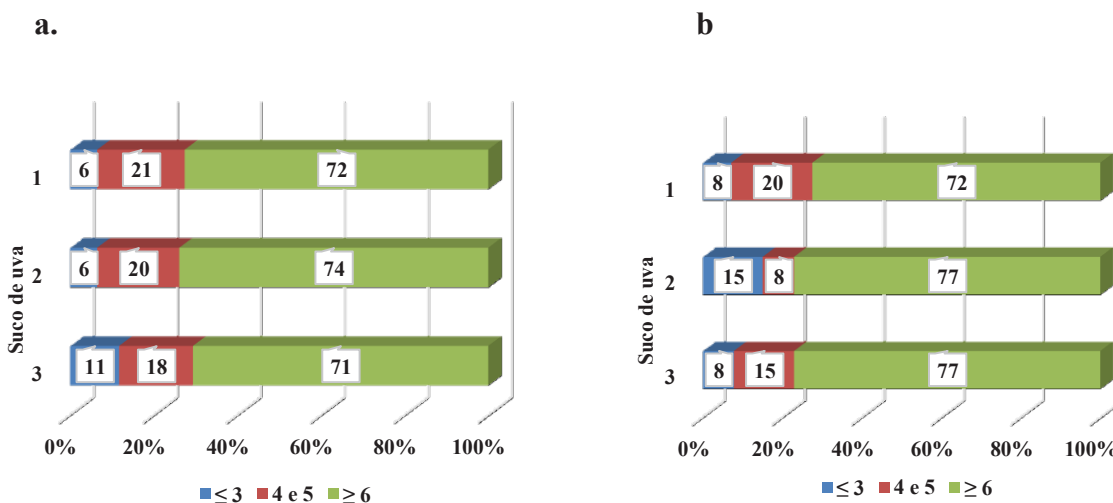
participar do teste sensorial, era que todos deviam possuir o hábito de consumir chocolate ao leite e suco de uva integral, no mínimo uma vez por semana.

A Figura 1 apresenta os resultados da aceitação global das três marcas comerciais de suco de uva integral, por meio de escala hedônica de nove pontos. Nota-se que para o suco de uva, para os dois métodos (Hed 1 e Hed 2), teve uma boa aceitação global, mais de 70% dos consumidores, atribuíram notas maiores que 6, para as três marcas de sucos avaliadas.

Pontes *et al.* (2010) também avaliaram três amostras de suco de uva comerciais, sendo suco de uva integral, suco concentrado de uva e néctar de uva, com provadores de uma Universidade, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos e notaram que o suco integral e o néctar de uva foram os mais aceitos pelos provadores, com nota média de 7,3, sendo que o suco integral foi o que apresentou maior intenção de compra. De acordo com Pontes *et al.* (2010), os consumidores gostam de sucos mais adocicados, no entanto preferem comprar o suco integral. Carmo, Dantas e Ribeiro (2014) constataram ainda que o principal motivo para a compra deste produto é o sabor, seguido pela qualidade, confiança, costume e preço.

Segundo Rizzon e Meneguzzo (2007) o suco integral deve apresentar características organolépticas marcantes da fruta que o gerou. Deve apresentar um gosto doce predominante, mas não excessivo em relação à sua acidez, uma das qualidades mais desejadas é o equilíbrio entre o gosto doce e ácido. Em boca, não deve apresentar gosto de cozido, de mofo ou outro gosto estranho desagradável. Conforme Amorim *et al.* (2020a) os atributos mais importantes para um suco de uva ideal, são cor, cheiro e sabor característico, além de gostoso e boa consistência.

Figura 1 - Classificação hedônica para o suco de uva, (a) Hed 1 (%), (b) Hed 2 (%)



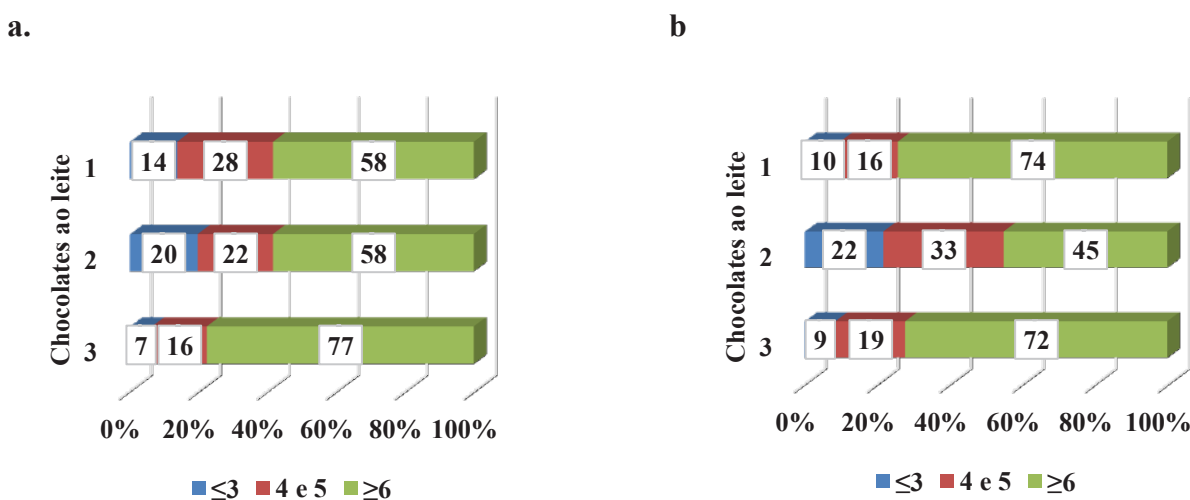
Fonte: Dos autores, 2021.

Já para o chocolate (Figura 2), notou-se comportamento diferente, entre os dois métodos, para os chocolates 1 e 2. Observa-se que no Hed 1, os chocolates 1 e 2 não foram diferentes entre si, enquanto no Hed 2, observou uma boa aceitação por parte dos consumidores para o chocolate 1 (74%), enquanto para o chocolate 2, apenas 45% dos consumidores atribuíram notas maior que 6. Ao comparar os dois métodos entre si, também é possível notar que, houve um aumento do percentual de consumidores que atribuíram notas maior que 6 para o chocolate 1, do Hed 1 para o Hed 2, enquanto para o chocolate 2, essa proporção de consumidores diminuiu, essa diferença pode estar relacionada as diferenças metodologias utilizadas no estudo.

De acordo com Nascimento *et al.* (2019) os principais critérios para determinar a aceitabilidade do chocolate pelo consumidor são as características sensoriais, como o sabor, aroma, textura e cor. Sendo que a característica sabor, comumente considerada a mais importante e a mais estudada, para a aceitação do chocolate, no entanto alguns autores apontam a aparência e a textura como os atributos-chave na escolha e aceitação do consumidor, essenciais para a qualidade do (DOLATOWSKA-ZEBROWSKA *et al.*, 2019; BECKETT, 2008).

Amorim *et al.* (2020b) avaliou quais os atributos sensoriais de chocolate ao leite ideal e observaram que o mesmo é caracterizado por cor, cheiro e sabor característico, boa aparência e boa textura, saboroso, derrete suave e sensação de prazer sem culpa.

Figura 2 - Classificação hedônica para o chocolate ao leite, (a) Hed 1 (%), (b) Hed 2 (%)



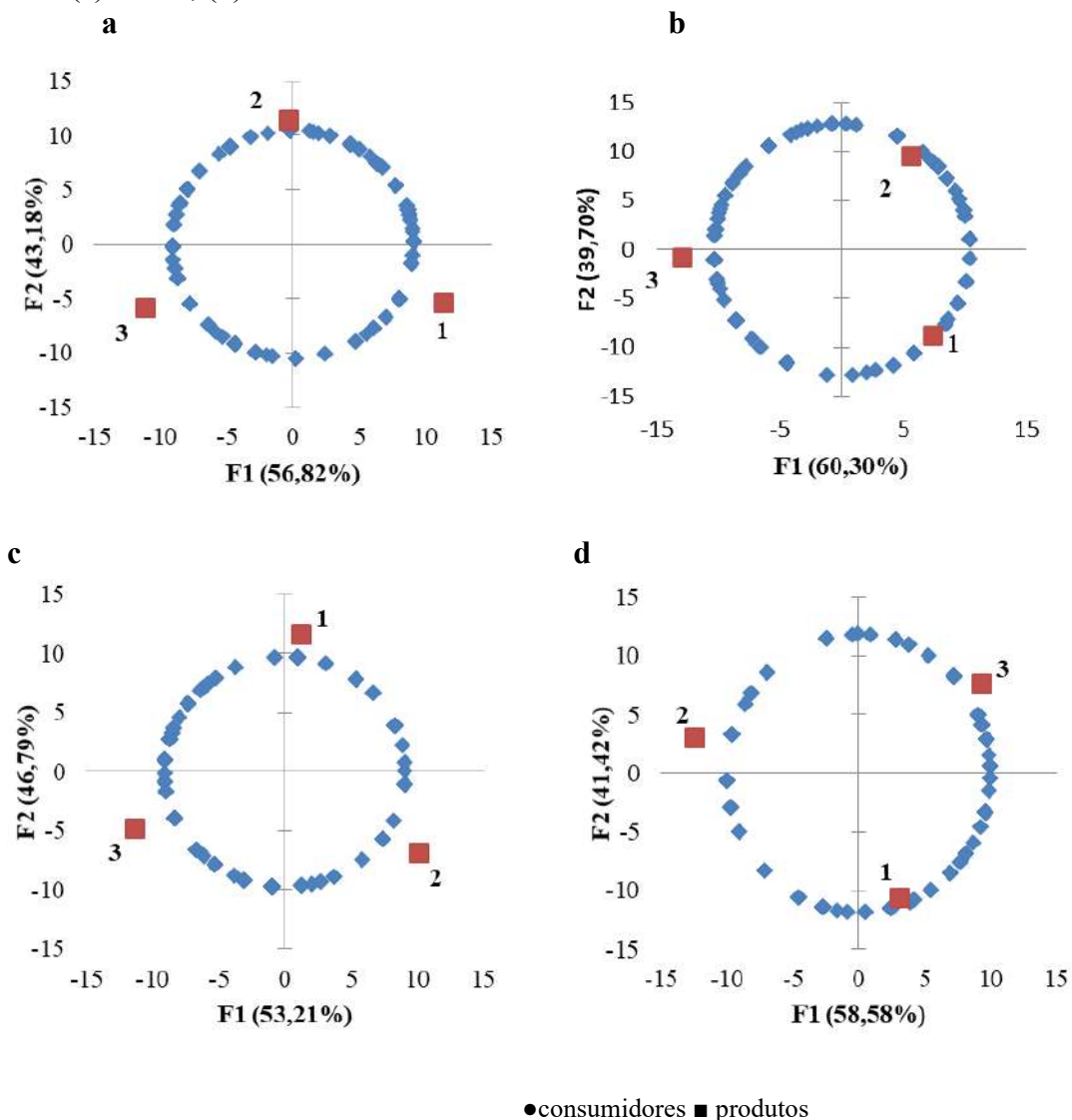
Fonte: Dos autores, 2021.

Para uma melhor avaliação da aceitação global, dos produtos em análise, aplicou-se análise multivariada de componentes principais, para o suco de uva e chocolate ao leite (Figura 3), a fim de

verificar a robustez dos dados. Verifica-se, na análise de componentes principais, que para os dois produtos avaliados, independentemente do método aplicado (Hed 1 e Hed 2), as amostras analisadas estão distantes, em diferentes quadrantes e os consumidores estão bem distribuídos por todo o mapa de preferência, caracterizando assim, a existência de segmentação.

Sabe-se que, uma das melhores formas de se identificar e caracterizar segmentos de mercado, é por meio de análise de agrupamentos hedônicos, a qual irá identificar segmentos com base nas similaridades dos gostos e desgostos pelos produtos. A segmentação pressupõe heterogeneidade na preferência (nas escolhas) dos consumidores por produtos (DUTCOSKY, 2013). Sendo assim, realizou-se a análise de cluster de agrupamento hierárquico (Figuras 4, 5, 6 e 7).

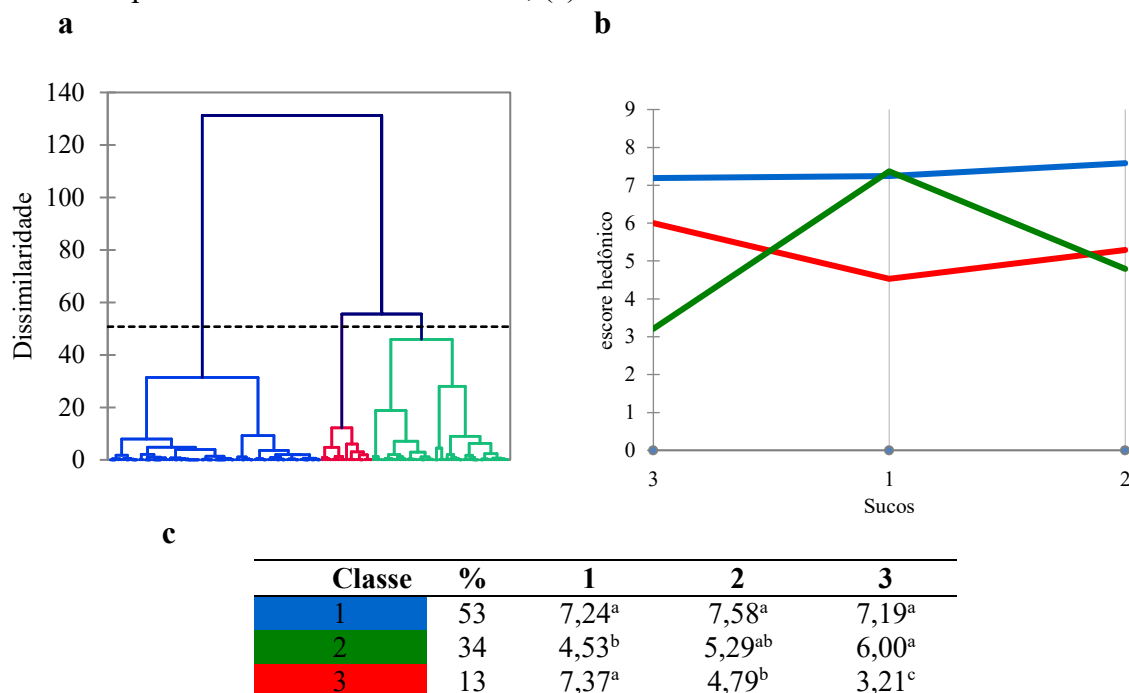
Figura 3 - Análise de componentes principais para o suco de uva (a) Hed 1, (b) Hed 2 e chocolate ao leite (c) Hed 1, (d) Hed 2



Fonte: Dos autores, 2021.

Para o suco de uva, o agrupamento hierárquico dividiu os consumidores em três classes. A classe 1, composta por mais de 50% dos consumidores, exibiu comportamento semelhante em ambos os métodos Hed 1 (Figura 4) e Hed 2 (Figura 5), os quais gostaram igualmente das três amostras em teste, ou seja, não apresentaram preferências por nenhum dos produtos, ou não conseguiram discriminar as amostras. Já a classe 2, para os dois métodos, aprovou o suco 3, sendo que para o Hed 1, o suco 3 não foi diferente significativamente do suco 2, enquanto para o Hed 2 os sucos 1 e 2 foram rejeitados. A classe 3, para o Hed 1, menor grupo, aprovou apenas o suco 1, mostrando diferenças significativas entre todos os sucos avaliados, enquanto para o Hed 2, os sucos 1 e 2 foram aceitos e o suco 3 rejeitado.

Figura 4 - Análise de *Clusters*, para o suco de uva, Hed 1: (a) dendograma, (b) perfil de classes referentes às preferências dos consumidores, (c) médias hedônicas



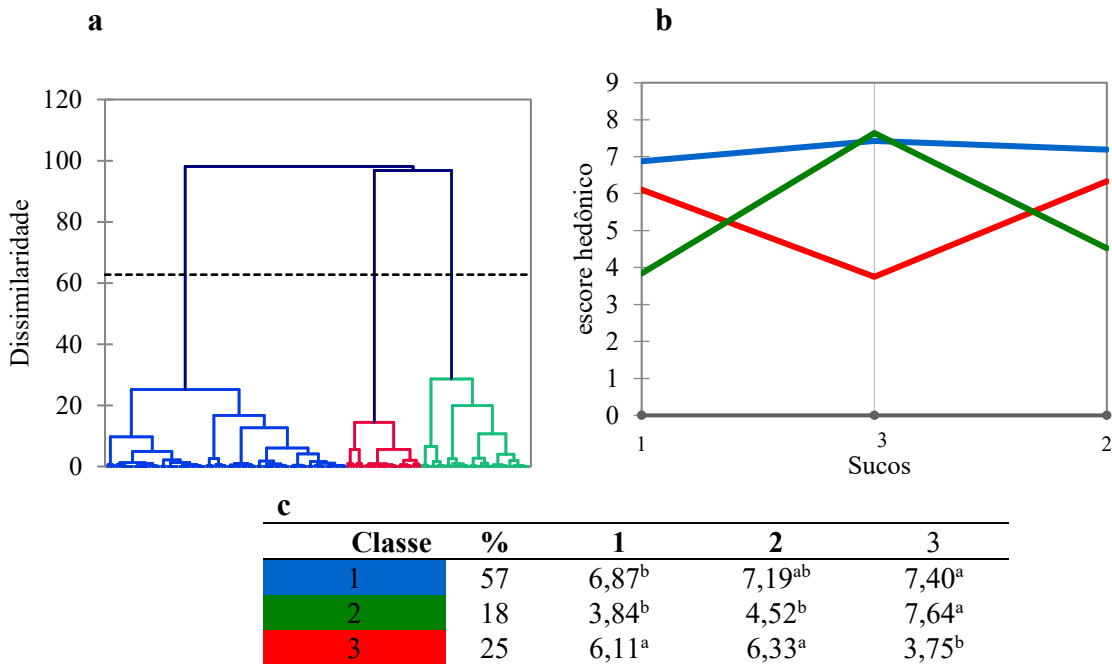
*Letras diferentes apresentam diferenças estatísticas, p-value <0,05, teste Tukey.

Fonte: Dos autores, 2021.

De acordo com Brito e Da Rosa Borges (2018) os consumidores que compram sucos de frutas podem ser classificados em quatro grandes grupos: os que preocupam com a saúde, os que procuram produtos Premium, os que preferem comprar produtos duráveis e aqueles sem preferências específicas. E ainda, que existem 12 fatores que influenciam o consumidor na hora de comprar sucos de uva, sendo benefícios para a saúde, por retardar o envelhecimento, por ser um produto energético, assim como devido ao sabor, a qualidade do produto, a confiança na marca, o costume, o preço e o

valor nutricional/produto nutritivo, outros fatores que influenciam são os ingredientes utilizados na confecção do produto, o prazo de validade e o país de fabricação.

Figura 5 - Análise de *Clusters*, para o suco de uva, Hed 2: (a) dendograma, (b) perfil de classes referentes às preferências dos consumidores, (c) médias hedônicas



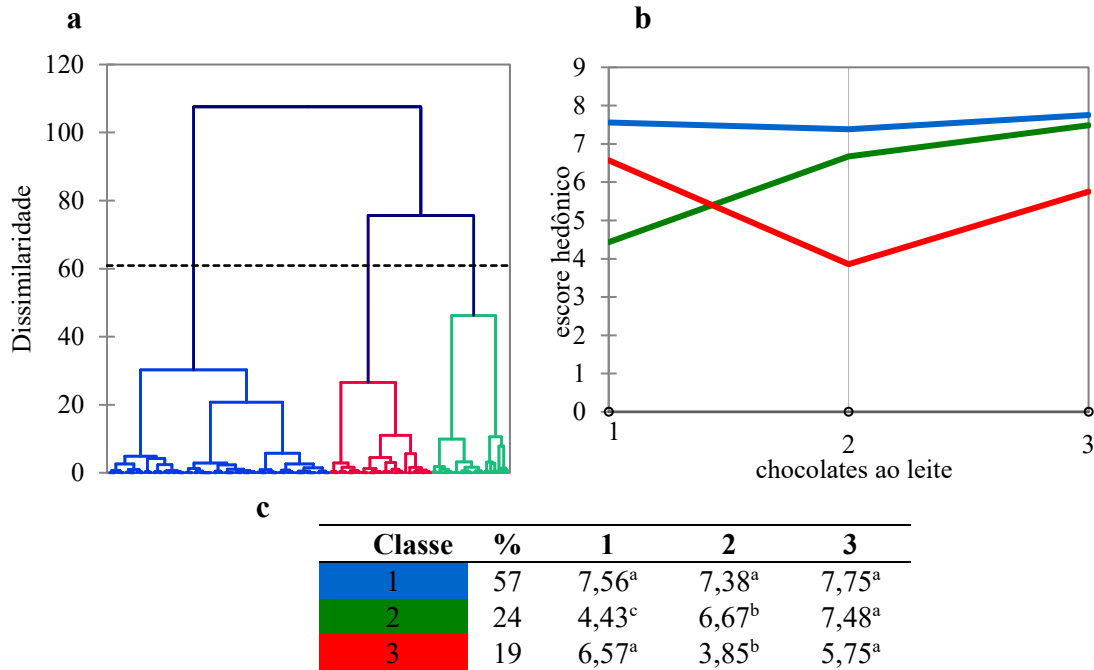
*Letras diferentes apresentam diferenças estatísticas, p-value <0,05, teste Tukey.

Fonte: Dos autores, 2021.

Em relação ao chocolate, a análise de agrupamento hierárquico, também dividiu, os consumidores em três classes. A classe 1, maior grupo (Hed 1 - Figura 6 e Hed 2 -Figura 7), aprovou todos os chocolates avaliados nos dois métodos. A Classe 2, por sua vez rejeitou o chocolate 1, sendo que para o Hed 1 todos os chocolates apresentaram diferenças significativas, enquanto para o Hed 2 não houve diferença significativa entre esses dois chocolates. Já a classe 3 rejeitou o chocolate 2, e para o Hed 1 não houve diferença na aceitação entre os chocolates 1 e 3 e para o Hed 2 houve diferença entre todos os chocolates avaliados.

Santos, Fortes e Campos (2017) avaliaram as características sensoriais de quatro diferentes marcas reconhecidas de chocolate e demonstraram que não existem diferenças sensoriais significativas entre as marcas estudadas. Santos, Fortes e Campos (2019) demonstraram em outro estudo, que as características como sabor, qualidade, variedade e marca influenciam na hora de comprar um chocolate, e que os consumidores além de valorizar o produto, também valorizam o preço no momento da compra.

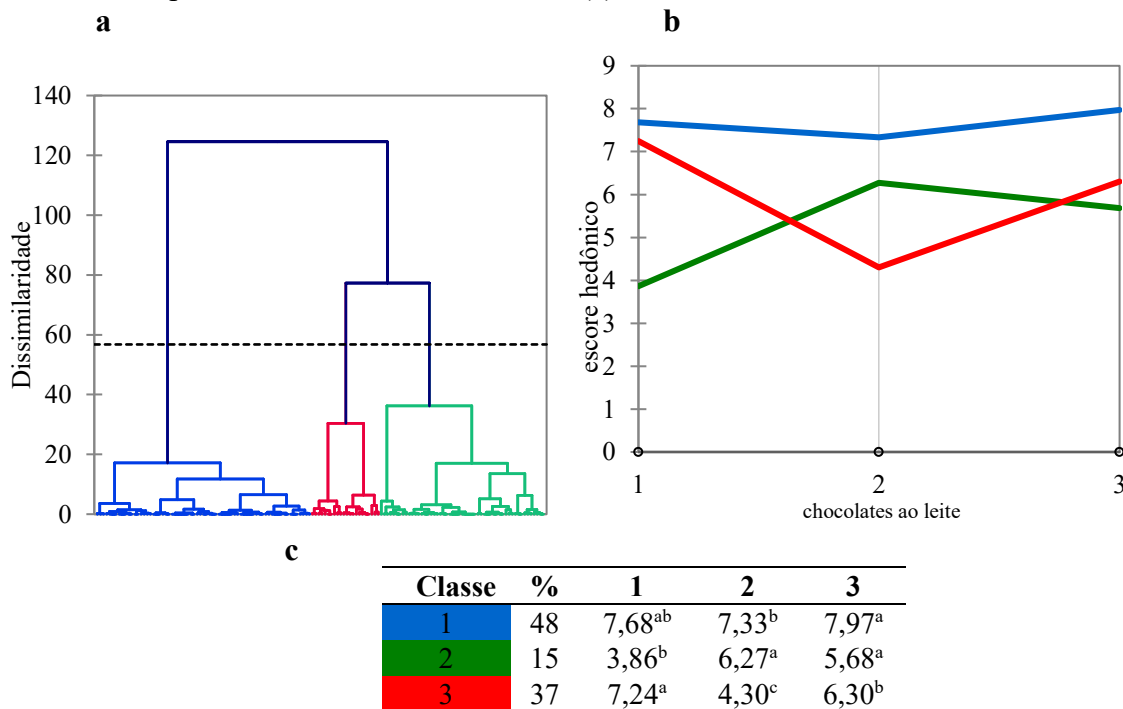
Figura 6 - Análise de *Clusters*, para o chocolate ao leite, Hed 1: (a) dendograma, (b) perfil de classes referentes às preferências dos consumidores, (c) médias hedônicas



*Letras diferentes apresentam diferenças estatísticas, p-value <0,05, teste Tukey.

Fonte: Dos autores, 2021.

Figura 7 - Análise de *Clusters*, para o chocolate ao leite, Hed 2: (a) dendograma, (b) perfil de classes referentes às preferências dos consumidores, (c) médias hedônicas



*Letras diferentes apresentam diferenças estatísticas, p-value <0,05, teste Tukey.

Fonte: Dos autores, 2021.

De modo geral as diferenças apresentadas, para os dois produtos analisados, suco de uva integral e chocolate ao leite, entre os dois métodos (Hed 1 e Hed 2), não foram tão significativas, ou seja, ao se apresentar os atributos para o produto ideal antes da avaliação hedônica, não influenciou de forma significativa a percepção sensorial dos consumidores, em relação aos produtos alimentares testados, podendo assim a análise do produto ideal, ser aplicada antes da escala hedônica.

Conclusão

Conclui-se que os sucos de uva integral testados apresentaram boa aceitação por parte dos consumidores, independente do método aplicado. Já para o chocolate observou-se um comportamento diferente, entre os dois métodos, para os chocolates 1 e 2.

Ao aplicar análise multivariada de componentes principais, observou uma segmentação de mercado e notou-se que de modo geral as diferenças apresentadas entre os dois métodos, não foram significativas, ou seja, a apresentação dos atributos para o produto ideal, não influenciou significativamente a percepção sensorial dos produtos alimentares. Sendo assim, a análise do produto ideal, pode ser aplicada antes da aceitação global.

Referências

ALAMAR, P. D. **Análise Sensorial**. Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2019.

AMORIM, K. A. *et al.* Questionário cata para avaliar os atributos sensoriais de suco de uva integral ideal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS 20, 2020a, online. **Anais [...]** online, 2020. Disponível em: <https://proceedings.science/cbcta-2020/papers/questionario-cata-para-avaliar-os-atributos-sensoriais-de-suco-de-uva-integral-ideal>. Acessado em: 01 de maio de 2021.

AMORIM, K. A. *et al.* Questionário cata para avaliar os atributos sensoriais de chocolate ao leite ideal. In: SENSELATAM 2020 - CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIAS SENSORIAIS E DO CONSUMIDOR, 2020b, online. **Anais [...]** online, 2020. Disponível em: <https://proceedings.science/senselatam-2020/papers/questionario-cata-para-avaliar-os-atributos-sensoriais-de-chocolate-ao-leite-ideal?lang=es>. Acessado em: 03 de maio de 2021.

BECKETT, S.T. **The Science of chocolate**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2 nd, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto nº 3510, 16 de junho de 2000. Altera dispositivos do Regulamento aprovado pelo Decreto 2.314 de 04 de setembro de 1997, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Norma Operacional nº 001/ 2013**. Dispõe sobre a organização e funcionamento do Sistema CEP/CONEP, e sobre os procedimentos para submissão, avaliação e acompanhamento da pesquisa e de desenvolvimento envolvendo seres humanos no Brasil. Disponível em: <file:///C:/Users/user/Downloads/NORMA%20OPERACIONAL%20N%C2%BA%200012013%20CONEP%20-%20CNS.pdf>. Acesso em: 20 de abril de 2021.

BRITO, M; DA ROSA BORGES, G. Fatores que influenciam na compra do suco de uva. **Anais [...]** SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, v. 10, n. 2, 2018.

CARMO, M. C. L.; DANTAS, M. I. S; RIBEIRO, S. M. R. Caracterização do mercado consumidor de sucos prontos para o consumo/Characterization of the ready to drink juice consumer market. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 4, p. 305, 2014.

CIRILO, V.; **Escala Hedônica**. Maceió 2012 Disponível em: [http://www.trabalhosfeitos.com/ensaios/Escala-Hed%C3%B4nica-Analise Sensorial/389925.html](http://www.trabalhosfeitos.com/ensaios/Escala-Hed%C3%B4nica-Analise%20Sensorial/389925.html). Acesso em: 18 de abril de 2021.

COSTA, F. S. Uva industrial. **Conab**. 2018.

DOLATOWSKA-ZEBROWSKA, K. *et al.* Characterization of thermal properties of goat milk fat and goat milk chocolate by using DSC, PDSC and TGA methods. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 138, p. 2769 - 2779, 2019.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 2013. 531p.

JANUSZEWSKA, R; VIAENE, J. Acceptance of Chocolate by Preference Cluster Mapping across Belgium and Poland. **Journal of Euromarketing**, v. 11, n. 1, p. 61 - 86, 2002.

LOURES, M. *et al.* Análise descritiva por ordenação na caracterização sensorial de iogurte diet sabor morango enriquecido com concentrado proteico do soro. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, p.661-668, 2010.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial**: estudo com consumidores. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2006. 225 p.

NASCIMENTO, S. D. R. *et al.* Desenvolvimento e análise sensorial de chocolates em barra adicionados de polpa de gabioba desidratada. **Desafios-revista interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, 6(Especial), p. 100-109, 2019.

PARKER, G.; PARKER, I.; BROTHIE, H. Mood state effects of chocolate. **Journal of Affective Disorders**, v. 92, n. 2, p. 149 - 159, 2006.

PONTES, P. R. B. *et al.* Atributos sensoriais e aceitação de sucos de uva comerciais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, 2010.

REZENDE, J. F.; MELLO, S. Um show de cacau. **Revista brasileira de casos de ensino em administração**. v. 6, n. 2, 2016.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. **Suco de uva**. 1 ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007.

SANTOS, M. L. T.; FORTES, R. R.; CAMPOS, K. A. A Influência do marketing na compra de chocolate. **Intercursos Revista Científica**. v. 18, n. 1, 2019

SANTOS, T. M. L; FORTES, R. R.; CAMPOS, K. A. Percepção sensorial sobre chocolates ao leite. In: 9º **Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS**, 2017.

SEBRAE - Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas Bahia. Estudo de Mercado Chocolate Gourmet. 2017. Disponível em: Acesso em: <https://www.sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/UFs/BA/Anexos/Chocolate%20gourmet%20na%20Bahia.pdf>. 18 de abril de 2021.

TEIXEIRA, L.V. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, p. 1-14, 2009.

04 Capítulo

Efeito da temperatura
na germinação induzida
sobre as propriedades
tecnológicas e sensoriais
de arroz integral



Capítulo 4

Efeito da temperatura na germinação induzida sobre as propriedades tecnológicas e sensoriais de arroz integral

Thauana Heberle*¹; Wyller Max Ferreira da Silva¹; Lucas Ávila do Nascimento¹; Jennifer Ferreira Ribeiro Saraiva²; Bianca Pio Ávila³; Márcia Arocha Gularte⁴

Resumo

A germinação é utilizada para melhorar a qualidade nutricional através de mudanças que ocorrem internamente no grão. Para isso, alguns fatores são cruciais para acontecerem essas mudanças, como: elevada atividade de água, temperatura ideal para cada cultivar e ausência de danos na estrutura causados por insetos. Entretanto, a germinação também propicia alterações em algumas propriedades, podendo não serem desejáveis para o grão. Desta forma, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da germinação induzida de cultivares de arroz em temperaturas diferentes, bem como avaliar os seus efeitos sobre as propriedades tecnológicas e sensoriais dos grãos de arroz. As cultivares IRGA 430 e Titan CL foram submetidas ao processo de germinação durante 24 horas, havendo variações na temperatura (25 °C e 30 °C). Estes foram submetidos à análise de cocção, perfil textuométrico e avaliados sensorialmente através do teste de dominância temporal de sensações. As cultivares que passaram pelo processo de germinação obtiveram os menores tempos de cocção, sendo 19,2min para a cultivar Titan CL com 25 °C de germinação. A amostra mencionada também obteve o maior valor para o parâmetro dureza, no perfil textuométrico, visto que a germinação aumenta a resistência ao esmagamento no processo de mastigação do arroz. Resultado esse encontrado no teste sensorial, visto que a sensação “firme” foi a dominante para a amostra. Já na IRGA 430 com germinação a temperatura de 25 °C, a sensação dominante foi “macio”. Diferenças na composição podem ser atribuídas ao processo de germinação, além da cultivar ser um fator que pode interferir nessas variações.

Palavras-chave: Avaliação textuométrica. Cocção. Qualidade sensorial.

¹ Doutorandos, Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

² Graduanda, Centro de Ciência Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

³ Doutora, Engenheira Agrônoma, Universidade Federal de Pelotas.

⁴ Docente, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

*E-mail para correspondência: thauana.heberle@hotmail.com

Introdução

O arroz (*Oryza sativa* L.) faz parte da dieta da maior parte da população mundial. O consumo de arroz integral tem recebido maior atenção pelo seu potencial redutor frente ao risco de doenças crônicas, por ser fonte de compostos bioativos que são prontamente solúveis em água, como polifenóis, fibra dietética, vitaminas e minerais (PARK *et al.*, 2020). Estes compostos se concentram majoritariamente nas camadas periféricas do grão (testa e aleurona), e estão presentes em quantidades superiores em grãos pigmentados, reforçando a importância do consumo de grãos integrais (VERMA; SRIVASTAV, 2020).

Apesar do seu valor nutricional e dos seus compostos bioativos, pesquisas apontam uma baixa receptividade do consumidor ao arroz integral devido às suas características de cocção, pois os grãos demoram mais tempo para cozinhar e são mais rígidos e escuros devido às fibras e camada de cera, localizada no tegumento e no pericarpo que retardam a transferência de água para o interior do grão, resultando em longo tempo de cocção (BUI *et al.*, 2014; MONGE-ROJAS *et al.*, 2014). No entanto, diversas pesquisas têm sido realizadas para propor alternativas para facilitar a cocção e melhorar a textura do grão.

A germinação é usada para melhorar a qualidade nutricional de grãos, além de serem utilizados como novos ingredientes na indústria de alimentos para elaboração de barras de cereais, massas, doces, biscoitos, pães, sopas instantâneas, entre outros (DING *et al.*, 2018). A germinação auxilia na formação de compostos bioativos (KIM *et al.*, 2021), estimulando a produção de fitoquímicos presentes, até o momento em menor quantidade nos grãos de arroz, como ácido gama-aminobutírico (GABA), ácido ascórbico, tocotrienóis e compostos fenólicos (NASCIMENTO *et al.*, 2020).

A germinação causa alterações internas no grão, o que resulta nos benefícios já citados. No entanto, para que este processo ocorra é necessário que haja elevada atividade de água, para reativação e pleno funcionamento de enzimas, temperatura amena específica para cada grão ou cultivar – normalmente entre 20 e 30 °C – e ausência de avarias físicas causadas por ataques de insetos ou processos prévios como polimento ou parboilização em arroz (FINNIE; BROVELLI; NELSON, 2019). O descontrole das condições de germinação pode favorecer a formação de colônias microbianas que, ao deteriorarem o grão, irão produzir compostos de sabor desagradável ao paladar humano e, em casos mais graves, de extrema contaminação, podem ser responsáveis por doenças como aspergilose e penicilose, ambas consideradas graves por atacarem órgãos vitais como coração, pulmão e rins, causadas pelos fungos *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., respectivamente; ou oxidação enzimática dos lipídios do grão integral pelas próprias enzimas endógenas do grão (principalmente

lipases e lipoxigenases), resultando em aldeídos e ácidos de sabor e odor desagradável (GAO *et al.*, 2021; KIM *et al.*, 2021; SEGURA *et al.*, 2018). Portanto, a avaliação sensorial se torna muito importante em grãos de arroz integral germinado.

O teste temporal de dominância de sensações (TDS) é uma proposta sensorial recente, na qual é realizado por avaliadores treinados que avaliam a sensação e/ou emoção dominante de um alimento, notando sua intensidade ao longo o tempo, até que a sensação termine ou outro atributo se torne dominante (PINEAU *et al.*, 2009) e, segundo Albert *et al.* (2012), os resultados desta técnica podem ser relacionados com a aceitabilidade do consumidor frente aquele produto.

Desta forma, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da germinação induzida de cultivares de arroz em temperaturas diferentes, bem como avaliar os seus efeitos sobre as propriedades tecnológicas e sensoriais dos grãos de arroz.

Material e Métodos

Foram utilizadas duas cultivares de arroz (*Oryza sativa L.*), IRGA 430 e Titan CL, provenientes do IRGA – Instituto Riograndense do Arroz e RiceTec Sementes LTDA, respectivamente.

Os grãos de arroz integral foram germinados segundo metodologia de Ng *et al.* (2013), com modificações. Os grãos foram imersos em solução de hipoclorito de sódio 2,5% (v/v) por 20 minutos, seguida por lavagem com água destilada. Em seguida, os grãos foram acondicionados em câmaras do tipo BOD a 25 e 30 °C ± 1 °C a 80% de umidade relativa, por um período de 24 horas. Os grãos germinados foram secos em estufa com circulação de ar forçada a 40 °C até obter 13% de umidade. As amostras foram descascadas em engenho de provas Zaccaria, modelo PAZ-1DTA, previamente regulado para as dimensões dos grãos de cada cultivar, conforme procedimento preconizado pelo próprio laboratório de grãos da Universidade Federal de Pelotas – UFPel.

O tempo de cocção foi determinado de acordo com o teste de Ranghino com as adaptações realizadas por Mohapatra e Bal (2006). Os grãos foram considerados cozidos, quando 90% dos grãos não apresentassem mais o hilo branco no centro do ao ser esmagado entre duas placas de Petri limpas, e o tempo de cocção, em minutos, é registrado.

Os grãos de arroz integral e germinados foram previamente cozidos conforme a metodologia de tempo de cocção e, em seguida, o perfil texturométrico dos grãos cozidos foi determinado utilizando o equipamento marca Stable Micro Systems Texture Analysers, modelo TA.XTplus. Os grãos cozidos foram pressionados até reduzir 90% do tamanho original, em uma velocidade de

1 mm/s com um probe cilíndrico de 4,5 centímetros de diâmetro. As informações obtidas foram dureza, adesividade, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e resiliência.

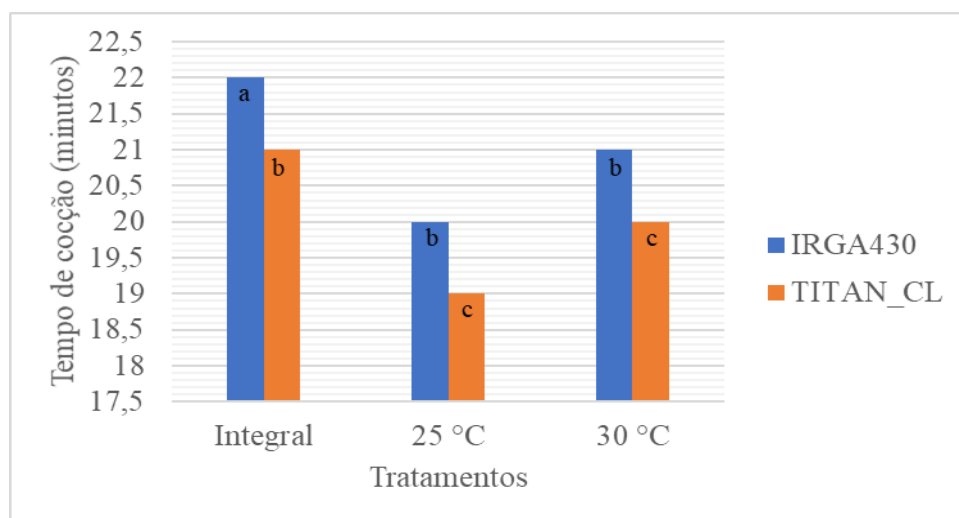
A análise sensorial foi realizada através do teste de Dominância Temporal das Sensações (DTS) segundo Pineau *et al.* (2009). Para tanto, foram recrutados 15 consumidores de arroz. Na análise, os avaliadores foram solicitados a escolher a sensação dominante durante o tempo de ingestão, considerando como dominante o conhecimento percebido com maior clareza e intensidade entre outros em uma lista pré-definida. A duração de 30 segundos foi determinada como um tempo de análise de cada amostra; os atributos disponíveis durante as sessões foram: palha, adocicado, glutinoso, firme, solto, amargo, arenoso e macio.

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados submetidos à análise de variância (ANOVA) e à comparação de médias pelo teste de Tukey, com nível de 5% de significância.

Resultados e Discussão

Os resultados encontrados para o tempo de cocção das amostras estão expostos na Figura 1. Este é definido como o tempo necessário, em água fervente, para a completa gelatinização do amido (LI *et al.*, 2021), ou seja, o grão de arroz é considerado cozido quando os grânulos de amido que foram expostos à umidade e calor acima de 60 °C, por um determinado tempo, rompem as ligações das cadeias de amilose e posteriormente de amilopectina presentes nos grânulos de amido (HUANG *et al.*, 2021; PARAGINSKI *et al.*, 2014).

Figura 1 - Tempo de cocção das amostras de arroz IRGA 430 (integral, 25 °C e 30 °C de germinação) e Titan CL (integral, 25 °C e 30 °C de germinação)



Fonte: Dos Autores, 2021.

As cultivares germinadas apresentaram reduções significativas em seus tempos de cocção nas diferentes temperaturas de germinação, para ambas as cultivares. Os menores valores foram da temperatura de germinação de 25 °C, sendo a cultivar Titan CL com o menor tempo de cocção, 19,20 min. Este fato pode ser devido à reestruturação interna dos grãos de arroz, onde o processo de germinação altera as conformações dos grânulos de amido, pela ação enzimática, principalmente da alfa-amilase, que pode atuar de forma a romper interações entre os monômeros de glicose, promovendo a abertura da estrutura do amido reduzindo e facilitando seu cozimento (NASCIMENTO *et al.*, 2020; XING *et al.*, 2021).

O perfil texturométrico dos grãos de arroz integral e germinados das diferentes cultivares após o cozimento está exposto na Tabela 1.

Tabela 1 - Perfil texturométrico das amostras de arroz IRGA 430 (integral, 25 °C e 30 °C de germinação) e Titan CL (integral, 25 °C e 30 °C de germinação)

Parâmetros	Integral		25°C		30°C	
	430	Titan CL	430	Titan CL	430	Titan CL
Dureza	4729,8 ±	3904,0 ±	5302,7 ±	6133,0 ±	5961,7 ±	5864,6 ±
(g)	46,7 ^d	37,6 ^e	127,6 ^c	115,6 ^a	63,6 ^{ab}	151,9 ^b
Coesividade	0,34 ±	0,32 ±	0,35 ±	0,34 ±	0,38 ±	0,34 ±
(g.sec)	0,0 ^a	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^b	0,0 ^b
Gomosidade	1661,0 ±	1155,0 ±	2213,0 ±	1743,3 ±	2556,8 ±	1738,6 ±
(g)	56,9 ^c	37,0 ^d	138,0 ^b	70,3 ^c	95,6 ^a	25,9 ^c
Mastigabilidade	649,4 ±	344,01 ±	617,0 ±	456,7 ±	645,6 ±	371,7 ±
(g/seg)	22,7 ^a	10,92 ^c	68,4 ^a	25,3 ^b	37,7 ^a	43,0 ^c

Fonte: Dos Autores, 2021.

Nota: Médias e desvio padrão seguidas da mesma letra minúscula na mesma linha não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A dureza dos grãos integrais de ambas cultivares são significativamente menores comparados aos germinados em diferentes temperaturas (Tabela 1), demonstrando que a germinação aumenta a resistência ao esmagamento no processo de mastigação do arroz. Este comportamento pode ser devido ao fortalecimento da parede celular do grão, pelo estímulo de produzir novos tecidos durante o processo de germinação (NASCIMENTO *et al.*, 2020).

Os parâmetros de gomosidade, coesividade e mastigabilidade dos grãos de arroz, apresentaram variações não lineares. Essas variações são decorrentes da germinação, que podem afetar de diversas formas a estrutura interna dos grãos de arroz; podem elas terem sido favorecidas,

devido à desestruturação dos grânulos de amido pela ação enzimática e, de forma contrária, desfavorecida pela formação ou fortalecimento dos tecidos durante a germinação (MENDOZA-SÁNCHEZ *et al.*, 2016; NASCIMENTO *et al.*, 2020). Ainda, no processo térmico de cozimento, o intumescimento do amido faz pressão à parede celular e polissacarídeos pécticos presentes na parede celular são perdidos para o meio, onde estes são solubilizados (DO *et al.*, 2020). Com o interior da célula exposto, a formação de complexos pela interação entre amido/lipídios (KANG *et al.*, 2021), polifenóis (DENG *et al.*, 2021), e outros nutrientes são facilitados. Segundo Yan, Lu e Gui (2021) as características texturométricas são influenciadas pela formação de complexos entre amido e outros nutrientes. Com isso, pesquisas aprofundadas sobre os mecanismos ocorridos na germinação e a provável complexação entre nutrientes oriundos desta devem ser avaliadas e amplificadas.

Na análise sensorial, os resultados representados pelas curvas de TDS consistem em descrever a evolução temporal das diferentes sensações desenvolvidas durante o consumo de alimentos, mostrando as taxas de dominância dos atributos versus o tempo para cada amostra (Figura 2 e 3).

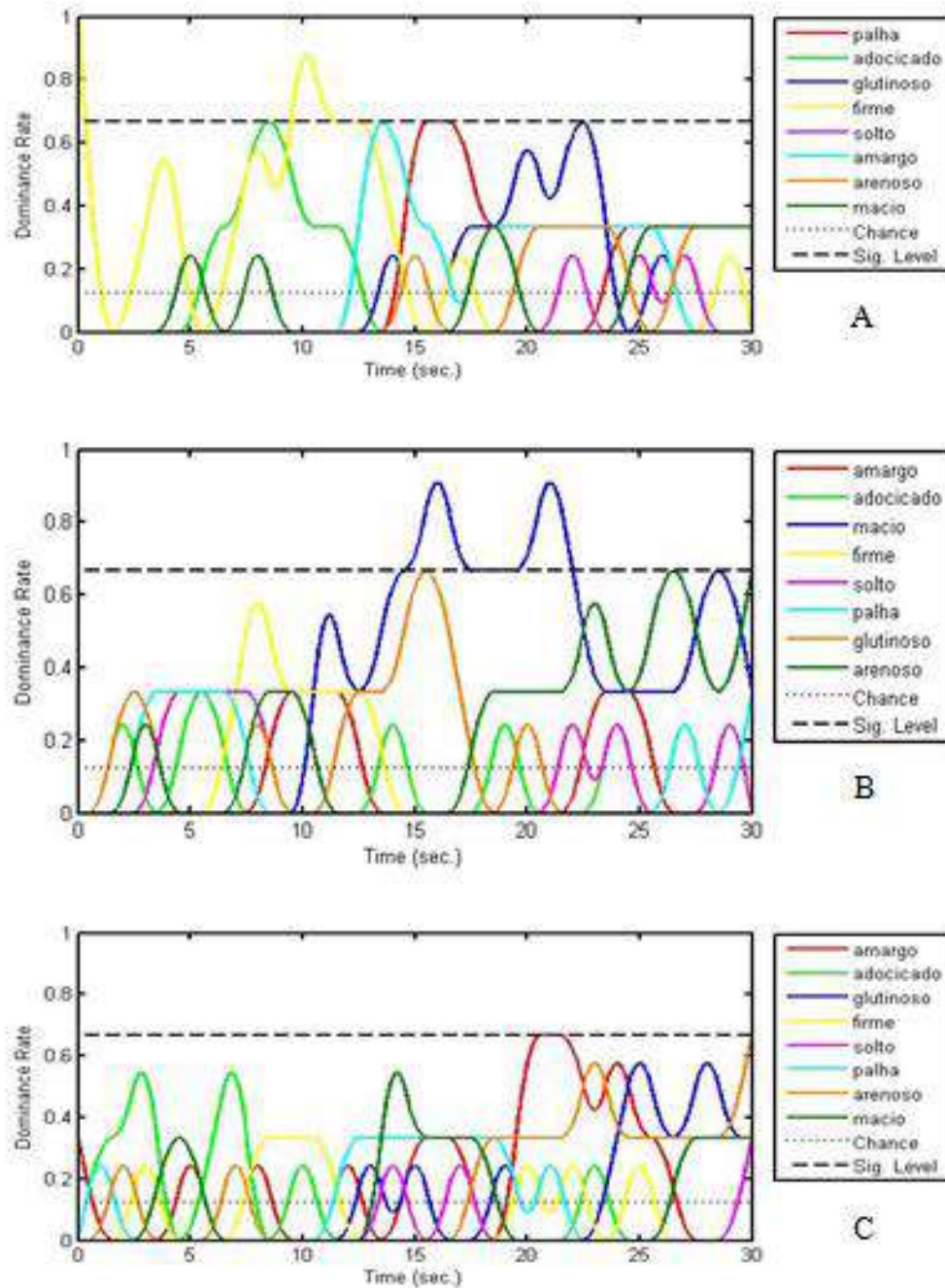
A taxa de dominância máxima para a cultivar IRGA 430 integral foi de 0,66. Assim, os avaliadores consideraram a sensação “firme” como a mais dominante em dois momentos ao longo dos 30 segundos, como mostra na Figura 1a. Já nas amostras com germinação, o atributo dominante na temperatura de 25 °C (Figura 2b) foi “macio”, com uma taxa de dominância máxima de 0,90.

Assim como no IRGA 430, o atributo “firme” apresentou uma taxa de dominância máxima de 1,0 na cultivar Titan CL com germinação a 25 °C (Figura 3), sendo esta percebida por um período contínuo de 7 segundos, resultado este esperado visto que foi a amostra que obteve o maior valor de dureza, conforme consta na Tabela 1. A germinação estimula as sementes a produzirem tecidos novos para fortalecer a parede celular, o que corrobora para uma amostra mais firme (LIU *et al.*, 2016). Apesar dos resultados encontrados, a amostra possui um valor de cocção menor (Figura 1), visto que a combinação de determinadas condições de temperatura e tempo, favorecem a ativação de enzimas, conferindo uma textura mais macia (SINGH; SHARMA; SINGH, 2017). A germinação modifica a estrutura do grão, levando em consideração alguns fatores, como a cultivar, as condições do processo de germinação, a umidade e o teor de amilose, por exemplo.

As amostras submetidas à germinação a uma temperatura de 30 °C apresentaram sabor amargo, ambas cultivares. Segundo Bett-Garber *et al.* (2012), as sensações de adstringência e sabor amargo estão associadas aos polifenóis presentes nas camadas de testa e de aleurona. Resultados semelhantes foram encontrados por Nascimento *et al.* (2020) em seu estudo com arroz integral. Durante o processo de germinação do arroz ocorre uma série de modificações em sua estrutura através da ação enzimática, o que pode resultar em diferenças na composição (KAUKOVIRTA-NORJA;

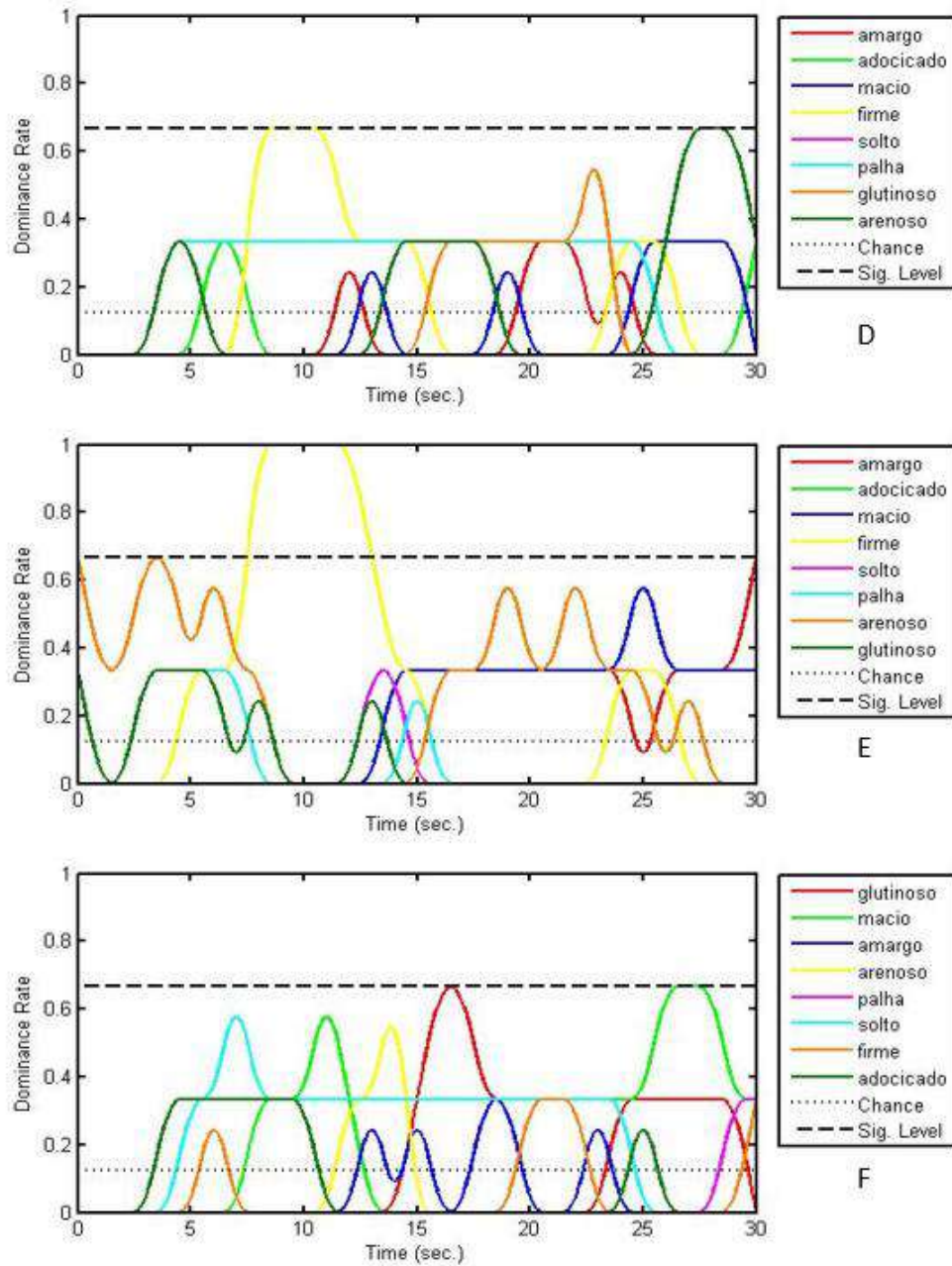
WILHELMSSON; POUTANEN, 2004). Além disso, essas variações podem ser atribuídas a outros fatores, como cultivares, manuseio do abastecimento de água, aplicação de fertilizantes, colheita e gerenciamento de armazenamento (BHAT; RIAR, 2019; MOONGNGARM; SAETUNG, 2010).

Figura 2 - Dominância temporal de sensações das amostras de arroz IRGA 430, sendo integral (a), 25 °C (b) e 30 °C (c) de germinação



Fonte: Dos Autores, 2021.

Figura 3 - Dominância temporal de sensações das amostras de arroz Titan CL, sendo integral (d), 25 °C (e) e 30 °C (f) de germinação



Fonte: Dos Autores, 2021.

Conclusão

Diante do exposto, considera-se o processo de germinação induzida favorável para obter características específicas para os grãos, contudo, as condições utilizadas devem ser avaliadas, visto

que se pôde observar que a diferença de 5 °C durante a germinação foi suficiente para alterar as características dos grãos frente aos parâmetros de textura, além de serem percebidos sensorialmente pelos avaliadores.

Referências

ALBERT, A. *et al.* Comparison between temporal dominance of sensations (TDS) and key-attribute sensory profiling for evaluating solid food with contrasting textural layers: Fish sticks. **Food Quality and Preference**, v.24, p. 111-118, 2012.

BETT-GARBER, K. *et al.* Relating raw rice colour and composition to cooked rice colour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, p. 283-291, 2012.

BHAT, F. M.; RIAR, C. S. Effect of composition, granular morphology and crystalline structure on the pasting, textural, thermal and sensory characteristics of traditional rice cultivars. **Food Chemistry**, v. 280, p. 303-309, 2019.

BUI, T. N. *et al.* Pre-germinated brown rice reduced both blood glucose concentration and body weight in Vietnamese women with impaired glucose tolerance. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 60, p. 183-187, 2014.

DENG, N. *et al.* Formation, structure and properties of the starch-polyphenol inclusion complex: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 112, p. 667-675, 2021.

DING, J. *et al.* Physicochemical properties of germinated dehulled rice flour and energy requirement in germination as affected by ultrasound treatment. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 41, p. 484-491, 2018.

DO, D. T. *et al.* Isolated potato parenchyma cells: Physico-chemical characteristics and gastro-small intestinal digestion in vitro. **Food Hydrocolloids**, v. 108, p. 105972, 2020.

FINNIE, S., BROVELLI, V., DARREN, N. Sprouted grain is a food ingredient. **Sprouted Grains**, v. 6, p. 113–142, 2019.

GAO, C. *et al.* Analysis of the key aroma volatile compounds in rice bran during storage and processing via HS-SPME GC/MS. **Journal of Cereal Science**, v. 99, p. 103178, 2021.

HUANG, S. *et al.* New insight into starch retrogradation: the effect of short-range molecular order in gelatinized starch. **Food Hydrocolloids**, *In press*, p. 106921, 2021.

KANG, X. A. *et al.* Effects of wheat protein on the formation and structural properties of starch-lipid complexes in real noodles incorporated with fatty acids of varying chain lengths. **LWT**, v. 144, p. 111271, 2021.

KIM, H. J. *et al.* Effects of germination and roasting on physicochemical and sensory characteristics of brown rice for tea infusion. **Food Chemistry**, v. 350, p. 129240, 2021.



- LI, H. *et al.* Starch gelatinization in the surface layer of rice grains is crucial in reducing the stickiness of parboiled rice. **Food Chemistry**, v. 341, p. 128202, 2021.
- LIU, S-J. *et al.* Identification of embryo proteins associated with seed germination and seedling establishment in germinating rice seeds. **Journal of Plant Physiology**, v. 196-197, p. 79-92, 2016.
- KAUKOVIRTA-NORJA, A.; WILHELMSSON, A.; POUTANEN, K. Germination: A means to improve the functionality of oat. **Agricultural and Food Science**, v. 13, p. 100-112, 2004.
- MENDOZA-SÁNCHEZ, M. *et al.* Effect of chemical stress on germination of cv Dalia bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as an alternative to increase antioxidant and nutraceutical compounds in sprouts. **Food Chemistry**, v. 212, p. 128–137, 2016.
- MOONGNGARM, A.; SAETUNG, N. Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. **Food Chemistry**, v. 122, p. 782-788, 2010.
- MOHAPATRA, D.; BAL, S. Cooking quality and instrumental textural attributes of cooked rice of different milling fractions. **Journal of Food Engineering**, v. 73, p. 253-259, 2006.
- MONGE-ROJAS, R. *et al.* Influence of sensory and cultural perceptions of white rice, brown rice and beans by Costa Rican adults in their dietary choices. **Appetite**, v. 81, p. 200-208, 2014.
- NASCIMENTO, L. A. *et al.* Effect of abiotic stress on bioactive compound production in germinated brown rice. **Journal of Cereal Science**, v. 97, p. 868-876, 2020.
- NG, L. T. *et al.* Changes of tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and γ -aminobutyric acid levels in the germinated brown rice of pigmented and nonpigmented cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 12604-12611, 2013.
- PARAGINSKI, R. T. *et al.* Characteristics of starch isolated from maize as a function of grain storage temperature. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 88-94, 2014.
- PARK, H., PULIGUNDLA, P., MOK, C. Cold plasma decontamination of brown rice grains: Impact on biochemical and sensory qualities of their corresponding seedlings and aqueous tea infusions. **LWT**. v. 131, p. 109508, 2020.
- PINEAU, N. *et al.* Temporal Dominance of Sensations: Construction of the TDS curves and comparison with time-intensity. **Food Quality and Preference**, v. 20, p.450-455, 2009.
- SINGH, A.; SHARMA, S.; SINGH, B. Effect of germination time and temperature on the functionality and protein solubility of sorghum flour. **Journal of Cereal Chemistry**, v. 76, p. 131-139, 2017.
- SEGURA, R. S. *et al.* Promising filamentous native fungi isolated from paddy soils for arsenic mitigation in rice grains cultivated under flooded conditions. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, p. 3926-3932, 2018.

VERMA, D. K.; SRIVASTAV, P. P. Bioactive compounds of rice (*Oryza sativa* L.): Review on paradigm and its potential benefit in human health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 355-365, 2020.

XING, B. *et al.* Effect of germination treatment on the structural and physicochemical properties of quinoa starch. **Food Hydrocolloids**, v. 115, p. 106604, 2021.

YAN, H.; LU, Q.; GUI, J. Characteristics of A/B-type starch-wheat germ oil complexes and their effects on noodle texture. **LWT**, v. 144, p. 111251, 2021.



05 Capítulo

Determinação do índice de peróxidos em óleos vegetais usando imagens digitais obtidas com smartphone

Capítulo 5

Determinação do índice de peróxidos em óleos vegetais usando imagens digitais obtidas com smartphone

Amanda Carolina Souza Andrada Anconi*¹; Nathália Cristina Silva Brito²; Cleiton Antônio Nunes³

Resumo

Os óleos vegetais são naturalmente oxidados pela ação de oxigênio, calor e luz, gerando compostos voláteis responsáveis por odores e sabores indesejáveis. Nesse processo, os primeiros compostos formados são os hidroperóxidos, que podem ser quantificados pela determinação do índice de peróxidos (IP). O método oficial para a determinação do IP em óleos baseia-se em uma titulação iodométrica que, além de demandar consideráveis volumes de reagentes nocivos à saúde e ao meio ambiente, pode apresentar dificuldades na detecção do ponto final. Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um método para determinação do IP em óleos vegetais usando imagens digitais obtidas pela câmera de um smartphone. Inicialmente, os IPs de 10 amostras foram obtidos por titulometria, sendo uma imagem da mistura obtida antes da titulação, a fim de substituí-la. Os parâmetros dos sistemas de cores aditivas RGB e XYZ das imagens foram obtidos e calibrados por Regressão Linear Múltipla contra os respectivos valores de IP obtidos pelo método oficial. Cálculos para correção de iluminação foram considerados. O modelo que apresentou a melhor qualidade preditiva foi aquele construído a partir do sistema de cor RGB, com correção de iluminação, com erro quadrático médio (RMSE) de 0,43 e R^2 de 0,99. Um método de transferência de calibração foi proposto a fim de prever dados obtidos em condições analíticas secundárias, incluindo a redução de 80% do volume de amostras e reagentes. Os resultados indicaram uma diminuição de 73% no RMSE para a predição do IP em novas amostras após a transferência. Assim, o IP de óleos vegetais pode ser determinado a partir de imagens digitais obtidas por smartphones, usando um método simples, de baixo custo, com economia de reagentes e não subjetivo.

Palavras-chave: Calibração multivariada. Óleos comestíveis. Oxidação.

¹ Doutoranda em Agroquímica, Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras.

² Graduada de Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras.

³ Professor, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Lavras.

* E-mail para correspondência: amandaanconi@gmail.com

Introdução

Os óleos comestíveis são ingredientes importantes da dieta humana. Seus componentes atuam como carreadores de vitaminas lipossolúveis e são essenciais para o desenvolvimento adequado dos tecidos, além de apresentarem função energética (WSOWICZ *et al.*, 2004). Nesta categoria de produtos alimentícios, destacam-se os óleos vegetais, tidos como importantes aliados à saúde humana, devido ao alto teor de ácidos graxos insaturados e antioxidantes naturais (BELITZ *et al.*, 2009).

Óleos vegetais são constituídos majoritariamente por triacilgliceróis, formados por glicerol e, principalmente, pelos ácidos oleico (C18: 1) linoleico (C18: 2), palmítico (C16: 0) e esteárico (C18: 0) (FONSECA; GUTIERREZ, 1974). Estes compostos podem sofrer reações de oxidação aceleradas pela luz e altas temperaturas, o que ocorre nas duplas ligações dos ácidos graxos insaturados (JORGE, 2009) (XIE *et al.*, 2019).

A oxidação lipídica é a principal causa de deterioração de óleos vegetais. Os produtos primários da oxidação são os hidroperóxidos, compostos instáveis que, por meio de reações químicas complexas, geram como subprodutos aldeídos, cetonas, e outras moléculas sensorialmente desagradáveis (WSOWICZ *et al.*, 2004). Este processo compromete a qualidade e segurança destes alimentos, sendo o principal fator de influência no prazo de validade (JIANG *et al.*, 2020).

O processo de oxidação lipídica ocorre em vários estágios. Portanto, sua determinação envolve uma variedade de métodos. O índice de peróxido (IP) é geralmente empregado para avaliar a oxidação inicial. O método oficial para a determinação IP baseia-se em uma titulação que mede o iodo liberado do iodeto de potássio devido à reação com os hidroperóxidos presentes no óleo. A precisão deste método depende de uma variedade de fatores experimentais, como temporização precisa e proteção da mistura contra a luz. Embora forneça uma indicação sobre o grau de oxidação, esse método pode ser subjetivo no ponto de viragem ou de equivalência da titulação (MEHTA *et al.*, 2015). Um agravante consiste no fato de que óleos e gorduras são solúveis apenas em solventes orgânicos, demandando grandes quantidades destes reagentes, o que resulta em aumento de custos e riscos potenciais à saúde e ao meio ambiente.

A fim de contornar tais desvantagens, novos métodos têm sido propostos nos últimos anos para medir a oxidação em óleos vegetais. A espectroscopia no infravermelho associada a ferramentas quimiométricas tem sido bastante útil (ROHMAN, 2017; CEBI *et al.*, 2017), no entanto, essa técnica requer equipamentos de alto custo e diversos pré-tratamentos espectrais são necessários para o desenvolvimento dos modelos, tornando as análises relativamente complexas. Um nariz eletrônico foi usado juntamente com análises quimiométricas para detecção rápida de oxidação em óleos

comestíveis (XU *et al.*, 2016). No entanto, os resultados fornecem uma análise meramente qualitativa, não sendo adequada a um rígido controle de qualidade. Tendo em vista este cenário, o desenvolvimento de métodos analíticos simples, práticos e de baixo custo econômico e ambiental forneceria alternativas úteis para a análise da deterioração de óleos.

Nos últimos anos, o desenvolvimento de metodologias analíticas para extrair informações químicas de imagens digitais tem ganhado destaque. Essa abordagem fornece resultados de forma rápida, precisa e barata, além de permitir maior mobilidade (PENG *et al.*, 2017; PESSOA *et al.*, 2017). Neste sentido, o uso de câmeras de smartphones para a obtenção das imagens é uma tendência interessante, uma vez que esses dispositivos são portáteis e apresentam operação simples e rápida, o que dispensa o uso de equipamentos caros e a necessidade de um especialista (RODA *et al.*, 2016; NELIS *et al.*, 2020). Em geral, as imagens digitais são obtidas diretamente da amostra ou após uma reação química colorimétrica e o uso dos valores de suas componentes de cor como resposta analítica está fundamentado no fato de que estes variam proporcionalmente com a concentração de um analito (RATENI; DARIO; CAVALLO, 2017).

A decomposição de uma imagem digital em suas componentes de cor (especificadas por sistemas de cores) pode ser feita com o auxílio de softwares e aplicativos, gerando matrizes numéricas que descrevem a distribuição dos diferentes tons nos pixels delimitados por uma região de interesse (REZAZADEH *et al.*, 2019). Nos sistemas de cores RGB, a imagem é decomposta em seus componentes vermelho, verde e azul, que são quantificados de 0 a 255, e podem ser convertidos em outros sistemas de cores, como XYZ. Quando utilizadas como sinal analítico, essas informações possibilitam a construção de modelos de regressão multivariada nos quais dados sucessivos de várias amostras, organizados em uma matriz x , são calibrados contra uma coluna y contendo os valores de uma propriedade química obtida por um método de referência (DINIZ, 2020).

Para que a tecnologia baseada em smartphones seja finalmente empregada em análises químicas e bioquímicas que visem, por exemplo, o controle e segurança alimentar, pesquisas substanciais são necessárias, a fim de se determinar formatos de reação, ensaios genéricos e padronizar equipamentos e consumíveis (REZAZADEH *et al.*, 2019; DINIZ, 2020). Alguns exemplos recentes, envolvendo óleos vegetais, descrevem a quantificação de adulterantes em azeite de oliva extravirgem (KARAGIORGOS *et al.*, 2017; HAKONEN; BEVES, 2018; SONG *et al.*, 2020), a determinação da atividade de eliminação de radicais livres (VUCANE *et al.*, 2020), a determinação dos parâmetros do processo de branqueamento (PEREGONCHAYA *et al.*, 2020) determinação do índice de iodo (PEAMAROON *et al.*, 2021) e o acompanhamento da reação de oxidação durante a reação com reagente Fenton (SINGKHONRAT *et al.*, 2019). Todas as abordagens

apresentaram resultados semelhantes ou melhores do que aqueles obtidos pelos métodos de referência, mostrando que os métodos baseados em imagens digitais representam uma técnica promissora para o monitoramento da qualidade de óleos comestíveis.

A fim de contribuir para o avanço na aplicação dessas novas tecnologias, este trabalho teve como objetivo desenvolver um método baseado na calibração multivariada de dados de imagens digitais capturadas com câmera de smartphone para determinar o IP em óleos vegetais comestíveis. A proposta visou a simplificação da metodologia oficial por meio da substituição da titulação pela imagem digital, reduzindo o tempo de análise, a quantidade de reagentes e resíduos gerados no processo. Além disso, um método de transferência de calibração, que permitiu o uso de um modelo de calibração primário por um conjunto de dados de predição obtidos em condições analíticas diferentes, foi proposto.

Material e Métodos

Esta pesquisa foi desenvolvida em duas etapas:

Etapa 1: Determinação do IP em óleos vegetais substituindo-se a etapa de titulação por análise de imagens digitais

Foram utilizadas 10 amostras de óleos comerciais refinados, virgens e rancificados, dentre eles, óleos de soja, milho, canola, e azeite de oliva. O IP das amostras foi determinado por titulometria, de acordo com o método oficial descrito pela International Olive Council (COI / T.20 / Doc.No35). Em um frasco Erlenmeyer, volumes adequados de ácido acético, clorofórmio e solução de iodeto de potássio foram adicionados a 1 g de amostra. A mistura foi mantida ao abrigo de luz por um minuto, assumindo a coloração amarelada e, decorrido este intervalo, o Erlenmeyer foi posicionado em uma caixa fechada com dimensões 0,10 m x 0,27 m x 0,13 m (largura x comprimento x altura), contendo apenas um orifício onde foi posicionada a câmera de um smartphone (Moto G5s). Cada Erlenmeyer foi fotografado antes (branco) e após a reação com iodeto de potássio. Após a obtenção das imagens, a mistura foi titulada com tiosulfato de sódio empregando-se amido como indicador. Os procedimentos foram realizados em duplicata, totalizando 20 observações. O aplicativo ColorPiker foi usado para extrair os valores dos parâmetros dos sistemas colorimétricos RGB e XYZ das imagens, que foram calibrados por Regressão Linear Múltipla (MLR) contra os respectivos índices de peróxidos obtidos pelo método oficial. O conjunto de dados foi dividido em

dois grupos: conjunto de calibração (75%, 15 observações) e de teste (25%, 5 observações), separados pelo algoritmo Kennard-Stone (KENNARD e STONE, 1969). Para melhorar a capacidade preditiva foram realizados cálculos para correção da iluminação, com base no logaritmo da razão entre os valores das componentes da amostra e do branco (Log).

Etapa 2: Determinação do IP em óleos vegetais usando imagens digitais com redução de 80% do volume de amostras e reagentes

Nesta etapa, foram analisadas 19 amostras de óleos vegetais comerciais de soja, milho, canola, girassol, abacate e azeite de oliva (virgem, extravirgem e óleo composto de soja e oliva), de diferentes marcas. Em um frasco Erlenmeyer, foram adicionados 0,2 g de amostra e quantidades adequadas de ácido acético, clorofórmio e solução de iodeto de potássio. A mistura foi mantida ao abrigo de luz por 1 minuto, assumindo a coloração amarelada e, posteriormente, transferida para uma cubeta de vidro, que foi posicionada em uma caixa fechada de dimensões 0,60 m x 0,12 m x 0,80 m (largura x comprimento x altura) contendo apenas um orifício onde foi posicionada a câmera de um smartphone (Moto C Plus 7.0) para obtenção das imagens. Cada ensaio foi fotografado antes (branco) e após a reação com iodeto de potássio. Os procedimentos foram realizados em duplicata, totalizando 38 ensaios. O aplicativo ColorPiker foi usado para extrair os valores das componentes dos sistemas de cor RGB e XYZ. O IP de cada amostra foi obtido pelo método oficial (aplicado ao volume recomendado de amostra e reagentes). Por fim, um método de transferência de calibração foi proposto visando a aplicabilidade dos modelos primários (obtidos na etapa 1) ao conjunto de dados de predição obtidos sob as novas condições analíticas descritas nesta etapa. Para isso, 25% dos dados obtidos na etapa 2 foram inseridos aos dados obtidos na etapa 1 para recalibração dos modelos. Os 75% restantes foram usados como um conjunto de predição nos modelos RGB e XYZ ajustados.

Todas as análises quimiométricas foram realizadas com o auxílio do software Chemoface (NUNES, 2012). A qualidade dos modelos foi avaliada pelo erro quadrático médio (RMSE) para calibração (RMSEc), validação cruzada (RMSEcv) e predição (RMSEp) e pelo coeficiente de determinação (R^2) de calibração (R^2c), validação cruzada (R^2cv) e predição (R^2p).

Resultados e Discussão

A oxidação lipídica é um processo de grande interesse na indústria alimentícia, uma vez que é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores inaceitáveis em óleos, gorduras e nos

alimentos em que eles são usados como ingredientes, levando à depreciação ou rejeição destes produtos.

Conforme descrito na metodologia, essa pesquisa dividiu-se em duas etapas, sendo que na primeira (Etapa 1) quantidades recomendadas de amostras e reagentes foram empregadas a fim de avaliar a possibilidade de se determinar o IP de óleos vegetais comestíveis usando imagens digitais capturadas pela câmera de um smartphone.

De acordo com Rezazadeh *et al.* (2019) as condições de luz, características do telefone e distância entre o aparelho e a amostra devem manter-se constantes para alcançar uma resposta confiável (REZAZADEH *et al.*, 2019). Nelis *et al.* (2020), completa que o uso de uma caixa de proteção contra a luz durante a obtenção das imagens proporciona uma blindagem da alta intensidade de luz externa e evita erros de medição decorrentes da variação da iluminação de fundo (NELIS *et al.*, 2020). Neste sentido, duas caixas foram construídas para a obtenção das imagens nas duas etapas.

Na Tabela 1 são apresentados os dados relativos ao desempenho dos modelos de regressão obtidos a partir dos sistemas de cores RGB e XYZ, com e sem correção de iluminação.

Tabela 1 - Parâmetros de desempenho dos modelos obtidos na etapa 1 para os sistemas de cores RGB e XYZ

	RGB		XYZ	
	s/correção	Log	s/correção	Log
RMSE _v	11,28	5,71	5,56	4,06
R ² _v	0,77	0,93	0,9	0,95
RMSE _c	8,15	2,58	5,73	2,54
R ² _c	0,88	0,99	0,9	0,98
RMSE _p	6,44	0,43	3,71	3,59
R ² _p	0,9	0,99	0,95	0,79

Fonte: Dos autores, 2021.

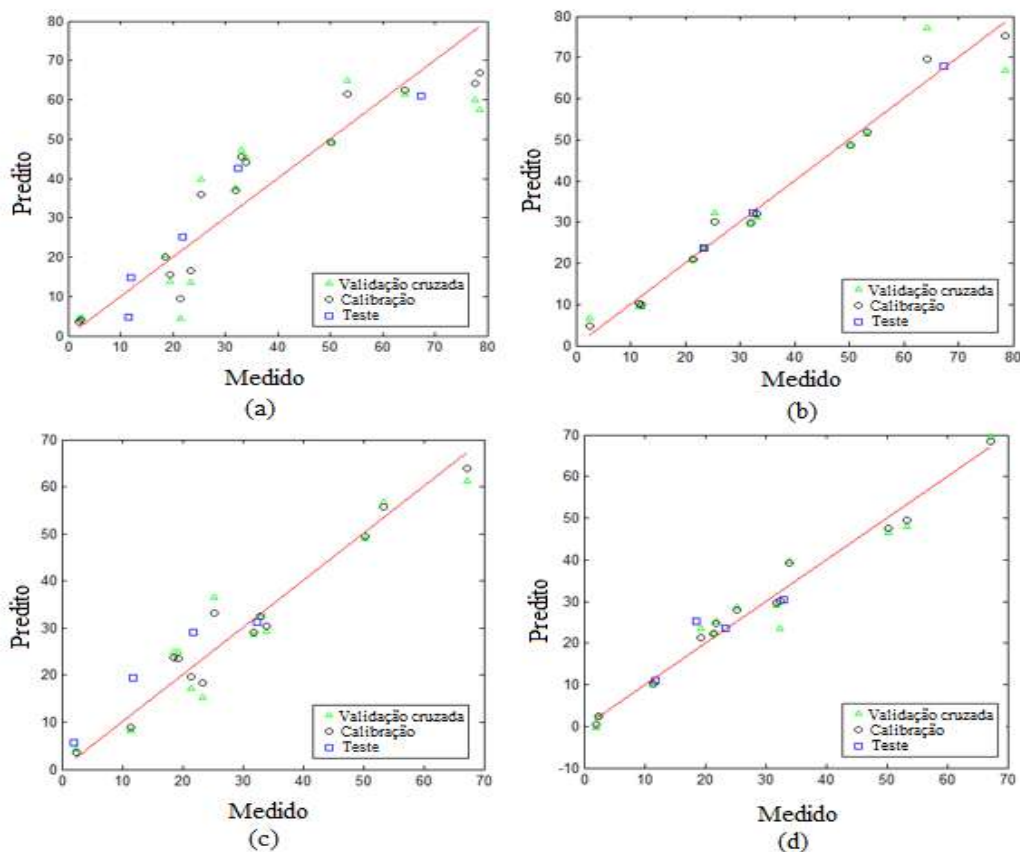
Legenda: RMSE: Erro quadrático médio de validação cruzada (RMSE_v), calibração (RMSE_c) e predição (RMSE_p); R² coeficiente de determinação de validação cruzada (R²_v) de calibração (R²_c) e de predição (R²_p).

Nota: A correção da iluminação foi feita com base no logaritmo da razão entre os valores das componentes da amostra e do branco (Log).

Os IPs determinados nas amostras da etapa 1 variaram de 1,99 a 78,61 meqO₂/kg. Para o sistema colorimétrico RGB sem correção de iluminação, os valores RMSE_p e R²_p foram de 6,44 e 0,90, respectivamente. A correção de iluminação melhorou os parâmetros de qualidade do modelo, que passaram a apresentar valores de RMSE de 0,43 e R² de 0,99. O modelo construído com base no sistema de cor XYZ sem correção, apresentou RMSE_p de 3,71 e R²_p de 0,95. Quando os dados foram

corrigidos os valores obtidos para RMSE e R^2 foram 3,59 e 0,79, respectivamente. Portanto, o modelo com melhor qualidade preditiva foi aquele obtido pelo uso do sistema de cor RGB, com correção da iluminação pelo logaritmo da razão entre amostra e branco. Neste modelo, o alto valor de R^2_p (0,99), indica um bom ajuste do modelo em relação aos dados obtidos. O menor valor de RMSE_p (0,43), quando comparado aos demais, indica melhor predição e, portanto, melhor exatidão do modelo em relação ao índice de peróxido encontrado pelo método titulométrico. Comparações gráficas entre os valores determinados pelo método oficial e pelo método proposto são apresentados na Figura 1.

Figura 1 - Comparações gráficas entre os valores determinados pelo método oficial (medido) e pelo método proposto (predito) para os modelos RGB e XYZ sem correções e com correções de iluminação



Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: Regressões para os modelos (a) RGB sem correção; (b) RGB correção Log; (c) XYZ sem correção; XYZ correção Log.

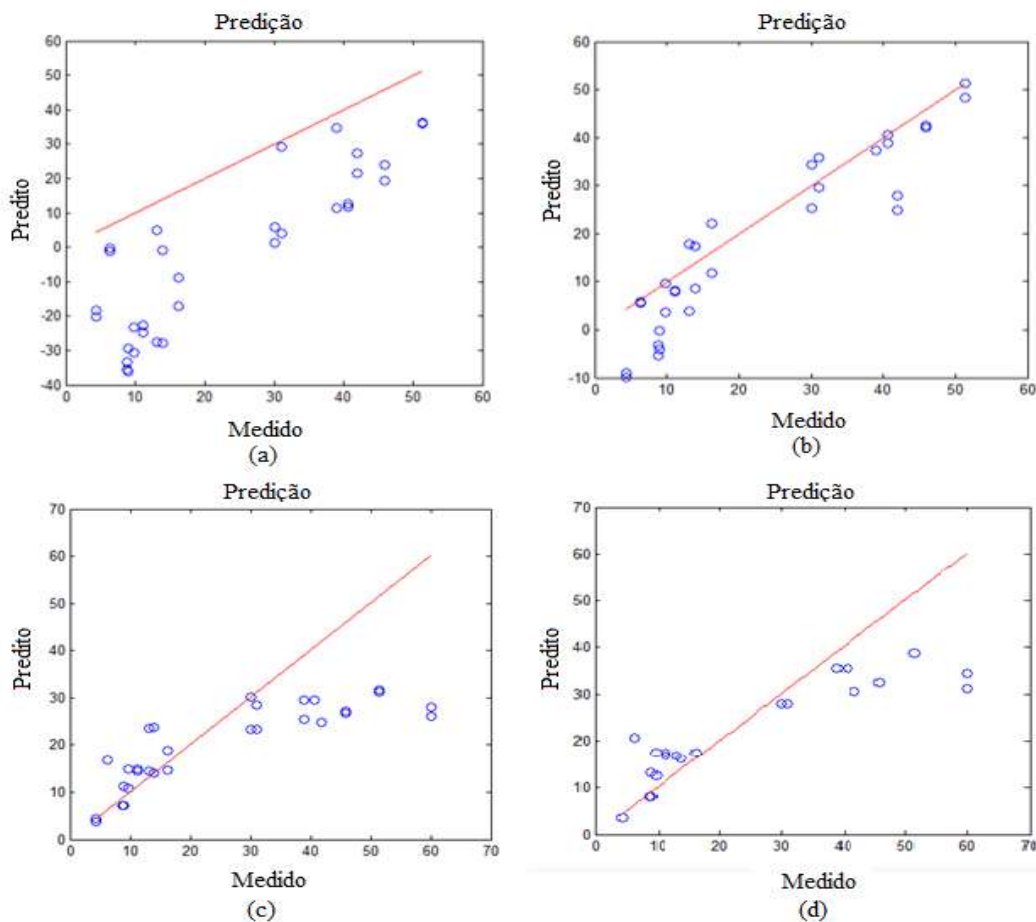
Nota: A correção da iluminação foi feita com base no logaritmo da razão entre os valores das componentes da amostra e do branco (Log).

Na segunda etapa, o volume de reagentes e amostras foi reduzido em 80% e as condições experimentais variadas, empregando-se, para a obtenção das imagens, um smartphone e uma caixa diferentes daqueles utilizados na primeira etapa.



Quando os modelos de calibração obtidos na condição primária foram usados para prever o índice de peróxido nas amostras analisadas nas novas condições analíticas (condições secundárias), observou-se que os valores preditos foram subestimados, como mostrado na Figura 2(a) e 2(c). Consequentemente, as predições em condições secundárias apresentaram valores de RMSEP superiores (Tabela 2) àqueles obtidos nos modelos primários (Tabela 1). Isso se deve ao fato de que os modelos de calibração apresentam limitações quando aplicados a dados obtidos em condições diferentes daquelas empregadas em sua construção, tornando-os inutilizáveis ou causando grandes erros na predição de novas amostras se não forem remodelados, o que nem sempre é viável (FEUDALE *et al.*, 2002; NELIS *et al.*, 2020). Assim, a fim de tentar mitigar esta interferência, um ajuste nos modelos primários foi realizado para transferência de calibração, visando sua aplicabilidade ao conjunto de dados de predição obtidos nas novas condições analíticas.

Figura 2 - Comparação gráfica dos IP medidos vs. previstos para a condição secundária antes e após a transferência de calibração usando os modelos RGB e XYZ sem correção



Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: modelo RGB (a) antes da transferência de calibração; (b) após transferência de calibração; modelo XYZ (c) antes da transferência de calibração; (d) após transferência de calibração.

Tabela 2 - Parâmetros de qualidade para a predição do IP com base em dados secundários de imagens digitais usando modelos antes e depois de aplicar a transferência de calibração

	Sem correção				Correção Log			
	RGB		XYZ		RGB		XYZ	
	ATC	DTC	ATC	DTC	ATC	DTC	ATC	DTC
RMSE	28,48	7,69	12,62	10,68	88,41	66,29	24,28	19,48
R ²	0,75	0,88	0,71	0,79	0,13	0,20	0,49	0,50

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: ATC: antes da transferência de calibração; DTC: depois de transferência de calibração.

Nota: A correção da iluminação foi feita com base no logaritmo da razão entre os valores das componentes da amostra e do branco (Log).

Conforme os gráficos da Figura 2(b) e 2(d), e os dados apresentados na Tabela 2, quando a transferência de calibração foi aplicada, verificou-se uma melhora na qualidade preditiva de todos os modelos. Os modelos RBG e XYZ não corrigidos apresentaram os melhores ajustes após a transferência de calibração, sendo uma melhora relevante obtida com o modelo construído a partir do sistema de cor RGB, tendo RMSEp diminuído de 28,48 para 7,48 e R²p aumentado de 0,75 para 0,88 após a transferência de calibração. Ainda que tenha havido uma melhora na qualidade preditiva dos modelos construídos a partir de dados corrigidos, os valores de RMSEp e R²p foram muito altos e muito baixos, respectivamente, inviabilizando a transferência de calibração nestes casos.

Conclusão

Essa pesquisa mostrou que o IP de óleos vegetais pode ser determinado por meio de imagens digitais obtidas por um smartphone e modelos de calibração multivariada. O sistema de cor utilizado na construção dos modelos influenciou a habilidade preditiva. Em geral, o melhor desempenho foi alcançado usando o modelo obtido a partir do sistema de cor RGB, em comparação com XYZ. A transferência de calibração baseada no ajuste do modelo RGB sem correção aos dados secundários permitiu a redução de erros de predição para amostras analisadas em diferentes condições (smartphone, iluminação e volume de amostras e reagentes), tornando o modelo mais robusto. As predições em condições secundárias tiveram melhora após o processo de transferência de calibração, diminuindo o RMSE e aumentando o R². A correção da iluminação promoveu uma melhora relevante na qualidade de predição do modelo RGB primário, mas teve uma influência negativa na transferência de calibração. A contribuição desta pesquisa está na simplificação da metodologia para determinação

do índice de peróxidos em óleos vegetais por meio de um método simples, de baixo custo, com economia de reagentes e não subjetivo, uma vez que substitui a titulação pela imagem digital.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, FAPEMIG e CNPQ pelo apoio financeiro.

Referências

- BELITZ, H.-D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. Edible fats and oils. *In: Food Chemistry*. Heidelberg: Springer, 2009. p. 602–630.
- CEBI, N. *et al.* Prediction of peroxide value in omega-3 rich microalgae oil by ATR-FTIR spectroscopy combined with chemometrics. *Food Chemistry*, v. 225, p. 188–196, 2017.
- DINIZ, P. H. G. D. Chemometrics-assisted color histogram-based analytical systems. *Journal of Chemometrics*, v. 34 n. 12, p. 1–27, 2020.
- FEUDALE, R. N. *et al.* Transfer of multivariate calibration models: a review. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* v. 64, p. 181–192, 2002.
- FONSECA, H.; GUTIERREZ, L. E. Composição em ácidos graxos de óleos vegetais e gorduras animais. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz*, v. 31, p. 485-490, 1974.
- HAKONEN, A.; BEVES, J. E. Hue parameter fluorescence identification of edible oils with a smartphone. *ACS Sensors*, v. 3, n. 10, p. 2061–2065, 2018.
- JIANG, S. *et al.* Evaluation on the oxidative stability of edible oil by electron spin resonance spectroscopy. *Food Chemistry*, v. 309, 125714, 2020.
- JORGE, N. **Química e Tecnologia de Óleos Vegetais**. São Paulo: Ed. Cultura Acadêmica, 2009.
- KARAGIORGOS, N. *et al.* An approach for estimating adulteration of virgin olive oil with soybean oil using image analysis. *In: 6TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON MODERN CIRCUITS AND SYSTEMS TECHNOLOGIES (MOCASST)*, 2017, Thessaloniki. *Anais [...]*, Thessaloniki: IEEE, 2017. p. 1-4.
- KENNARD, R. W.; STONE, L. A. Computer aided design of experiments. *Technometric*, v. 11, p. 137–148, 1969.
- MEHTA, B. M.; DARJI, V. B.; APARNATHI, K. D. Comparison of five analytical methods for the determination of peroxide value in oxidized ghee. *Food Chemistry*, v. 185, p. 449–453, 2015.



NELIS, J. L. D. *et al.* Smartphone-based optical assays in the food safety field. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 129, 115934, 2020.

NUNES, C. A. *et al.* Chemoface: a Novel Free User-Friendly Interface for Chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 11, p. 2003-2010, 2012.

PEAMAROON, N.; JAKMUNEE, J.; MOONRUNGSEE, N. A. Simple Colorimetric Procedure for the Determination of Iodine Value of Vegetable Oils Using a Smartphone Camera. **Journal of Analysis and Testing**, v. 5, n. 1, 2021.

PENG, B. *et al.* Dispersive liquid-liquid microextraction coupled with digital image colorimetric analysis for detection of total iron in water and food samples. **Food Chemistry**, v. 230, p. 667–672, 2017.

PEREGONCHAYA, O. V. *et al.* Possibility of using digital technology in determining the color number of vegetable oil. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 422, p. 1755-1315, 2020.

PESSOA, K. D. *et al.* A digital image method of spot tests for determination of copper in sugar cane spirits. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 185, p. 310–316, 2017.

RATENI, G.; DARIO, P.; CAVALLO, F. Smartphone-based food diagnostic technologies: a review. **Sensors**, v. 17, n. 6, 2017.

REZAZADEH, M. *et al.* The modern role of smartphones in analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 548–555, 2019.

RODA, A. *et al.* Smartphone-based biosensors: a critical review and perspectives. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 79, p. 317–325, 2016.

ROHMAN, A. The use of infrared spectroscopy in combination with chemometrics for quality control and authentication of edible fats and oils: a review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 52, n. 7, p. 1–44, 2017.

SINGKHORAT, J. *et al.* Digital image colorimetric analysis for evaluating lipid oxidation in oils and its emulsion. **Food Chemistry**, v. 286, p. 703–709, 2019.

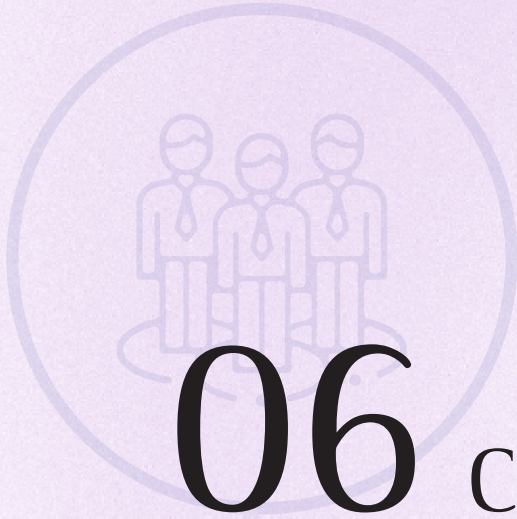
SONG, W. *et al.* Quantification of extra virgin olive oil adulteration using smartphone videos. **Talanta**, v. 216, 120920, 2020.

VUCANE, S. *et al.* Smartphone-based colorimetric determination of dpph free radical scavenging activity in vegetable oils *In: 26TH ANNUAL INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE "RESEARCH FOR RURAL DEVELOPMENT*, 35., 2020, Jelgava. Anais [...], Jelgava: LLU, 2020. p. 106-111.

WSOWICZ, E. *et al.* Oxidation of lipids in food. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 13, n. 54, p. 87–100, 2004.

XIE, Y. *et al.* Evaluation on the formation of lipid free radicals in the oxidation process of peanut oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 104, p. 24–29, 2019.

XU, L. *et al.* A novel method for qualitative analysis of edible oil oxidation using an electronic nose. **Food Chemistry**, v. 202, p. 229–235, 2016.



06 Capítulo

Estrutura superficial de microcápsulas contendo lactoferrina e da integridade conformacional da lactoferrina encapsulada



Capítulo 6

Estrutura superficial de microcápsulas contendo lactoferrina e da integridade conformacional da lactoferrina encapsulada

Luciana Helena Maia Porte*¹; Alexandre Porte²

Resumo

A proteína lactoferrina bovina (bLF) proveniente do soro de leite foi encapsulada pela técnica de *spray drying* e objetivou-se avaliar a estrutura superficial das microcápsulas e a integridade estrutural da proteína encapsulada por XPS e difração circular. Foram produzidas microcápsulas contendo 20% de bLF no núcleo, utilizando como material de parede dextrina: amido octenilsuccinato (amido OSA) em diferentes proporções: 100:00 % (CAP0); 75:25% (CAP25); 50:50% (CAP 50); 25:75% (CAP75) e 0:100% (CAP 100). A composição da superfície das microcápsulas foi analisada por espectroscopia fotoeletrônica de raio-X (XPS). O teor de bLF nas microcápsulas foi quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A estabilidade das estruturas secundária e terciária da bLF encapsulada foi analisada por difração circular e espectroscopia de fluorescência, respectivamente. A análise de XPS confirmou que a bLF estava predominantemente no interior da microcápsula, sendo que na proporção 75:25 de dextrina e amido OSA como material de parede, apenas 4% da bLF encontrava-se na superfície da microcápsula. Também foi nas microcápsulas contendo 25% de amido OSA que foi detectado o maior teor de bLF (17,58 mg/100mg) encapsulada. As estruturas secundárias das bLFs encapsuladas analisadas por difração circular mostraram-se intactas em todos os tipos de microcápsulas. Com relação a estrutura terciária da bLF, verificou-se que a máxima emissão da bLF encapsulada e não encapsulada na análise de espectroscopia de fluorescência foi em aproximadamente 320 nm, indicando que o processo de produção de microcápsulas não afetou a conformação da proteína.

Palavras-chave: CLAE. Difração circular. Encapsulação. Espectroscopia de fluorescência. Proteína bioativa.

¹Professora associada IV, Departamento de Administração e Turismo, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ.

² Professor associado III, Departamento de Ciências de alimentos, Escola de Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO.

*E-mail para correspondência: lhmaia2004@yahoo.com.br

Introdução

A lactoferrina bovina (bLF) é uma proteína presente no leite, que apresenta atividades fisiológicas e biológicas como proteção da flora intestinal contra bactérias enteropatogênicas, proteção do organismo contra íons metálicos livres, transporte fisiológico de ferro, imunorregulação, atividade antimicrobiana. Estas propriedades funcionais vêm despertando um crescente interesse na sua incorporação em sistemas alimentares (NAM *et al.*, 1999).

Entretanto, uma característica de componentes bioativos alimentares é a suscetibilidade a rápida inativação ou degradação. Componentes bioativos, como as proteínas, são beneficiados pelo processo de microencapsulação, que protege sua integridade estrutural de condições adversas do meio (como aquecimento e pH extremo) durante o processo de produção industrial.

A encapsulação é um processo físico-químico ou mecânico que aprisiona uma substância chamada de núcleo em um material ou misturas de materiais, chamado de material de parede ou material encapsulante, de maneira a obter partículas com diâmetros que variam de nanômetros a poucos milímetros (DE VOS *et al.*, 2010). A encapsulação de componentes bioativos é utilizada na indústria alimentícia para muitas aplicações e, várias técnicas têm sido utilizadas para a microencapsulação de proteínas, como a coacervação (BLOCHER; PERRY, 2020), lipossomos (JAGANATHAN; SELVARAJU; DHATHATHREYAN, 2020), emulsão (CHEN; CHI, 2018), *freeze drying* e *spray drying* (DE VOS *et al.*, 2010), entre outras.

Para microencapsulação por *spray drying*, a escolha do material de parede é crítica, pois irá influenciar a estabilidade da dispersão antes da secagem e as propriedades das microcápsulas após a secagem. Os materiais encapsulantes usados consistem de uma grande variedade de polímeros formadores de filme como gomas, carboidratos, celuloses, lipídeos, proteínas e materiais inorgânicos, sendo a escolha destes, dependente dentre outros fatores, das características do núcleo (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007).

Durante a produção das microcápsulas por *spray drying*, devido à alta temperatura de secagem podem ocorrer alterações na estrutura secundária da proteína utilizada como núcleo. Desta forma, a escolha do material de parede é fundamental para a eficiência da encapsulação de proteínas. A utilização de materiais de parede com propriedades de superfície (PROCHASKA *et al.*, 2007), como o amido octenilsuccinato (OSA) é desejável, uma vez que este tende a se acumular na interface ar/água das gotículas de solução formadas, reduzindo o acúmulo da proteína na superfície da microcápsula, preservando assim sua estrutura e atividade biológica.

As propriedades superficiais das cápsulas determinam o desempenho funcional das mesmas, como as propriedades de difusão. Há poucos anos atrás, a superfície das cápsulas recebia pouca atenção (DE VOS *et al.*, 2009). Contudo, atualmente trabalhos sobre encapsulação vêm estudando a composição das cápsulas por diferentes técnicas, dentre elas a espectroscopia fotoeletrônica de raio x (XPS) (RAFIEE *et al.*, 2020; YEOP *et al.*, 2021).

XPS é uma das técnicas profissionais de análise de superfície com alta sensibilidade e precisão. É usada principalmente para análise elemental, composição química e determinação do estado das ligações moleculares de superfícies de nanocarreadores (RAFIEE *et al.*, 2020). Yeop *et al.* (2021) através da técnica de XPS, verificaram a formação de uma camada superficial protéica protetora, aumentando a estabilidade dos polifenóis encapsulados.

Várias propriedades tecnológicas destas microcápsulas dependem da interação partícula-água (molhabilidade, reidratação) e da interação partícula-partícula (flotabilidade). Estas interações são influenciadas pelas propriedades morfológicas e físicas, bem como pela composição superficial das microcápsulas (GIANI *et al.*, 2010).

Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo produzir microcápsulas de lactoferrina bovina por *spray drying* e avaliar a estrutura superficial destas e a integridade estrutural da proteína encapsulada pelas técnicas de XPS e difração circular.

Material e Métodos

Para obtenção das microcápsulas foi utilizado como núcleo, a proteína bLF purificada do soro de leite e liofilizada, adquirida da Biopole S.A./NV e como materiais de parede, dextrina (Nadex 772[®]) e amido OSA (Capsul[®]) doados para o presente estudo pela *National Starch and Chemical Company*.

Preparo das suspensões

Foram preparados 400 mL de suspensão, contendo 120 g de sólidos (30% p/v), sendo 24 g deste teor de sólidos correspondente ao núcleo e 96 g correspondente ao material de parede. Os materiais de parede (somente dextrina, somente amido OSA ou combinações de ambos em diferentes proporções – Tabela 1), foram dispersos em 300 mL de água deionizada a 80 °C. Os 100 mL restantes de água foram utilizados para solubilizar a bLF. Após o resfriamento da suspensão contendo o material de parede, a solução de bLF foi incorporada e homogeneizada lentamente.



Foram elaboradas cinco formulações, variando-se o tipo e a concentração do material de parede. A Tabela 1 apresenta as quantidades de lactoferrina bovina e de materiais de parede utilizados para obtenção das suspensões, que após secagem darão origem as microcápsulas correspondentes.

Tabela 1 - Formulações utilizadas para o preparo das suspensões

Formulação	Material de parede				Núcleo	
	Dextrina		Amido OSA		bLF	
	g	%*	g	%*	g	%*
CAP 0	96	80	-	-	24	20
CAP 25	72	60	24	20	24	20
CAP 50	48	40	48	40	24	20
CAP 75	24	20	72	60	24	20
CAP 100	-	-	96	80	24	20

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: * percentual em relação ao teor de sólidos da suspensão; Amido OSA: Amido Octenilsuccinato; bLF: lactoferrina bovina

Caracterização das suspensões

O teor de sólidos solúveis foi determinado por refratometria (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005). Foi utilizado um refratômetro manual, escala de 0–32 °Brix da marca ATAGO. As medidas de tensão superficial das soluções foram realizadas de acordo com o método descrito por Faldt e Bergenstahl (1994). Foi medida a tensão superficial na interface ar-água das soluções de material de parede, antes e após o acréscimo da bLF, pelo método de anel dü Nouy, usando um tensiômetro digital K9 (KRUSS) a temperatura de 30 °C. A tensão da água utilizada no preparo das soluções apresentou tensão superficial igual a 72,4 mN/m.

Produção das microcápsulas

As microcápsulas foram produzidas a partir da secagem das suspensões, descritas na Tabela 1, em *spray dryer* Mini Büchi 190 (Büchi Laboratories Technik AG) com as seguintes condições de operação: bico atomizador de 0,3 mm, vazão de alimentação de 18 mL/min, temperatura de entrada e saída igual a 180 °C e 90 °C, respectivamente.

Quantificação de bLF nas microcápsulas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

As microcápsulas foram desintegradas em NaCl 0,5 M, centrifugadas (15 °C, 3000 rpm por 5 min) e o sobrenadante filtrado em membrana 0,22 µm. A bLF foi quantificada por cromatografia líquida de fase reversa, utilizando um cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters, controlador e bomba Waters 600 e detetor UV-VIS Waters 486 Tunable Absorbance.

Foi utilizada uma coluna Supelcosil LC8, 4,6 x 250 mm, 5 µm (Supelco). O sistema de eluição foi o de gradiente, tendo como eluente A: acetonitrila 10% em NaCl 0,5 M + 0,03% de ácido trifluoracético e como eluente B: acetonitrila 50% em NaCl 0,5 M + 0,03% de trifluoracético. O gradiente empregado foi: 0-25 min – 50-100% de B; 25-35 min – 50% do B. Foi utilizado como tampão de amostra NaCl 0,5 M, volume de injeção de 20 µL, fluxo de 1 mL/min e detecção em 280 nm. Para quantificação da proteína, a área do pico da bLF liberada das microcápsulas foi relacionada à área do padrão (bLF Sigma). As análises foram realizadas em triplicata.

Caracterização superficial das matérias-primas (dextrina, amido OSA e bLF) e das microcápsulas por XPS

A caracterização das amostras foi feita por XPS empregando-se o espectromicroscópio de superfícies Kratos XSAM HS (Kratos Analytical). As análises foram realizadas em ambiente de ultra-alto vácuo (pressão na faixa de 10^{-9} Torr). Foi empregada como fonte excitadora a radiação $K\alpha$ do alumínio, com energia de 1486,6 eV e potência de 140 W, dada pela voltagem de 14 kV e emissão de 10 mA. Foi usado um feixe de elétrons de baixa energia para evitar o carregamento eletrostático nas amostras. Como referência de energia de ligação foi usado o valor 284,8 eV para a linha fotoelétrica C 1s associada a C-C e/ou C-H. O ajuste dos picos foi feito usando-se o programa fornecido pelo fabricante do equipamento, com curvas gaussianas (para as linhas C 1s, O 1s e N 1s), subtração de *background* pelo método de Shirley e a rotina de mínimos quadrados (ADLER; UNGER; LEE, 2000).

Para análise de dicroísmo circular utilizou-se um espectropolarímetro JASCO J-715. Foram preparadas soluções de bLF nativa e das microcápsulas em tampão fosfato de potássio 0,05 mol/L contendo 0,05 mol/L de NaCl, pH 6,2, de modo a obter-se uma concentração de bLF igual a 250 µg/mL. Em seguida, as soluções foram centrifugadas (15 °C, 3000 rpm por 5 minutos) e o sobrenadante filtrado em membranas de 0,2 µm. O filtrado foi transferido para uma cubeta de quartzo (0,2 cm) e o espectro obtido a 25 °C com varredura na região de UV distante (190-260 nm),



velocidade de varredura de 50 nm/min, sensibilidade de 100 mdegree e resolução de 0,5 nm (NAM *et al.*, 1999). As medidas foram realizadas em duplicatas.

Para análise de espectroscopia de fluorescência utilizou-se um espectrofluorímetro ISSPC1. A amostra foi preparada conforme descrito para análise de dicroísmo circular. A fluorescência do triptofano da bLF foi medida pela excitação a 280 nm e a emissão foi monitorada na faixa de 300-420 nm, usando uma cubeta de quartzo (0,2 cm) e slits de 1 nm para comprimentos de onda de excitação e emissão.

Para a análise estatística dos resultados, utilizou-se o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), onde foram feitas análises de variância, com posterior comparação entre as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa ASSISTAT versão 7.6 beta (SILVA; AZEVEDO, 2002).

Resultados e Discussão

As suspensões preparadas para encapsulação apresentaram teores de sólidos solúveis entre 27-28%. A tensão superficial das suspensões de materiais de parede encapsulantes, antes e depois do acréscimo da bLF, foi medida e está apresentada na Tabela 2. O conhecimento da composição da interface ar-água das suspensões encapsulantes é de grande importância para este trabalho, pois segundo Millqvist-Fureby, Elofsson e Bergnstahl (2001), a composição da interface ar-água da solução é refletida na composição da superfície da partícula seca.

Os resultados da Tabela 2 mostram que dentre as formulações contendo somente materiais de parede, verificou-se que a formulação CAP 0 apresentou a maior tensão superficial e a formulação CAP 25 apresentou a menor tensão superficial.

A adição de bLF à suspensão contendo somente dextrina (formulação CAP 0), promoveu uma redução da tensão superficial. O decréscimo na tensão superficial indica a presença de proteína na interface ar-água (FALDT e BERGENSTAHL, 1994).

Pela Tabela 2, é possível verificar também que para todas as suspensões encapsulantes contendo amido OSA (CAP 25 a CAP 100), a adição da bLF resultou num aumento da tensão superficial. Esses resultados sugerem que o amido OSA apresenta maior atividade superficial que a bLF.

Amidos OSA apresentam propriedades de superfície, sendo capazes de diminuir a tensão superficial de uma solução, pela sua localização na interface ar-água (TESH; GERHARDS; SCHUBERT, 2002). Baydoun *et al.* (2004) verificaram que uma solução contendo 15% (p/p) de

amido OSA AS 100[®] diminuiu a tensão superficial da água em 34,2 mN/m, quando comparado ao amido OSA AS 300[®], que promoveu uma redução de 28,6 mN/m.

No presente estudo, a formulação contendo somente amido OSA (CAP 100) promoveu uma redução na tensão superficial da água de 35,8 mN/m. Desta maneira, os resultados verificados para tensão superficial das suspensões encapsulantes, indicam que após a secagem as microcápsulas CAP 0 tendem a apresentar maior concentração de proteína na superfície.

Tabela 2 - Tensão superficial das formulações encapsulantes, antes e depois do acréscimo de bLF
 Tensão superficial (mN/m)

Formulações	Suspensão com MP	Suspensão com MP + bLF
CAP 0	38,0a	36,77e
CAP 25	35,4e	37,37d
CAP 50	36,5d	38,70c
CAP 75	36,9b	39,87b
CAP 100	36,6c	41,67a

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: ^{a,b,c,d,e} Médias na mesma coluna com letras diferentes, diferem entre si significativamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Médias de triplicatas.

MP= matéria-prima (dextrina e/ou amido octenilsuccinato) e MP + bLF = (dextrina e/ou amido octenilsuccinato + lactoferrina bovina).

Os teores de bLF (médias de triplicatas) quantificados por CLAE nas microcápsulas CAP 0, CAP 25, CAP 50, CAP 75 e CAP 100 foram 15,48; 17,58, 14,22; 14,35 e 16,24 mg/100 mg, respectivamente. O maior teor de bLF foi verificado nas microcápsulas CAP 25 (contendo 25% de amido OSA), seguido das microcápsulas CAP 0 e CAP 100, que são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As menores concentrações de bLF foram verificadas nas microcápsulas CAP 50 e CAP 75, que são estatisticamente iguais pelo mesmo teste.

Maia Porte, Rocha Leão e Porte (2011) constataram que as microcápsulas de lactoferrina bovina produzidas com dextrina e amido OSA foram esféricas, do tipo matriz e apresentaram depressões superficiais, que tenderam a diminuir com o aumento da proporção de amido OSA na parede das microcápsulas.

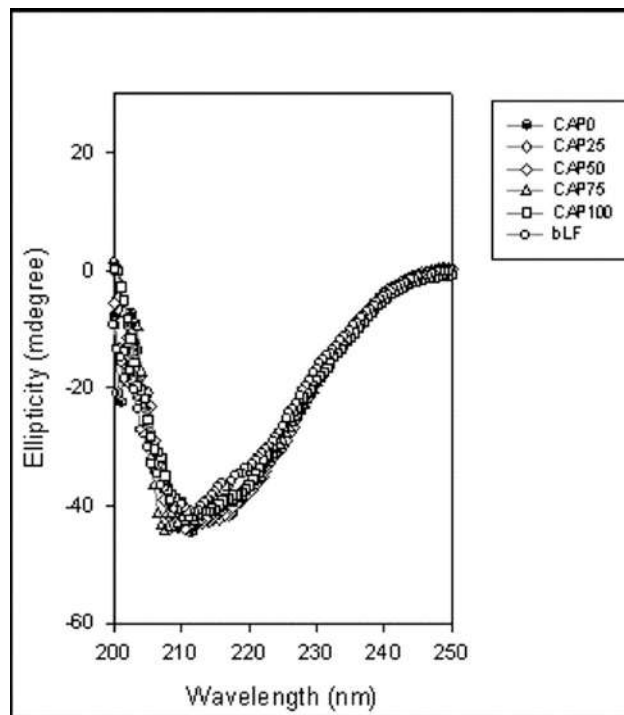
A quantificação do núcleo é de suma importância para se verificar a eficiência do processo de encapsulação. Contudo, no caso de proteínas, é necessária a conjugação destes dados com outras

informações, como a da preservação das estruturas secundárias e terciárias da mesma, a fim de se assegurar a manutenção de suas propriedades bioativas.

Desta forma, com a finalidade de verificar mudanças na estrutura secundária da proteína durante o processo de microencapsulação foram realizadas análises de espectroscopia de dicroísmo circular da bLF extraída das microcápsulas e da bLF não encapsulada (matéria-prima).

Os espectros da bLF extraída das diferentes microcápsulas (CAP 0 a CAP 100) foram muito semelhantes ao verificado para a bLF não encapsulada (Figura 1). Este resultado indica que a estrutura secundária da bLF foi preservada durante o processo de microencapsulação por *spray drying*.

Figura 1 - Espectros de Dicroísmo Circular (DC) da lactoferrina não encapsulada (bLF) e encapsulada nas microcápsulas (CAP 0 a CAP 100)



Fonte: Dos autores, 2021.

O processo de *spray drying* é um método de secagem drástico, devido à alta temperatura do gás secante, podendo ser potencialmente danoso para materiais biológicos sensíveis (MASTER, 1991). Os processos de secagem de um modo geral, podem alterar a estrutura secundária das proteínas, uma vez que a sua camada de hidratação é parcialmente perdida (PETRELSKI *et al.*, 1993). Outras fontes de alterações das estruturas das proteínas são a força de cisalhamento no bico aspersor do *spray dryer* e a adsorção da proteína na superfície da gotícula (MAA; NGUYEN; HSU, 1998).

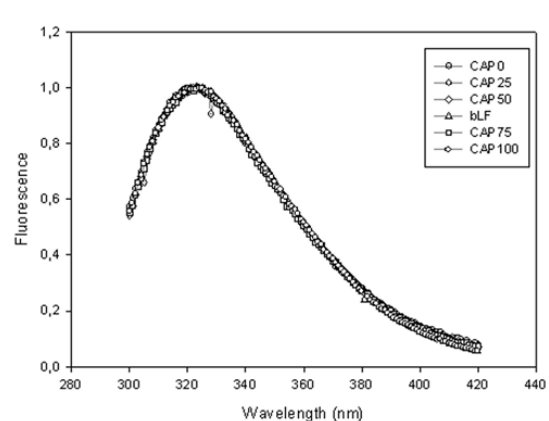
Desta maneira, sugere-se que os materiais de parede utilizados neste estudo, bem como as condições de processamento empregadas foram eficazes para a manutenção da integridade estrutural da bLF.

O espectro de dicroísmo circular da bLF foi composto de uma banda negativa em aproximadamente 210 nm, característica de α -hélice e uma “*shoulder*” em 217 nm, característica de folhas β (Figura 1). Resultados semelhantes foram encontrados para bLF (SHIMAZAKI; KAWANO; YOO, 1991), e para lactoferrina caprina (NAM *et al.*, 1999).

As proteínas também podem ter sua estrutura tridimensional alterada durante a secagem, resultando normalmente numa diminuição de estruturas α -hélices e num aumento de estruturas folha β (PETRELSKI *et al.*, 1993). Não obstante, no presente trabalho, não foi verificado tal comportamento.

Shimazaki, Kawano e Yoo (1991), estimaram que a proporção de estrutura secundária da lactoferrina é 12% de α -hélice, 37 % de estrutura β , 16% de alça β e 34% de estrutura desordenada. Foram realizadas medidas por espectroscopia de fluorescência na bLF não encapsulada e na bLF extraída das microcápsulas CAP 0 a CAP 100. Os espectros obtidos estão apresentados na Figura 2, em que se verifica que a máxima emissão da bLF não encapsulada e da bLF extraída das microcápsulas foi em aproximadamente 320 nm.

Figura 2 - Espectros normalizados de fluorescência de triptofano da lactoferrina não encapsulada (bLF) e encapsulada nas diferentes microcápsulas (CAP 0 a CAP 100)



Fonte: Dos autores, 2021.

A posição máxima do espectro de fluorescência do resíduo de triptofano na proteína varia de 307 a 353 nm. A variabilidade extrema da emissão do fluoróforo indol (triptofano) é dependente da polaridade e mobilidade de seu ambiente, tornando a fluorescência do triptofano, uma ferramenta sensível na análise de proteína (LADOKHIN, 2000).

O espectro de fluorescência verificado para a bLF no presente estudo pode ser classificado como forma espectral I, de acordo com a classificação de Burstein (LADOKHIN, 2000) que corresponde a emissão do cromóforo indol em um ambiente um pouco polar, mas rígido, talvez no interior da estrutura da proteína.

Quando a proteína é desnaturada, os triptofanos são expostos ao solvente aquoso, resultando em uma mudança da emissão de fluorescência máxima ($\gamma_{\text{máx}}$) para um comprimento de onda maior (PATIL; SPEAKER, 2000). Normalmente, quando o triptofano está na superfície da proteína, em contato com água ligada ou outros grupos polares, verifica-se uma forma espectral II, com uma emissão máxima em 340 nm. Já proteínas desnaturadas, apresentam espectro de forma III com $\gamma_{\text{máx}}$ em 350 nm, devido à presença de triptofano na superfície em contato com água livre (LADOKHIN, 2000).

Pela Figura 2, verifica-se que não houve diferença no comprimento de onda de $\gamma_{\text{máx}}$ para a bLF encapsulada e não encapsulada. Resultados semelhantes foram verificados para peroxidase de rábano silvestre encapsulada em microesferas de carragenana (PATIL; SPEAKER, 2000).

Os resultados encontrados no presente estudo indicam, que é possível microencapsular proteínas por *spray drying*, sem alterar o estado conformacional desta, assegurando assim, a sua atividade biológica.

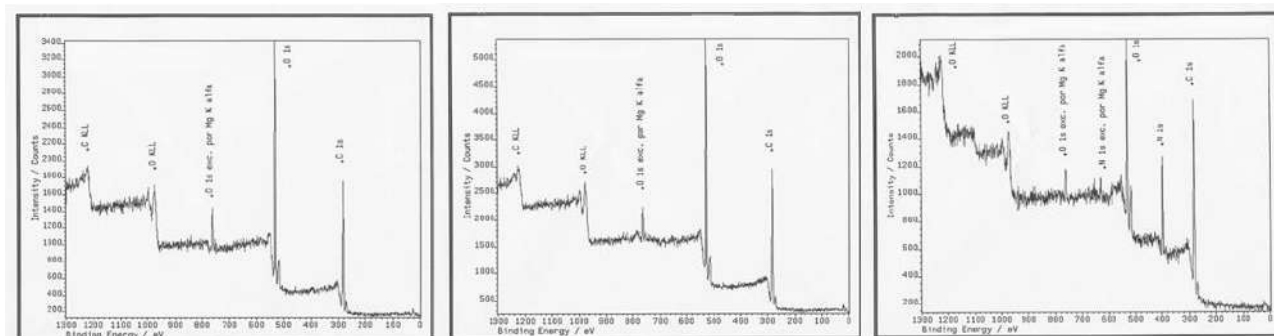
A técnica de XPS é bem estabelecida para análise elemental de superfícies sólidas (KIM; DONG CHEN; PEARCE, 2002), em que somente *outermost* de 20-100 da amostra é analisada (LUO *et al.*, 2007). A análise permite realizar uma estimativa experimental direta, da possível adsorção da proteína na interface ar/líquido (LO; TSAI; KUO 2004).

A composição química superficial das microcápsulas CAP 0 a CAP 100, bem como das suas matérias-primas de origem, foram determinadas por XPS. Os elementos monitorados foram carbono (C), oxigênio (O) e nitrogênio (N).

A Figura 3 apresenta os espectros de XPS da dextrina, amido OSA e bLF, respectivamente (da direita para esquerda). Constata-se a presença de C e O na superfície de todas as matérias-primas e, na superfície da bLF verifica-se também um pico de N. Por outro lado, como já esperado, verifica-se a inexistência de N na superfície da dextrina e do amido OSA. Desta maneira, no presente estudo, o pico de N é um sinal fundamental para representar a proteína. Todos os espectros das microcápsulas estudadas apresentaram a presença de N na superfície (espectros não apresentados).

A concentração atômica relativa (%) de C, O e N para as matérias-primas estudadas está apresentada na Tabela 3. Verifica-se por esta tabela, que a bLF apresentou uma concentração atômica relativa de N igual a 13,9 %.

Figura 3 - Espectros de XPS da dextrina, amido OSA e bLF, respectivamente



Fonte: Dos autores, 2021.

Tabela 3 - Concentração dos elementos (C, O, N) presentes (em % atômica) nas matérias-primas (dextrina, amido OSA e bLF) e das microcápsulas CAP 0 a CAP 100 utilizadas para a elaboração das microcápsulas, medida por XPS

Matérias-primas	Concentração Atômica Relativa (%)		
	C	O	N
Dextrina	60,9	39,1	0
Amido OSA	66,8	33,2	0
bLF	68,1	18,0	13,9
Microcápsulas			
CAP 0	64,0	27,0	9,0
CAP 25	67,4	28,6	4,0
CAP 50	65,6	29,6	4,8
CAP 75	65,0	29,7	5,3
CAP 100	63,0	31,9	5,2

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: bLF: lactoferrina bovina; Amido OSA: Amido Octenilsuccinato; C: carbono; O: oxigênio; N: nitrogênio.

Analisando a Tabela 3, é possível constatar que a superfície das microcápsulas foi constituída principalmente pelos polissacarídeos utilizados como material de parede, conforme pode ser verificado pela composição predominante em C (63-67%) e O (27-32%). Meagher e Griesser (2002) verificaram uma concentração atômica relativa igual a 64,3% para C, 19,3% para O e 15,9% para N, na lactoferrina.

As microcápsulas CAP 0 (Tabela 3) apresentaram uma maior concentração de bLF (N = 9%) na superfície quando, comparadas as demais microcápsulas. Atribui-se este resultado, a alta tendência que as proteínas apresentam de se acumular na interface ar/água, enquanto geralmente o mesmo não ocorre para os carboidratos, conforme verificado pela medida de tensão superficial da suspensão CAP 0 (Tabela 2).

Durante a secagem de tripsina por *spray drying*, a utilização de dextrina como material protetor, resultou numa concentração de 60% de tripsina na superfície do pó produzido (MILLQVIST-FUREBY; MALMSTEN; BERGENSTAHL, 1999). A presença de amido OSA na formulação (CAP 25 a CAP 100) reduziu em 44 a 58%, o acúmulo de bLF na superfície da microcápsula. A menor concentração de bLF superficial (4%) foi verificada na microcápsula CAP 25. Este resultado indica a ocorrência de uma adsorção competitiva entre o amido OSA e a bLF na interface ar/água das gotículas de solução formadas no *spray dryer*, onde o amido OSA possivelmente promoveu a expulsão da proteína da interface, e conseqüentemente da superfície das microcápsulas, pois as proteínas se adsorvem na interface ar/líquido das gotículas e esta superfície é preservada após a secagem da gotícula, ou seja, no pó obtido (FALDT; BERGENSTAHL, 1994; LANDSTRÖM *et al.*, 1999; MILLQVIST-FUREBY; ELOFSSON; BERGENSTAHL, 2001). Surfactantes ou substâncias com propriedades de superfície reduzem a adsorção de proteína na interface ar/água (ADLER; UNGER; LEE, 2000).

Conclusão

Nas condições experimentais utilizadas na realização deste trabalho e de acordo com os resultados obtidos, conclui-se que o amido octenilsuccinato foi capaz de reduzir a tensão superficial da água e o acréscimo de bLF à formulação CAP 0, promoveu uma redução da tensão superficial da suspensão, promovendo um maior acúmulo da proteína na superfície da microcápsula. A superfície das microcápsulas foi constituída principalmente pelos polissacarídeos utilizados como material de parede, confirmando que a proteína se encontra predominantemente, na parte mais interna da microcápsula. A microcápsula CAP 0 apresentou uma maior concentração de bLF na superfície. A presença de amido OSA na formulação (CAP 25 a CAP 100) reduziu em 44 a 58%, o acúmulo de bLF na superfície das microcápsulas. Os resultados obtidos pela técnica XPS sugerem que a bLF foi bem protegida pela dextrina e amido OSA, mantendo assim sua integridade estrutural, conforme verificado por dicroísmo circular e por espectroscopia de fluorescência.

Referências

ADLER, M.; UNGER, M.; LEE, G. Surface composition of spray-dried particles of bovine serum albumin/trehalose/surfactant. **Pharmaceutical Research**, v. 17, n. 7, p.863-870, 2000.

BAYDOUN, L. *et al.* New surface-active polymers for ophthalmic formulations: evaluation of ocular tolerance. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, p. 169-175, 2004.



BLOCHER, W. C.; PERRY, S. L. Protein Encapsulation Using Complex Coacervates: What Nature Has to Teach Us. **Small**, v. 16, n. 27, p. 1-26, 2020.

CHEN, Y.E.; CHI, H. A review of recent progress in drug and protein encapsulation: Approaches, applications and challenges. **Materials Science and Engineering: C**, v. 83, p. 233-246, 2018.

DE VOS, P. *et al.* Multiscale requirements for bioencapsulation in medicine and biotechnology. **Biomaterials**, v. 30, n. 13, p. 2559-2570, 2009.

DE VOS, P. *et al.* Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v. 20, n. 4, p. 292-302, 2010.

FALDT, P.; BERGENSTAHL, B. The surface composition of spray-dried protein-lactose powders. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 90, p. 183-190, 1994.

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.

GIANI, C. *et al.* How surface composition of high milk proteins powders is influenced by spray-drying temperature. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 75, n. 1, p. 377-384, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005.

JAGANATHAN, M.; SELVARAJU, C.; DHATHATHREYAN, A. pH induced reorganization of protein-protein interface in liposome encapsulated Ferritin at air/fluid and fluid/solid interfaces. **Journal of Molecular Liquids**, v. 312, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167732220325472>. Acesso em: 04 jun. 2021.

KIM, E.H.-J.; DONG CHEN, X.; PEARCE, D. Surface characterization of four industrial spray-dried dairy powders in relation to chemical composition, structure and wetting property. **Colloids as Surfaces B: Biointerfaces**, v. 26, n. 3, p. 197-212, 2002.

LADOKHIN, A. E. **Encyclopedia of Analytical Chemistry**. Meyers: John Wiley & Sons, 2000, p.5762-5779.

LANDSTRÖM, K. *et al.* A fluorescence method for quantitative measurements of specific protein at powder surfaces. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 12, n. 3-6, p.429-440, 1999.

LO, Y.L.; TSAI, J.C.; KUO, J.H. *J.* Liposomes and disaccharides as carriers in spray-dried powder formulation of superoxide dismutase. **Journal of Controlled Release**, v. 94, p. 259-272, 2004.

LUO, W.L. *et al.* Microencapsulation of decabromodiphenyl ether by in situ polymerization: preparation and characterization. **Polymers Degradation and Stability**, v. 92, n. 7, p. 1359-1364, 2007.

MAA, Y.F.M.; NGUYEN, P.A.T.; HSU, S.W. The effect of operating and formulations variables on the morphology of spray dried protein. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 87, p. 152-159, 1998.

MAIA PORTE, L.H.; ROCHA LEÃO, M.H.M.; PORTE, A. Avaliação da porosidade de microcápsulas contendo proteína bioativa por porosimetria de mercúrio e adsorção de nitrogênio. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1582-1587, 2011.

MASTER, K. **Spray-drying handbook**. 5th ed. Longman: Harlow, 1991.

MEAGHER, L.; GRIESSER, H.J. Interactions between adsorbed lactoferrin layers measured directly with the atomic force microscope. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 23, n. 2-3, p. 125-140, 2002.

MILLQVIST-FUREBY, A.; ELOFSSON, U.; BERGENSTAHL, B. Surface composition of spray-dried milk protein-stabilised emulsions in relation to pre-heat treatment of proteins. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 21, n. 1-3, p. 47-58, 2001.

MILLQVIST-FUREBY, A., MALMSTEN, M.; BERGENSTAHL, B. Spray-drying of trypsin-surface characterization and activity preservation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 188, p. 243-253, 1999.

NAM, M.S. *et al.* Characterization on Korean native goat lactoferrin. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 123B, p. 201-208, 1999.

PATIL, R.T.; SPEAKER, T.J. Water-based microsphere delivery system for proteins. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 89, p. 9-15, 2000.

PETRELSKI, S. *et al.* Dehydration-induced conformational transitions in proteins and their inhibition by stabilizers. **Biophysical Journal**, v. 65, p. 661-671, 1993.

PROCHASKA, K. *et al.* Surface activity of commercial food grade modified starches. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 60, n. 2, p. 187-194, 2007.

RAFIEE, Z. *et al.* Surface composition of nanoencapsulated food ingredients by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). In: JAFARI, S.M. **Nanoencapsulation in the Food Industry: Characterization of Nanoencapsulated Food Ingredients**. Academic Press, v.4, Chapter 8, 2020, p.243-268.

SHIMAZAKI, K.-I.; KAWANO, N.; YOO, Y.C. Comparison of bovine, sheep and goat milk lactoferrins in their electrophoretic behavior, conformation, immunochemical properties and lectin reactivity. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 98B, n. 2/3, p. 417-422, 1991.

SILVA, F.A.S.E.; AZEVEDO, C.A.V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 4, n. 1, p. 71-78, 2002.

TESH, S.; GERHARDS, C.H.; SCHUBERT, H. Stabilization of emulsion by OSA starches. **Journal of Food Engineering**, v. 54, p. 167-174, 2002.

YEOP, A. *et al.* Stability and controlled release enhancement of *Labisia pumila*'s polyphenols. **Food Bioscience**, v. 41, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2212429221001504#> Acesso em: 14 jun., 2021.

07 Capítulo

Determinação do índice de maturação de azeitonas usando imagens digitais



Capítulo 7

Determinação do índice de maturação de azeitonas usando imagens digitais

Felipe de Carvalho*¹; Amanda Carolina Souza Andrada Anconi²; Cleiton Antônio Nunes³

Resumo

A determinação do índice de maturação é fundamental para obtenção de azeitonas de mesa e azeites de oliva de boa qualidade. O método mais utilizado consiste na contagem individual dos frutos a partir da observação da cor da pele e da polpa, sendo trabalhoso, subjetivo e pouco preciso. Diante disso, este trabalho teve o objetivo de desenvolver e avaliar o desempenho de um método para determinar o nível de maturação de azeitonas utilizando imagens digitais. Foram utilizadas 192 imagens obtidas em olivais do Sul de Minas Gerais, em artigos científicos e livros disponíveis online. A classificação visual do índice de maturação foi realizada por dois analistas e usada como método de referência. Foram testados dois algoritmos: um que sequênciava a imagem pixel a pixel e outro que sequênciava por blocos de pixel, para o qual foi avaliada a influência do número de divisões da imagem. Foi avaliada ainda a influência de variações de brilho e contraste em $\pm 10\%$. Os índices de maturação obtidos para as amostras foram equivalentes àqueles obtidos usando o método visual. O número de divisões afetou pouco o índice de maturação, assim como as variações de brilho e contraste. Portanto, a determinação do índice de maturação de azeitonas usando imagens digitais se mostrou viável, sendo um método rápido e insensível à subjetividade do analista.

Palavras-chave: Oliva. *Olea europaea*. Oliveira. Foto. Pixel.

Introdução

O Brasil é líder mundial em commodities agrícolas, como açúcar, etanol, soja, café, laranjas, aves e carne bovina. Porém, é o trigésimo sexto na produção mundial de azeitonas (FAO, 2017). Entre 1990 e 2013, as importações brasileiras de azeite de oliva e azeitonas de mesa cresceram, respectivamente, 440% e 170% (AMBROSINI *et al.*, 2017). Nos últimos anos, diversos esforços têm

¹ Graduando em Engenharia de Alimentos, Departamento de ciência dos alimentos, Universidade Federal de Lavras.

² Doutoranda em Agroquímica, Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras.

³ Professor Doutor, Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras.

* E-mail para correspondência: felipecarvalho13@outlook.com

sido realizados com o intuito de viabilizar e expandir o cultivo de oliveiras no Brasil. Os estados de Minas Gerais e Rio Grande do Sul tiveram resultados positivos do ponto de vista propagativo e técnico (BORGES, 2018).

A azeitona é fruto da oliveira (*Olea europaea L. subespecie europaea*), uma espécie vegetal arbórea da família botânica Olaceae, composta por mais de 20 gêneros, sendo originária do sul do Cáucaso (Irã, Síria e Palestina) (TEJERO; ROSA, 2020). O desenvolvimento dos frutos da oliveira é iniciado pelo período de floração e dura de seis a oito meses, até que a azeitona alcance o seu peso máximo (COBO *et al.*, 1998). O período da maturação ocorre desde a mudança da cor externa do fruto, com o aparecimento das primeiras manchas de coloração violeta na epiderme, até a coloração preto-violácea em toda a epiderme (GONÇALVES, 2014).

Ainda que a alteração da coloração seja importante na avaliação do período de maturação, uma vez que expressa diversas modificações bioquímicas no fruto (BELTRÁN *et al.*, 2004), diante da expectativa de crescimento da produção de azeite de oliva no Brasil, é de extrema necessidade o desenvolvimento de metodologias mais eficientes, rápidas e precisas para a determinação do IM de azeitonas (ARAGÃO; LIMA; GODOY, 2020). Segundo Guzmán, Pierna e García-Mesa. (2015), para serem aceitas na indústria, tais metodologias devem ser de fácil utilização, baratas e confiáveis.

Para obtenção de azeites de alta qualidade, as azeitonas devem ser colhidas no momento ótimo de maturação, quando os frutos apresentam a máxima quantidade de gordura e características específicas para cada tipo de azeite (BELTRÁN *et al.*, 2004). Assim, a determinação da data de colheita com base na avaliação da evolução da maturação da azeitona é fundamental para garantir a qualidade do produto final (CORDEIRO *et al.*, 2016). Para se obter azeites com sabor mais ácido, deve-se colher azeitonas mais verdes e para ter um produto com sabor mais doce ou frutado, o fruto deve ser colhido mais maduro (CARPENTER; LYON; HASDELL, 2021).

O método mais usado para a determinação do índice de maturação (IM) é baseado na inspeção visual das cores da pele e da polpa das azeitonas. A avaliação precisa e rápida da maturação representa indubitavelmente uma das questões mais críticas na indústria alimentícia em virtude dos altos custos do tempo exigidos por esse processo (CARVALHO, 2015). Segundo Carvalho (2015), o alto custo dessas tecnologias representa um obstáculo para o setor, pois não está ao alcance de pequenas e médias empresas dedicadas a estas indústrias. Então, sistemas de baixo custo para análise de imagens, podem representar um diferencial na balança da competitividade desse exigente mercado (CARVALHO, 2015).

Muitas técnicas de imagem permitem a extração de informações químicas (GELADI; ESBENSEN, 1989). Um método colorimétrico baseado em câmera de celular foi desenvolvido para



a determinação do valor de iodo de óleos vegetais e segundo Peamaroon, Jakmunee e Moonrungsee (2021), o método fornece um resultado de determinação do valor de iodo melhor em comparação com o método de titulação padrão.

De acordo com Gonçalves (2014), estimar o IM por meio de métodos matemáticos utilizando um sistema de cor acoplado à análise multivariada facilita todo o processamento para produtores, uma vez que é uma forma mais precisa e rápida de avaliação, além de ser simples e barata. Neste sentido, o processamento de imagem apresenta-se como uma alternativa. Essa técnica consiste na aplicação de algoritmos às imagens, a fim de que estas possam ser utilizadas para a análise computacional. As principais etapas envolvidas neste processo são a aquisição das imagens, a segmentação e a representação (GONZALEZ; WOODS, 2000). No processo de segmentação da imagem, a região de interesse deve ser definida e extraída para que possa ser visualizada de forma independente e assim, seja então significativa na obtenção de informações para tomadas de decisões (BASAPRAVAD, 2014). A segmentação de uma imagem digital se propõe a agrupar pixels em blocos de acordo com a descrição de uma propriedade associada a estes pixels, tais como cor. Posteriormente, estes dados podem ser utilizados para a classificação das imagens de acordo com a propriedade de interesse. Outra possibilidade para a classificação de imagens é aquela na qual cada pixel é destinado à classe que tem a máxima verossimilhança (LIRA, 2018).

O uso de imagens digitais para análise de azeitonas tem sido relatado na literatura. Ponce, Aquino e Andújar (2019) avaliaram a classificação de diferentes cultivares de azeitonas com Redes Neurais Convolucionais, conseguindo uma exatidão de 95,91%. Soltanikazemi e Mehdizadeh (2017) quantificaram as mudanças de cor que ocorrem durante o processo de adoçamento utilizando um sistema de visão computacional baseado em Redes Neurais Artificiais, atingindo uma exatidão de 93,38%. Vanloot *et al.* (2014) usaram imagens digitais para avaliações métricas de produtos agrícolas como o caroço de azeitona, atingindo uma classificação com 100% de exatidão.

Neste trabalho, um algoritmo de baixo custo computacional para classificação do nível de maturação de azeitonas a partir de imagens digitais foi desenvolvido e seu desempenho avaliado na estimativa do IM.

Material e Métodos

O desenvolvimento desta pesquisa ocorreu em quatro etapas principais, sendo elas: coleta e edição de imagens de azeitonas; classificação visual; teste de influência do número de divisões para formação de blocos de pixels em um dos algoritmos; teste de influência das variações de brilho



(±10%) e contraste (±10%). Neste método, as azeitonas são individualmente classificadas pela coloração, de acordo com oito classes que variam de 0 a 7, sendo que 0 refere-se à coloração verde intensa da epiderme e 7 considera a epiderme com coloração negra e polpa completamente violeta ou negra (BELTRÁN; UCEDA; HERMOSO, 2008). O IM é então calculado pelo somatório da multiplicação do número de cada classe pela quantidade de azeitonas nessa classe, dividido pelo total de frutos analisados (BOSKOW, 1996). Embora seja um método útil, a baixa precisão decorrente da subjetividade do analista configura-se como uma importante desvantagem (DINIZ, 2020).

Foram utilizadas 108 imagens de azeitonas da variedade Maria da Fé obtidas diretamente de olivais do Sul de Minas Gerais e 84 obtidas por meio de pesquisas na internet, em artigos publicados que continham imagens de azeitonas, totalizando 192 imagens.

Para a obtenção das imagens obtidas nos olivais, utilizou-se uma caixa com dimensões 0,06 m x 0,12 m x 0,08 m (largura x comprimento x altura) para se ter um ambiente de luz controlada, na qual a iluminação das amostras foi realizada apenas pelo flash do smartphone (LG K4, 8 MP), usado para fotografar as amostras.

Todas as imagens tiveram o fundo removido e foram salvas em formato JPEG.

A análise visual foi realizada por dois analistas e o IM foi calculado por meio da Equação 1 (BOSKOW, 1996).

$$IM = \frac{(0 \times n_0) + (1 \times n_1) + \dots + (7 \times n_7)}{N} \quad (\text{Eq. 1})$$

Em que n é o número de frutos com determinada classificação e N é o número total de amostras. Os resultados foram usados para comparação com aqueles obtidos com os algoritmos desenvolvidos, realizando o teste t de comparação de médias a 95% de confiança (usando Excel 2007).

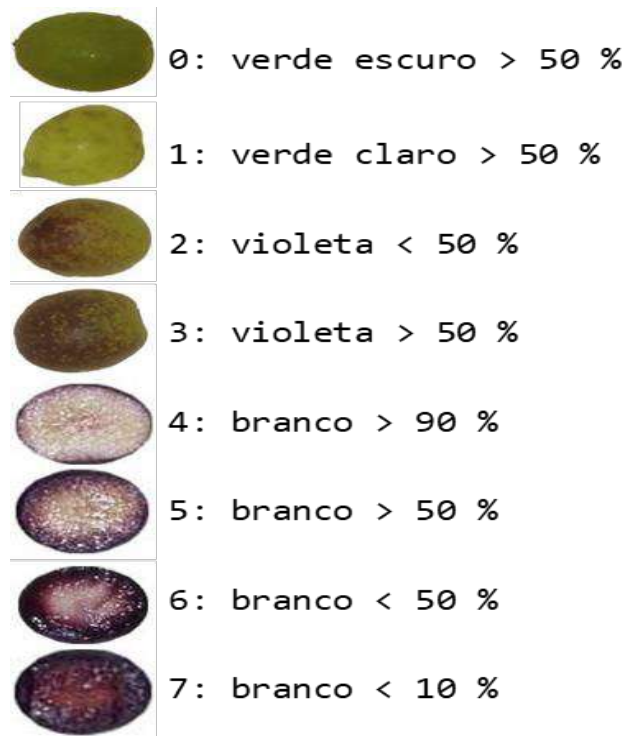
Com o auxílio do programa GNU OCTAVE®, os algoritmos desenvolvidos foram denominados OLIVINDEX e OLIVINDEX2. O OLIVINDEX divide a imagem em blocos de pixels, os quais são sequenciados pela média de RGB de cada bloco. O OLIVINDEX2 não faz essa divisão, e a imagem é sequenciada pixel a pixel. Com o sequenciamento, são obtidos os valores RGB, os quais são usados para classificar os blocos (no OLIVINDEX) ou pixels (no OLIVINDEX2) nas cores verde escuro, verde claro, violeta claro, violeta escuro e branco. Essa classificação é feita com base na distância Euclidiana entre os valores RGB (índice Red-Green-Blue) do bloco ou pixel com valores RGB dos padrões das classes de cores. Por fim, a porcentagem de blocos ou pixels em cada classe é

calculada e usada para estimar os níveis de maturação das azeitonas conforme Figura 1, os quais foram usados para calcular o IM conforme Equação 1.

A influência do número de divisões (nd) para obtenção dos blocos de pixels no OLIVINDEX foi avaliada, sendo testadas nd de 10, 25, 50, 100, 150, 200 e 300. A influência de variação de brilho e contraste nas imagens também foi avaliada, aplicando-se variações de $\pm 10\%$ no brilho e de $\pm 10\%$ no contraste.

A classificação visual foi realizada por dois analistas, seguindo a recomendação de Beltrán, Uceda e Hermoso (2008), em que a maturação das azeitonas pode ser avaliada classificando-se a coloração dos frutos de 0 a 7, sendo 0: epiderme com coloração verde intensa; 1: epiderme com coloração verde clara ou amarelada; 2: epiderme com coloração verde clara ou amarelada, com manchas avermelhadas em menos da metade do fruto; 3: epiderme com coloração avermelhada ou violeta clara em mais da metade do fruto; 4: epiderme com coloração negra e polpa completamente branca ou verde; 5: epiderme com coloração negra e polpa com início de coloração violeta; 6: epiderme com coloração negra e metade ou mais da polpa com coloração violeta; 7: epiderme com coloração negra e polpa completamente violeta ou negra. Este modelo foi adaptado e organizado em uma escala, apresentada na Figura 1.

Figura 1 - Escala de classificação das cores presentes na casca e polpa das azeitonas, para determinação do IM



Fonte: Dos autores, 2021.

Resultados e Discussão

O IM das azeitonas influencia o rendimento de azeite, pois o teor lipídico do fruto muda ao longo do seu amadurecimento. Esse índice também influencia aspectos sensoriais e químicos do azeite, sendo importante para garantir sua qualidade. Desta forma, um método rápido, simples e preciso para a determinação do IM é essencial para que o produtor tenha uma expectativa do rendimento e da qualidade do produto final.

Conforme descrito na metodologia, inicialmente o IM das amostras foi determinado pelo método visual, sendo encontrados os valores de 2,18 e 2,32 pelos dois analistas, respectivamente.

De acordo com Lira (2018) a melhor forma de avaliar o desempenho de um algoritmo de processamento de imagens é por meio de sua implementação, considerando medidas adquiridas após a segmentação e comparando-as com uma referência. Assim, a média dos valores obtidos na análise visual foi utilizada como referência para avaliar o desempenho dos algoritmos desenvolvidos. O IM determinado pelos algoritmos foi estatisticamente igual ($p>0.05$) à média do IM determinado pelos analistas, conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Comparação entre a média dos Índices de Maturação (IMs) determinados visualmente e usando os algoritmos

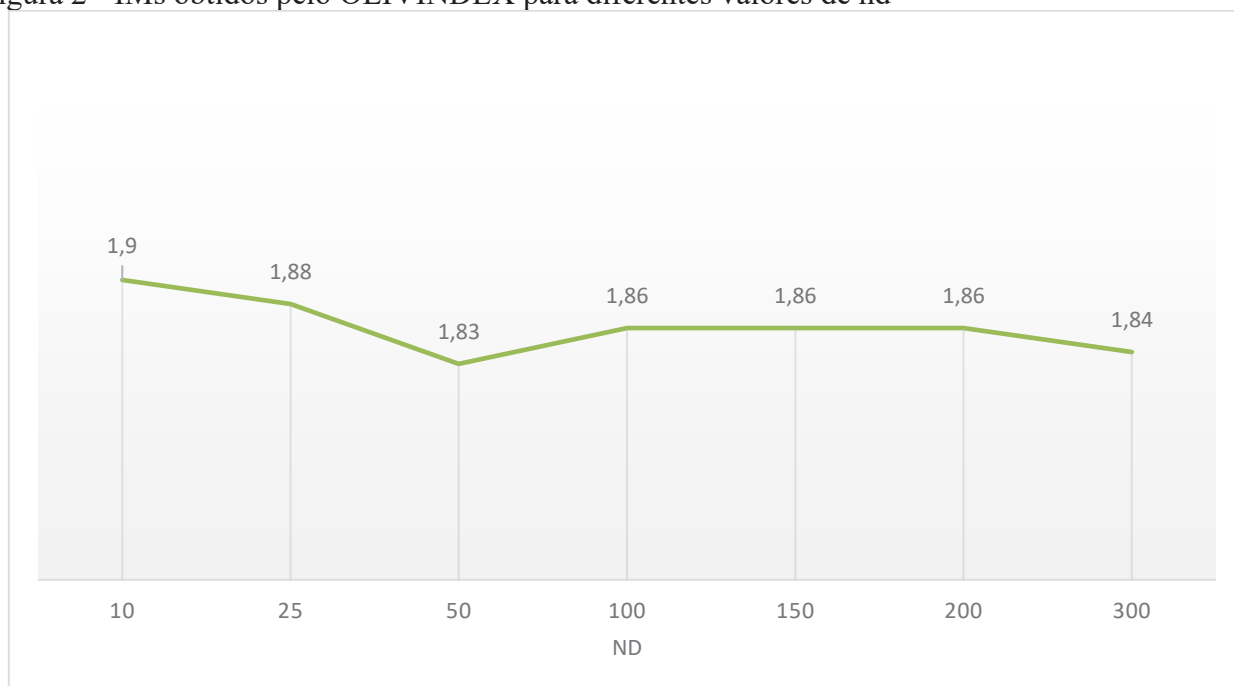
Método de determinação	IM
Análise visual	2,25
OLIVINDEX (nd=100)	1,86
OLIVINDEX2	1,85

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: nd significa número de divisões em partes da imagem

No gráfico da Figura 2 são apresentados os IMs determinados pelo OLIVINDEX em função variação no número de divisões (nd) para obtenção dos blocos de pixels. Nota-se que a variação de nd influenciou pouco o IM das amostras, mas as divisões em 100, 150 e 200 partes produziram um mesmo IM, o qual foi mais próximo do IM obtido usando OLIVINDEX2 (Tabela 1). Maiores valores de IM foram obtidos nos testes para nd=10 e nd=25. Isso pode ser devido ao fato de que blocos menores geralmente levam a uma degradação da qualidade da imagem (KURUVILLA, *et al.*, 2016) o que interfere na classificação.

Figura 2 - IMs obtidos pelo OLIVINDEX para diferentes valores de nd



Fonte: Dos autores, 2021.

Um parâmetro fornecido pelos algoritmos é a quantidade de amostras classificadas em determinado nível de maturação, cujos resultados obtidos para as amostras são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Porcentagem de azeitonas classificadas em cada nível de maturação obtidas pelos algoritmos OLIVINDEX e OLIVINDEX2 e pela análise visual das imagens

	Porcentagem de azeitonas na classe							
	0	1	2	3	4	5	6	7
OLIVINDEX (nd = 100)	19	54	76	26	13	3	0	1
OLIVINDEX2	19	57	73	27	11	3	1	1
Visual	19	65	19	50	26	11	2	2

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: nd significa número de divisões em partes da imagem

Para os dois algoritmos, 91,7% das imagens foram classificadas entre os níveis de maturação 0 e 3, sendo 74% destas classificadas nos níveis 1 e 2 (Tabela 2). Além disso, a classificação das azeitonas em cada classe sofreu pouca ou nenhuma variação de um algoritmo para o outro, justificando a proximidade dos valores de IM determinados por ambos (Tabela 1). Uma comparação

entre a classificação das imagens pela análise visual e pelos algoritmos mostra diferenças importantes nos níveis 2 a 5, sendo as maiores variações apresentadas nos níveis 2, 3 e 4. Os dados evidenciam uma redução de 26% das amostras classificadas no nível 2, e um aumento de 100% das amostras classificadas nos níveis 3 e 4 pelos analistas. A diferença relevante na quantidade de amostras classificadas nos níveis 2 a 5 sugere que a limitação da análise visual está principalmente nas transições de coloração de verde para violeta (níveis 2 e 3), quando essas cores se encontram misturadas na epiderme e de branco para violeta (níveis 4 e 5) quando essas cores se encontram misturados na polpa.

Variações de brilho e contraste foram aplicadas às imagens a fim avaliar a robustez do método. Essas variações influenciaram muito pouco o IM determinado pelos dois algoritmos. Entretanto, as variações ocorridas com OLIVINDEX foram numericamente maiores que aquelas ocorridas com OLIVINDEX2 (Tabela 3). Assim, o IM determinado pelos algoritmos parece ser pouco afetado por variações de $\pm 10\%$ brilho ou $\pm 10\%$ contraste.

Tabela 3 - Índice de maturação (IMs) dados por OLIVINDEX (nd =100) e OLIVINDEX2 para imagens com variações de $\pm 10\%$ no brilho e $\pm 10\%$ no contraste

Algoritmo	Varição	IM
OLIVINDEX	Nenhuma	1,86
OLIVINDEX	+10% brilho	1,89
OLIVINDEX	-10% brilho	1,92
OLIVINDEX	+10% contraste	1,85
OLIVINDEX	-10% contraste	1,94
OLIVINDEX2	Nenhuma	1,85
OLIVINDEX2	+10% brilho	1,85
OLIVINDEX2	-10% brilho	1,85
OLIVINDEX2	+10% contraste	1,83
OLIVINDEX2	-10% contraste	1,88

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: nd significa número de divisões em partes da imagem

Conclusão

O método para determinação do IM de azeitonas baseado em algoritmos de segmentação de imagens produziu IMs equivalentes àquele obtido pelo método visual. A divisão da imagem entre



100 e 200 partes foi mais apropriada no algoritmo que segmenta blocos de pixel da imagem. Os algoritmos não foram consideravelmente sensíveis a variações de $\pm 10\%$ brilho e $\pm 10\%$ contraste aplicados às imagens, fornecendo IMs equivalentes aos obtidos com as imagens originais. Embora os algoritmos tenham apresentado desempenho semelhante, aquele que segmenta a imagem pixel a pixel proporcionou maior velocidade de processamento das imagens devido à simplicidade na segmentação, sendo preferível para a finalidade proposta. Um número maior de imagens de diversas variedades de azeitona, bem como a comparação com IMs determinados por um número maior de analistas devem ser empregados a fim de validar o método. A expectativa é de que, após a validação, este algoritmo possa ser implementado em um aplicativo para smartphones, onde o usuário possa determinar o IM de azeitonas a partir de imagens digitais obtidas das amostras, facilitando e incentivando o controle de qualidade dos produtos nas unidades.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, FAPEMIG e CNPQ pelo apoio financeiro.

Referências

AMBROSINI, L. B. *et al.* Comportamento de compra dos consumidores de azeite de oliva no Brasil: um estudo exploratório. **55º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**, 2017. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201709/15112756-comportamento-do-consumidor-de-azeite-ambrosini-et-al-sober-2017-olivas.pdf>. Acesso em: 1 abr. 2021.

ARAGÃO, C. H.; LIMA, A. F.; GODOY, H. T. **Classificação do azeite de oliva obtido de azeitonas em diferentes índices de maturação, produzidas na região sudeste do Brasil**. UNICAMP. Campinas. 2020. Disponível em: <https://www.prp.unicamp.br/inscricao-congresso/resumos/2020P16424A34303O3859.pdf>. Acesso em: 1 abr. 2021.

BASAPRAVAD, B. A comparative study on classification of image segmentation methods with a focus on graph based techniques. **International Journal of Research in Engineering and Technology**, v. 3, p. 310-315, 2014. Disponível em: <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.674.1234&rep=rep1&type=pdf>. Acesso em: 1 abr. 2021.

BELTRÁN, G. M.; UCEDA, M.; HERMOSO, Y. L. F. **El Cultivo del olivo**. Madri: Ediciones Mundi-Prensa, 2008. 165-184 p.



BELTRÁN, G. *et al.* Seasonal changes in olive fruit characteristics and oil accumulation during ripening process. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, p. 1783-1790, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.1887>. Acesso em: 1 abr. 2021.

BORGES, W. V. **Características físico-químicas de azeites obtidos no Brasil**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Campo Mourão. 2018. Disponível em: http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/9762/1/ARTIGO_Caracter%C3%ADsticas%20f%C3%ADsico%20qu%C3%ADmicas%20e%20perfil%20de%20%C3%A1cidos%20graxos%20de%20azeites%20obtidos%20de.pdf. Acesso em: 1 abr. 2021.

BOSKOW, D. **Olive oil: chemistry and technology**. Champaign: AOCS, 1996. 101-120 p.

CARPENTER, R. P.; LYON, D. H.; HASDELL, T. A. Centro de informação do azeite. **InfoAzeite**, 2021. Disponível em: <http://www.infoazeite.net>. Acesso em: 1 abr. 2021.

CARVALHO, J. N. **Seleção e classificação inteligente de mangas por análise de imagens**. Universidade Federal de Campina Grande. Paraíba, p. 272. 2015. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/xmlui/handle/riufcg/875?show=full>. Acesso em: 1 abr. 2021.

COBO, M. *et al.* **Diseño y manejo de plantaciones de olivar**. [S.l.]: [s.n.], 1998. Disponível em: <https://www.juntadeandalucia.es/servicios/publicaciones/detalle/43739.html>. Acesso em: 1 abr. 2021.

CORDEIRO, A. *et al.* Uma fenologia da maturação e uma oportunidade de colheita da azeitona. **Revista Oleavitis, tiragem 2º trimestre de 2016**, 2016.

DINIZ, P. H. G. D. Chemometrics-assisted color histogram-based analytical systems. **Journal of Chemometrics**, v. 34, n. 12, p. 1-27, 2020.

FAO. Base de dados estatísticos - Faostat Agriculture. **FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2017. Disponível em: <http://www.fao.org.br>. Acesso em: 1 abr. 2021.

GELADI, P.; ESBENSEN, K. Can image analysis provide information useful in chemistry? **Journal of Chemometrics**, v. 3, n. 2, p. 419-429, 1989. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cem.1180030209>. Acesso em: 1 abr. 2021.

GONÇALVES, E. D. Aspectos agronômicos que influenciam na elaboração de azeite de oliva de qualidade. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, 2014. 13-21.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Processamento de imagens digitais**. 1. ed. São Paulo: Blucher, 2000.

GUZMÁN, E. B. V.; PIERNA, J. A. F.; GARCÍA-MESA, J. A. Determination of the olive maturity index of intact fruit using images analysis. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 1462-1470, 2015.



KURUVILLA, J. *et al.* A review on image processing and image segmentation. *In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON DATA MINING AND ADVANCED COMPUTING (SAPIENCE)*, 2016, Índia. **Proceedings of 2016 International Conference on Data Mining and Advanced Computing (SAPIENCE)** pp. 198-203, 2016. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/document/7684170>. Acesso em: 1 abr. 2021.

LIRA, F. C. Aplicação de **Agrupamento Semissupervisionado para Segmentação de Imagens Coloridas**. 2018 Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciência da Computação) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018. Disponível em: <http://www.bcc.ufrpe.br/sites/ww3.bcc.ufrpe.br/files/Francisco%20Lira.pdf>. Acesso em: 1 abr. 2021.

PEAMAROON, N.; JAKMUNEE, J.; MOONRUNGSEE, N. A Simple Colorimetric Procedure for the Determination of Iodine Value of Vegetable Oils Using a Smartphone Camera. **Journal of Analysis and Testing**, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s41664-021-00168-x>. Acesso em: 1 abr. 2021.

PONCE, J. M.; AQUINO, A.; ANDÚJAR, J. M. Olive-Fruit Variety Classification by Means of Image Processing and Convolutional Neural Networks. **IEEE Access**, v. 7, p. 147269-147641, 2019. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/288795699.pdf>. Acesso em: 1 abr. 2021.

SOLTANIKAZEMI, M.; MEHDIZADEH, S. A. Classification of bitter and sweet olives using image processing and artificial neural networks during curing process in brine and water environments. **International Journal of Food Properties**, p. 1954-1964, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1360904>. Acesso em: 1 abr. 2021.

TEJERO, I. P. T.; ROSA, A. L. T. Potencial da olivicultura no sul do Brasil. **AGROPAMPA**, Dom Pedrito, v. 1, n. 1, p. 114-123, 2020. Disponível em: <https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/Agropampa/article/view/101224#:~:text=Na%20regi%C3%A3o%20Sul%20do%20Estado,no%20mercado%20de%20exporta%C3%A7%C3%A3o%20a%20zeite>. Acesso em: 1 abr. 2021.

VANLOOT, P. *et al.* Artificial vision and chemometrics analyses of olive stones for varietal identification of five French cultivars. **Comput. Electron. Agric.**, v. 102, p. 98-105, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2014.01.009>. Acesso em: 1 abr. 2021.



08 Capítulo

Teores de corantes
artificiais em
refrigerantes e
pós para preparo
de bebidas

Capítulo 8

Teores de corantes artificiais em refrigerantes e pós para preparo de bebidas

Alexandre Porte*¹; Luciana Helena Maia Porte²; Marília dos Santos Galvão³; Carlos Rafael de Araujo Pais³; Victor Hugo Lima de Medeiros Macedo³; Ana Carolina Rabello da Silva Mazzoli³

Resumo

Refrigerantes e bebidas preparadas a partir de dissolução de pós especialmente preparados e sacarose em água, equivocadamente chamadas de “refrescos”, são duas bebidas coloridas artificialmente e consumidas por crianças. Os corantes artificiais tornam as bebidas visualmente atrativas, mas estão relacionados a diversos problemas de saúde e por isto sua adição é restrita no Brasil e proibida em vários países do mundo. Infelizmente, não há como saber a dosagem de corantes artificiais consumida através dos rótulos dos produtos, por isto o objetivo deste trabalho foi quantificar os corantes artificiais presentes em refrigerantes e pós para preparo de bebidas através de método espectrofotométrico. Em todos os refrigerantes sabor uva, o corante amarantho foi detectado em valores de 163% a 290% acima do limite máximo permitido pela legislação brasileira. Este corante é potencialmente tóxico, embriotóxico, mutagênico e carcinogênico. Nos pós para preparo de bebidas os teores de amarantho atingiram 11.526% acima do limite máximo permitido pela legislação. Os corantes amarelo crepúsculo, azul brilhante, azul indigotina e tartrazina também foram detectados acima do limite máximo estabelecido pela legislação em valores desde 131% até 2.037%. Nenhuma marca comercial apresentou níveis de corantes artificiais abaixo do limite máximo permitido pela legislação nos pós para preparo de bebidas. Mesmo entre lotes diferentes de uma mesma marca houve diferença significativa entre os teores de um mesmo corante, revelando padronização deficiente na adição de corantes artificiais nos pós para preparo de bebidas. Uma lata de refrigerante sabor uva pode ultrapassar a Ingestão Diária Admissível (IDA) de amarantho em crianças, mas um copo (200 mL) bebida preparada ou uma lata de refrigerante (350 mL) não atingem a IDA de nenhum outro corante. O consumo exagerado destas bebidas ou a associação com outros alimentos contendo corantes artificiais pode expor as crianças a risco.

Palavras-chave: Aditivos alimentares. Bebidas gaseificadas. Bebidas não gaseificadas. Pigmentos.

¹ Professor, Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO).

² Professora, Departamento de Administração e Turismo, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

³ Discentes do Curso de Nutrição Integral, UNIRIO.

*E-mail para correspondência: alexandre.porte@unirio.br

Introdução

Os corantes alimentares artificiais são considerados aditivos alimentares que não apresentam valor nutricional e são adicionados intencionalmente aos alimentos processados tecnologicamente para conferir artificialmente coloração adequada em produtos que não contenham alimentos com a coloração desejada de forma natural. O uso de corantes alimentares artificiais torna o produto mais atraente, afetando positivamente a aceitação de suas características sensoriais (PRADO; GODOY, 2003; STEVENS *et al.*, 2014).

Atualmente no Brasil são permitidos para alimentos e bebidas o uso de 11 corantes artificiais. Regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) os aditivos são inofensivos à saúde desde que obedeçam a Ingestão Diária Aceitável (IDA) estabelecida para cada um deles (PRADO; GODOY, 2003; SANTANA *et al.*, 2018). Entretanto, há uma preocupação acerca de alterações comportamentais, manifestações físicas, interferência na biodisponibilidade de nutrientes e uma possível intoxicação crônica pelo consumo dos corantes alimentares artificiais (ROSS *et al.*, 2014; STEVENS *et al.*, 2013; STEVENS *et al.*, 2014).

Os rótulos dos alimentos apresentam os corantes alimentares artificiais presentes, mas não informam as concentrações destas substâncias nas porções dos alimentos. É impossível prever as doses reais de corantes alimentares artificiais consumidas diariamente e a associação de vários alimentos contendo estes corantes alimentares artificiais na dieta pode levar a um consumo superior ao limite considerado como seguro, sobretudo em crianças, cujo peso corporal inferior ao adulto limita mais ainda o consumo de corantes alimentares artificiais. Por isso, o objetivo deste trabalho foi dosar os corantes artificiais indicados nos rótulos de refrigerantes sabores uva, laranja e cítrico e pós para preparo de bebidas de sabores laranja, tangerina, limão, caju, abacaxi, abacaxi com hortelã, uva, pêssego, manga e maracujá através de método espectrofotométrico.

Material e Métodos

Foram analisados refrigerantes sabor uva, laranja e cítrico. Os refrigerantes sabor limão são incolores e os refrigerantes sabor cola e guaraná utilizam corantes caramelo que não foram incluídos neste trabalho.

Os alimentos foram adquiridos do mercado local e são descritos no Quadro 1.



Quadro 1 - Descrição dos alimentos contendo corantes artificiais

Alimento	Descrição
Refrigerantes	
- sabor uva	- 5 marcas comerciais diferentes, sendo que uma delas continha produtos com e sem adição de sacarose
- sabor laranja	- 3 marcas comerciais diferentes, sendo que uma delas continha produtos com e sem adição de sacarose
- sabor cítrico (mistura de frutas cítricas)	- 4 marcas comerciais diferentes
Pós para preparo de bebidas	
- sabor caju	- 1 marca comercial
- sabor abacaxi com hortelã	- 1 marca comercial
- sabor pêssego	- 1 marca comercial
- sabor uva	- 4 marcas comerciais diferentes
- sabor tangerina	- 3 marcas comerciais diferentes
- sabor abacaxi	- 2 marcas comerciais diferentes
- sabor laranja	- 3 marcas comerciais diferentes
- sabor limão	- 3 marcas comerciais diferentes
- sabor manga	- 2 marcas comerciais diferentes
- sabor maracujá	- 2 marcas comerciais diferentes

Fonte: Dos autores, 2021.



Extração dos corantes artificiais dos alimentos

Alimentos líquidos – 150 mL de refrigerantes foram congelados a -78 °C e liofilizados. O material desidratado foi extraído com 25 mL de metanol contendo 5% de hidróxido de amônio e filtrado. O filtrado contendo os corantes foi recolhido em balão volumétrico de 50 mL. O procedimento foi repetido e ao final o balão volumétrico foi avolumado com o solvente.

Alimentos sólidos – os corantes de 1,5 g de pós para preparo de bebidas foram extraídos com 15 mL de metanol contendo 5% de hidróxido de amônio, filtrado e recolhido em balão volumétrico de 50 mL. O procedimento foi repetido mais 2 vezes e ao final o balão volumétrico foi avolumado com o solvente. Para a determinação do teor do corante amarantho em pós para preparo de bebidas sabor uva, foi necessária uma diluição final do conteúdo do balão volumétrico na proporção de 1:1 com solvente antes da leitura.

Determinação do teor dos corantes por espectrofotometria

A determinação das concentrações de corantes artificiais foi realizada segundo Takahashi; Yubiko; Marsiglia (1988).

Os corantes contidos nos extratos metanólicos foram analisados em espectrofotômetro e quantificados através de equações da reta geradas a partir de curvas de calibração de 5 pontos usando padrões de corantes Sensient Colors Latin America, Lerma México. Solução de metanol contendo 5% de hidróxido de amônio foi utilizada como branco (Quadro 2).

Os corantes analisados, seus respectivos comprimentos de onda, a ingestão diária aceitável e as concentrações máximas permitidas pela legislação brasileira são apresentados na Tabela 1. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

Para a análise dos pós para preparo de bebidas, foram utilizadas 3 embalagens diferentes de 3 lotes distintos. Para a análise dos refrigerantes, foi analisada 1 embalagem de 3 lotes diferentes. Os resultados encontrados nos pós para preparação de bebidas foram tratados por análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$) no programa Assistat 7.7 beta (SILVA; AZEVEDO, 2002). Todos os resultados foram comparados com os limites máximos estabelecidos dos corantes pela legislação brasileira através de teste t.



Quadro 2 - Dados das Curvas de calibração

Corante	Concentrações das soluções usadas para criar a curva padrão (mg de corante/100 mL de solução)	Equação da reta	R ²
Amarelo crepúsculo	10,0; 7,5; 5,0; 2,5; 1,0	$y = 401,55x - 189,83$	0,9810
Azul brilhante	0,5; 0,25; 0,05; 0,025; 0,01	$y = 0,8192x - 0,0003$	0,9983
Azul indigotina	10,0; 7,5; 5,0; 2,5; 1,0	$y = 0,0922x - 0,0164$	0,9987
Amaranto	10,0; 7,5; 5,0; 2,5; 1,0	$y = 0,263x - 0,029$	0,9952
Tartrazina	10,0; 7,5; 5,0; 2,5; 1,0	$y = 0,3253x - 0,0177$	0,9997

Fonte: dos autores (2021)

Tabela 1 - Corantes artificiais indicados nos rótulos dos alimentos estudados, comprimentos de onda de suas leituras espectrofotométricas, ingestão diária aceitável (IDA) e as concentrações máximas permitidas nas categorias de alimentos estudados aqui de acordo com a legislação brasileira

Corante (código internacional e código europeu de corantes)	IDA* (mg/Kg)	Limite máximo em A** (mg/100g ou mg/100 mL)
Amarelo Crepúsculo (INS 110 ou E 110)	4	10
Azul brilhante FCF (INS 133 ou E 133)	12,5	10
Azul indigotina (INS 132 ou E 132)	5	10
Amaranto (INS 123 ou E 123)	0,5	5
Tartrazina (INS 102 ou E 102)	7,5	10

Fonte: BRASIL (2016); FAO/WHO (2021); PRADO; GODOY (2003).

Legenda: * IDA = Ingestão Diária Aceitável (FAO/WHO, 2021; PRADO; GODOY, 2003).

**A = Bebidas não alcóolicas gaseificadas e não gaseificadas prontas para o consumo e em pós para preparo de bebidas gaseificadas e não gaseificadas (BRASIL, 2016).

Resultados e discussão

Os refrigerantes sabores laranja e cítrico, apresentaram como únicos corantes amarelo crepúsculo e tartrazina, respectivamente, exceto em uma marca comercial de refrigerante sabor laranja, cujo rótulo indicava a presença dos dois corantes simultaneamente. As análises, entretanto, mostraram que esta marca apesar de informar a presença de amarelo crepúsculo, este não se encontrava no produto.

Os rótulos dos refrigerantes sabor uva de 3 marcas comerciais diferentes indicavam a presença amaranto, tartrazina e azul brilhante simultaneamente. Uma marca continha apenas amaranto e azul brilhante, sem a presença de tartrazina e outra marca continha amarelo crepúsculo substituindo tartrazina.

A Tabela 2 apresenta as concentrações dos corantes encontrados nos refrigerantes.

Tabela 2 - Teores de corantes artificiais em refrigerantes (mg de corante/100 mL de bebida)

Sabores	Marcas	Corantes			
		Amarelo Crepúsculo	Tartrazina	Amaranto	Azul brilhante
Cítrico	1		2,14		
	2		1,26		
	3		3,40		
	4		4,90		
Uva	1			14,51	1,45
	2		7,51	12,91	1,95
	3		4,13	10,37	0,71
	3 sem sacarose		5,09	13,91	0,90
	4	0,95		8,18	0,73
Laranja	1	0,24			
	1 sem sacarose	0,95			
	2	0,24			
	3 sem sacarose	Não detectado	0,001		

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: resultados expressos em média de triplicatas.

O refrigerante de laranja sem sacarose da Marca 1, apresentou valor 4 vezes maior de corante amarelo crepúsculo ($p < 0,05$) que o mesmo refrigerante adicionado de açúcar. Mesmo assim, os teores de amarelo crepúsculo, tartrazina e azul brilhante em todos os refrigerantes estudados apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação. A concentração de amaranho nos refrigerantes sabor uva, em todas as marcas estudadas, variou de 163% a 290% acima ($p < 0,05$) do limite máximo (5 mg/100 mL) permitido pela legislação.

O amaranho também foi o corante presente em maiores concentrações no estudo de gelatinas brasileiras (PRADO; GODOY, 2004). Já no trabalho de Floriano *et al.* (2018) com bebidas para atletas, os teores de amaranho e de outros corantes alimentares artificiais estudados estavam dentro dos limites estabelecidos pela legislação. Neste último trabalho, entretanto, o objetivo foi desenvolver e validar uma metodologia de análise para os corantes através de cromatografia líquida de alta eficiência e apenas 8 amostras comerciais de bebidas para atletas foram analisadas.

O amaranho foi comercialmente banido nos Estados Unidos da América, Japão e da Europa, mas ainda é permitido no Canadá, China, Austrália e Nova Zelândia (FLORIANO *et al.*, 2018; ROSS *et al.*, 2014; ROVIMA; SIDDIQUEE; MDSHAARANI, 2017).

O amaranho, também conhecido como Bordeaux S, pertence ao grupo de corantes azo, que são considerados potencialmente tóxicos, embriotóxicos, mutagênicos, carcinogênicos e poluentes (PAZ *et al.*, 2019; ROVIMA; SIDDIQUEE; MDSHAARANI, 2017). De fato, existe uma alta incidência de câncer de bexiga em trabalhadores expostos a corantes do tipo azo (CHUNG, 2016).

Levando em consideração a porção de consumo sugerida em uma das marcas comerciais, que é de 350 mL de produto (uma lata), a média da concentração de cada um dos corantes quantificados foi de 41,10 mg de amaranho/350 mL, 1,34 mg de azul-brilhante FCF/350 mL, 13,46 mg de Tartrazina/350 mL e 3,32 mg de amarelo-crepúsculo/350 mL. A IDA para uma criança de 10 anos pesando 32 kg é de 16,00 mg de amaranho, 320,00 mg de azul-brilhante FCF, 240,00 mg de tartrazina e 80,00 mg de amarelo-crepúsculo (PRADO; GODOY, 2003). Caso uma criança consumisse uma porção de refrigerante ela extrapolaria sua IDA para o corante amaranho e embora os outros corantes não ultrapassem os valores de suas respectivas IDAs, o consumo de outros alimentos contendo corantes artificiais pode ser motivo de preocupação, uma vez que diversos produtos alimentícios direcionados para o público infantil são coloridos artificialmente de forma intencional, para torná-los mais atrativos.

Os pós para preparo de bebidas são popularmente e erroneamente conhecidos como refrescos ou pós para refrescos.

Os corantes azul brilhante e azul indigotina foram analisados nos pós para preparo de bebidas sabor uva. O teor do corante azul brilhante foi superior ao limite máximo permitido pela legislação nas marcas 1 e 2, 12,75 mg/100 g e 12,79 mg/100 g, respectivamente.

A marca 4 continha azul brilhante abaixo do limite da legislação, 0,27 mg/100 g. Não foi detectada a presença do corante azul brilhante na marca 3, embora estivesse descrito no rótulo do produto. O corante azul indigotina, presente nas marcas 3 e 4, foi detectado em concentrações muito superiores ao limite estabelecido pela legislação, 73,75 mg/100 g e 25,62 mg/100 g, sendo que a marca 3 continha 7 vezes mais o limite máximo de azul indigotina. O limite máximo de ambos os corantes é de 10 mg/100 g.

O corante amaranto foi analisado nos pós para bebidas sabor uva e tangerina (duas marcas comerciais diferentes em cada sabor) e foram detectados 576,30 mg/100 g e 81,38 mg/100 g do corante nos pós para bebidas sabores uva e tangerina, respectivamente. Os valores encontrados de amaranto no pó para bebida sabores tangerina e uva estão mais de 8 vezes acima do valor máximo permitido pela legislação no sabor tangerina e 50 vezes no sabor uva.

O corante sintético amarelo crepúsculo é normalmente empregado em associação com tartrazina em vários alimentos (FREITAS, 2012). Amarelo crepúsculo foi analisado em pós para bebidas sabor: laranja, abacaxi, manga, maracujá, tangerina, caju e abacaxi com hortelã (sendo 3 marcas comerciais diferentes para os sabores laranja e tangerina; 2 marcas diferentes para os abacaxi, manga e maracujá; 1 marca para os sabores de caju e abacaxi com hortelã). As concentrações de amarelo crepúsculo encontradas nos pós para bebida sabor laranja, abacaxi, manga, maracujá, tangerina, caju e abacaxi com hortelã foram: 125,86 mg/100 g, 38,94 mg/100 g, 115,14 mg/100 g, 13,64 mg/100 g, 52,70 mg/100 g, 29,31 mg/100 g e 17,73 mg/100 g, respectivamente. Todos os pós ultrapassaram o limite máximo estabelecido pela legislação brasileira para estes corantes, de 10 mg/100 g, sendo que nos sabores laranja e manga o teor de corante foi mais de 10 vezes superior ao limite máximo permitido. O pó sabor maracujá apresentou o menor teor de corante. Marcas diferentes apresentaram valores distintos de teores de corante de pós de mesmo sabor (de 35,49 mg/100 g a 185,14 mg/100 g no pó sabor laranja e tangerina de 31,64 mg/100 g a 94,71 mg/100 g por exemplo). Por outro lado, uma porção do produto pronto (200 mL) de qualquer sabor, não atinge a IDA mesmo em crianças com apenas 12 kg de peso corporal, pois as massas de pó para preparo de bebidas empregadas variam de 1,3 g a 1,5 g para preparar 200 mL de bebida. Então, embora os pós para preparo de bebidas contenham elevados teores de corantes artificiais, por outro lado, se emprega pouco pó na preparação da bebida.

O corante tartrazina foi analisado nos pós para bebidas sabores abacaxi, manga, laranja e limão e os resultados apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Concentração de tartrazina em mg/100 g de pó para preparo de bebida

Marca/ Sabor	Abacaxi	Laranja	Limão	Manga	Maracujá
Marca 1					
Lote 1	14,00 ^c	98,38 ^c	30,53 ^b	126,76 ^a	25,32 ^a
Lote 2	23,18 ^a	131,53 ^b	21,39 ^c	78,60 ^c	19,43 ^b
Lote 3	18,69 ^b	137,93 ^a	54,07 ^a	92,00 ^b	15,57 ^c
Marca 2					
Lote 1	54,31 ^b	31,40 ^b	38,29 ^c	51,31 ^c	13,08 ^c
Lote 2	36,22 ^c	29,18 ^c	87,04 ^a	54,27 ^b	17,20 ^a
Lote 3	65,62 ^a	34,27 ^a	57,84 ^b	69,42 ^a	16,74 ^b
Marca 3					
Lote 1	-	166,62 ^b	51,93 ^a	-	-
Lote 2	-	203,78 ^a	47,24 ^b	-	-
Lote 3	-	132,02 ^c	53,47 ^a	-	-
Média da Marca 1	18,62 ^B ± 3,75	122,61 ^B ± 18,39	35,33 ^B ± 14,66	99,12 ^A ± 21,52	20,10 ^A ± 4,25
Média da Marca M2	52,05 ^A ± 12,10	31,61 ^C ± 2,21	61,06 ^A ± 21,46	58,33 ^B ± 8,43	15,67 ^B ± 1,96
Média da Marca M3	-	167,47 ^A ± 31,08	50,88 ^{AB} ± 2,86	-	-
Média do sabor das diferentes marcas (M1, M2 e M3)	35,38 ^{bc}	107,23 ^a	49,09 ^b	78,73 ^a	17,89 ^c

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: resultados expressos em média de triplicatas.

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) do teor de tartrazina entre lotes diferentes de uma mesma empresa (Diferença entre Lotes 1, 2 e 3).

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) do teor de tartrazina entre marcas comerciais diferentes.

Letras minúsculas diferentes na última linha da Tabela 1 indicam diferença significativa ($p < 0,05$) do teor de tartrazina entre sabores diferentes.

Foi observada significativa heterogeneidade nos teores de tartrazina para diferentes lotes de uma mesma marca comercial em todos os sabores avaliados, o que sugere padronização deficiente na

adição de tartrazina aos pós para bebida e dificulta a construção de uma tabela contendo o teor de tartrazina para uso rotineiro na prática clínica.

Não foi possível identificar uma única marca comercial com menores teores de tartrazina em todos os sabores.

A marca 2 apresentou menores teores de tartrazina que as marcas comerciais 1 e 3 para os sabores de laranja, manga e maracujá, enquanto a marca 1 apresentou menores teores de tartrazina que as outras marcas comerciais para os sabores de abacaxi e limão. Os pós para bebida sabor laranja e manga apresentaram os maiores teores de tartrazina, superando em várias vezes o limite de 10 mg de tartrazina/100 g de pó para bebida gaseificada ou não gaseificada previsto na legislação brasileira (BRASIL, 2016). Os pós para bebida sabor maracujá e abacaxi apresentaram os menores teores de tartrazina entre os sabores estudados, mas mesmo assim, ainda estavam acima do limite permitido pela legislação.

Nenhum pó para bebida apresentou teor de tartrazina até o limite máximo permitido pela legislação. O teor de tartrazina encontrado nos pós para bebida sabor maracujá (17,89 mg/100 g) foram semelhantes ao encontrado por Takahashi; Yubiko; Marsiglia (1988) 20 mg/100 g, mas o teor de tartrazina encontrado nos pós para bebida sabor laranja (107,23 mg/100 g) foi 3 vezes maior que o valor encontrado por aqueles autores (36 mg/100 g). Os pós para bebida de cores mais intensas (laranja e manga) apresentaram maior teor de tartrazina e o pó para bebida sabor maracujá, apesar de amarelo apresentou menor teor de tartrazina que o pó para bebida sabor limão, o que pode ser justificado pela presença de outros corantes simultaneamente para atingir a coloração amarela.

Todos os sabores de pós para bebidas continham teores de todos os corantes muito acima daqueles permitidos pela legislação. A Tabela 4 apresenta as porcentagens acima do limite máximo permitido de cada corante nos pós para bebida.

As porções dos pós para bebidas descritas nos rótulos dos produtos para preparar um copo de 200 mL da bebida pronta, são próprias de cada marca comercial, assim uma porção do pó para bebida das marcas 1, 2 e 3 são 6,0 g, 5,0 g e 1,5 g, respectivamente. Isto significa que se o consumidor tomasse um copo de 200 mL de qualquer sabor ou marca da bebida pronta produzida a partir do pó para bebida, ele estaria consumindo no máximo 7,3 mg de tartrazina (no caso da bebida sabor laranja da marca 1, que continha o pó para bebida com maior concentração de tartrazina por porção) e a IDA é de 7,5 mg de tartrazina/kg de peso corpóreo. Para fins de ilustração, uma criança de 4 anos de idade pesando cerca de 20 kg, poderia tomar 20 copos da bebida por dia até atingir a IDA. Por isso, acredita-se que, apesar dos elevados teores de tartrazina encontrados nos pós para bebidas o risco maior para

os consumidores não sensíveis ao corante está na associação de vários produtos contendo este corante na dieta ou no consumo abusivo de porções de determinados produtos diariamente.

Tabela 4 – Porcentagem de corantes artificiais acima do limite máximo permitido pela legislação brasileira em pós para bebida

Sabor do pó para preparo de bebida	Azul brilhante (%)	Azul indigotina (%)	Amaranto (%)	Amarelo crepúsculo (%)	Tartrazina (%)
Uva	12	256 a 737	11.526		
Tangerina			1.627	527	
Laranja				1258	292 a 2.037
Abacaxi				390	140 a 656
Manga				1.151	513 a 1.267
Maracujá				136	131 a 253
Caju				293	
Abacaxi com hortelã				177	

Fonte: Dos autores, 2021.

Conclusão

Consumimos corantes alimentares artificiais proibidos em muitos países do mundo.

A maioria dos produtos analisados apresentou teores de corantes alimentares artificiais que ultrapassam os limites legais vigentes. Os refrigerantes sabor uva apresentaram teores de amaranato de 163% a 290% acima limite máximo permitido pela legislação brasileira. Nos pós para preparo de bebidas os teores de amaranato atingiram 11.526% acima do limite máximo permitido pela legislação. Os corantes amarelo crepúsculo, azul brilhante, azul indigotina e tartrazina também foram detectados acima do limite máximo estabelecido pela legislação em valores desde 131% até 2.037%.

Quanto mais escuros os alimentos, maior foi o teor de corante encontrado, por isto, o sabor uva, tanto no refrigerante, quanto nos pós para refrescos foi o sabor com os teores de corantes artificiais mais elevados.

O teor de amaranato em refrigerantes de uva pode ultrapassar a Ingestão Diária Admissível em crianças, visto que a porção de latas de refrigerantes são elevadas (350 mL).

Embora elevados, os níveis dos teores dos corantes nos pós para preparo de bebidas não foram suficientes por si só, para atingir níveis que poderiam causar intoxicações em crianças se for consumida uma porção diária do produto, uma vez que são adicionados em massas reduzidas para preparar as bebidas, mas a combinação de alimentos contendo corantes alimentares artificiais ou o consumo excessivo dos alimentos analisados neste estudo, tornam impossível dizer com segurança que não há risco.

Agradecimentos

Os autores agradecem à UNIRIO pelo apoio financeiro na forma de bolsas de Iniciação Científica e de Monitoria para os discentes que participaram deste trabalho.

Referências

BRASIL. RDC nº 5, de 15 de janeiro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico sobre “atribuição de aditivos e seus limites máximos para a categoria de alimentos 16.2: bebidas não alcoólicas, subcategoria 16.2.2: bebidas não alcoólicas gaseificadas e não gaseificadas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, 17 jan. 2007. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/27908> Acesso em: 09 ago. 2016.

CHUNG, K. T. Azo dyes and human health: a review. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 34, p. 233-261, 2016.

FAO/WHO. **Compendium of food additive specifications**. 79^o Meeting, 2014. Rome: FAO/WHO, 2014. Disponível em: <http://www.fao.org/3/i4144e/i4144e.pdf> Acesso em: 27 maio, 2021.

FLORIANO, L. *et al.* Determination of six synthetic dyes in sports drinks by dispersive solid-phase extraction and HPLC-UV-Vis. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 3, p. 602-608, 2018.

FREITAS, A. S. Tartrazina: uma revisão das propriedades e análises de quantificação. **Acta Tecnológica**, v. 7, n. 2, p. 65-72, 2012.

PAZ, A. B. *et al.* Hydrogen peroxide electrogeneration by gas diffusion electrode modified with tungsten oxide nanoparticles for degradation of orange II and sunset yellow FCF azo dyes. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 30, n.9, p. 1964-1975, 2019.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes artificiais em alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 14, n. 2, p. 237–250, 2003.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Determinação de corantes artificiais por cromatografia líquida de alta eficiência em pós para gelatina. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 22-26, 2004.



ROSS, A. C. *et al.* **Modern Nutrition in Health and Disease**. 11. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2014.

ROVIMA, K.; SIDDIQUEE, S.; MDSHAARANI, S. Toxicology, extraction and analytical methods for determination of amaranth in food and beverage products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 65, p. 68-79, 2017.

SANTANA, J. K. G. *et al.* Staining fungal structures with artificial dyes used in the industry of juices. **Ciêncial Rural**, v. 48, n. 9, Epub, 2018.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.4, n.1, p. 71-78, 2002.

STEVENS, L. J. *et al.* Mechanisms of behavioral, atopic, and other reactions to artificial food colors in children. **Nutrition Reviews**, [s. l.], v. 71, n. 5, p. 268–281, 2013.

STEVENS, L. J. *et al.* Amounts of artificial food colors in commonly consumed beverages and potential behavioral implications for consumption in children. **Clinical Pediatrics**, [s. l.], v. 53, n. 2, p. 133–140, 2014.

TAKAHASHI, M.; YUBIKO, H. Y.; MARSIGLIA, D. A. P. Determinação Quantitativa de Corantes Artificiais em Alimentos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, [s. l.], v. 48, n. 1/2, p. 7–15, 1988.



09 Capítulo



Avaliação de parâmetros físicos de grãos de café de cultivares de *Coffea arabica* L. em relação a face de exposição das plantas e via de processamento pós-colheita

Capítulo 9

Avaliação de parâmetros físicos de grãos de café de cultivares de *Coffea arabica* L. em relação a face de exposição das plantas e via de processamento pós-colheita

Sabrina Alves da Silva^{1*}; Rosemary Gualberto Fonseca Alvarenga Pereira²;
Fabiana Carvalho Pires³; Bruno Batista Ribeiro⁴

Resumo

As características físicas dos grãos de café são importantes para a qualidade da bebida e para a rentabilidade do produtor do agronegócio. A exposição solar dos frutos e o tipo de processamento pós-colheita influenciam na qualidade sensorial da bebida. Esse trabalho objetivou avaliar os parâmetros físicos dos grãos de café em função da exposição solar dos frutos (sombra ou sol pela manhã) e tipo de processamento pós-colheita (via úmida e seca) de seis cultivares comerciais de *Coffea arabica* L (Bourbon amarelo, Catuaí vermelho IAC-144, Iapar 59, Obatã IAC 1669-20, Paraíso MG H 419-1 e Topázio MG 1190). Foram mensuradas a densidade aparente dos grãos crus e torrados, a perda de massa entre grãos crus e torrados e as dimensões X, Y e Z destes grãos. Uma cultivar não teve qualquer influência dos tratamentos (sol, sombra, via úmida e via seca) nos parâmetros físicos dos grãos, sendo ela a Catuaí Vermelho. Quanto a perda de massa entre os grãos de café cru e torrado, não houve diferença entre as cultivares e os tratamentos. A exposição solar dos frutos ao sol da manhã, não influenciou na densidade aparente dos grãos crus ou torrados. Com relação as dimensões dos grãos crus, a cultivar Iapar 59 na face sombra processada via úmida, e a cultivar Bourbon amarelo na face sol processada via seca apresentaram maiores valores dos parâmetros Y e Z, e X e Z, respectivamente.

Palavras-chave: Densidade do grão. Exposição solar. Via seca. Via úmida. Análise física.

¹ Pós-doutoranda, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa - Campus de Rio Paranaíba.

² Professor, Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras.

³ Doutoranda, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

⁴ Doutor, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras.

*E-mail para correspondência: sabrina.alves@ufv.br

Introdução

A caracterização dos atributos físicos de grãos de café é um dos fatores que afetam a qualidade e a rentabilidade do produtor. Grãos homogêneos quanto as suas dimensões possuem melhor desempenho durante o processo de torra, originando bebidas de melhor qualidade, contudo, grãos excessivamente torrados possuem menor corpo e acidez, diminuindo a qualidade da bebida (HU *et al.*, 2020). Grãos de café maiores e de maior massa, proporcionam ao produtor maior lucratividade, já que a renda do café (i.e.: quantidade em litros de frutos secos necessários para compor uma saca de 60 kg) é menor (BOTELHO *et al.*, 2010).

A disponibilidade de água, especialmente na fase de enchimento dos grãos, e a disponibilização de macro e micro nutrientes às plantas é de suma importância para a produção de grãos graúdos e de maior massa (LAVIOLA *et al.*, 2007). Existe também uma variabilidade genética entre as cultivares comerciais de *Coffea arabica* L. associada ao formato, tamanho e massa dos grãos de café (BOTELHO *et al.*, 2010). A correta condução e interrupção da etapa de secagem dos frutos também influencia nas características físicas, especialmente na massa dos grãos, já que a quantidade de água presente dos grãos de café é diretamente proporcional ao peso dos grãos. No entanto, os frutos de café devem ser secos a uma umidade próxima a 11%, valor esse considerado seguro para o consumo e armazenamento dos grãos frente ao desenvolvimento de micro-organismos (PALACIOS-CABRERA *et al.*, 2004).

A exposição solar dos frutos de café é um fator que vem sendo estudado para a produção de cafés de qualidade. Alguns autores já observaram que o sombreamento influencia na qualidade sensorial do café de forma variada (BOSELNANN *et al.*, 2009; WORKU *et al.*, 2018). No entanto, pouco se sabe sobre a influência desse fator nas características físicas dos grãos. O processamento pós-colheita é outro meio de diferenciação da qualidade sensorial de cafés. Os frutos de cafés processados via natural (i.e.: secos com o exocarpo ou casca) apresentam atributos sensoriais mais frutados e intensos, enquanto que, os frutos de café processados via úmida (i.e.: secos sem o exocarpo ou casca) apresentam atributos sensoriais mais suaves e doces (WORKU *et al.*, 2018; MALTA *et al.*, 2013). Também para esse fator pouco se sabe sobre sua influência nas características físicas dos grãos.

O presente trabalho objetivou avaliar os atributos físicos de seis cultivares *Coffea arabica* L., em relação a diferentes faces de exposição (i.e.: sombra e sol) e submetidas a duas vias de processamento pós-colheita (i.e.: úmida e seca).

Material e Métodos

As cultivares desse estudo estão implantadas na Fazenda Juliana que está situada no município de Monte Carmelo, na Região do Cerrado em Minas Gerais – Brasil.

Foram avaliadas seis cultivares da espécie *Coffea arabica* L.: Bourbon amarelo, Catuaí vermelho IAC-144, Iapar 59, Obatã IAC 1669-20, Paraíso MG H 419-1 e Topázio MG 1190.

Para a composição das amostras, frutos cerejas foram colhidos de maneira seletiva e manual de cada cultivar e separados em face sol (i.e.: exposição das linhas voltadas para o sol da manhã) e sombra (i.e.: exposição das linhas para a sombra da manhã), considerando o plantio no sentido Norte e Sul. Após a colheita dos frutos, as amostras face sol e face sombra foram subdivididas e processadas em dois diferentes métodos pós-colheita: processamento seco e úmido, originando os cafés natural e desmucilado, respectivamente. Em seguida as amostras foram secadas em terreiro suspenso até atingirem umidade próxima a 12% (RIBEIRO, 2014).

O processo de torra foi realizado em um torrador de amostras (Probat, Curitiba, Brasil), de acordo com o protocolo para análise sensorial de cafés especiais da SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION - SCA (2003).

Para verificar se as amostras estavam no nível de torra média, como recomendado pelo protocolo SCA (2003), avaliou-se o valor AGTRON/ SCAA INC de tonalidade de cor (Tabela 1) utilizando o espectrofotômetro modelo M-Basic II (Agtron Inc., Reno, Estados Unidos da América).

Para a determinação da densidade dos grãos, foram pesados 250 g de café (cru e torrado) e, em seguida, foi medido o volume de cada amostra em uma proveta graduada de 1000 mL (SILVA, 2008).

A análise de perda de massa foi realizada pelo cálculo da diferença entre a massa dos grãos de café cru e torrado (Equação 1) por meio de uma balança semi analítica (Gehaka Inc., São Paulo, Brasil) (BICHO *et al.*, 2012).

$$\Delta m = \frac{m_{cru} - m_{torrado}}{m_{cru}} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Em que: Δm é o percentual de perda de massa do café torrado; m_{cru} é a massa dos grãos de café cru (kg) e $m_{torrado}$ é a massa dos grãos de café torrados (kg).

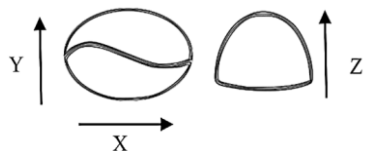
Tabela 1- Esquema de distribuição das amostras entre os tratamentos (face de exposição e vias de processamento pós-colheita) e avaliação do valor Agtron

		Cultivares					
		Bourbon Amarelo	Catuai Vermelho	Iapar 59	Obatã	Paraíso	Topázio
		Valor Agtron					
Face Sol	Via úmida	64,0	59,1	57,6	58,1	54,9	61,1
		63,6	57,7	65,7	59,0	64,2	58,6
		56,3	58,5	56,4	54,9	63,7	54,4
	Via seca	63,7	57,1	62,8	65,1	57,5	65,5
		63,0	56,9	56,5	58,7	58,1	55,7
		63,9	60,0	64,6	55,8	60,1	62,3
Face Sombra	Via úmida	60,9	61,4	62,0	57,4	55,6	60,3
		56,3	58,2	56,8	59,8	59,0	56,9
		57,3	61,9	58,6	63,8	57,7	61,4
	Via seca	56,7	64,3	64,3	60,7	58,4	61,7
		58,7	58,5	58,1	59,6	59,1	59,1
		58,5	57,7	59,4	56,4	63,1	54,8

Fonte: Dos autores, 2021.

As amostras foram avaliadas por meio de um paquímetro (Digimess, China), sendo mensuradas três diferentes dimensões XYZ (Figura 1) em 40 grãos de café (cru e torrado) para cada uma das três repetições, totalizando 120 grãos de café por amostra, para os quais foram calculadas as médias aritméticas para compor o valor final de cada dimensão (PIMENTA *et al.*, 2009).

Figura 1 - Dimensões X, Y e Z do café em grão



Fonte (adaptada): Pimenta *et al.* (2009).

O experimento foi realizado com delineamento inteiramente causalizado (DIC), sendo os tratamentos arranjados em um esquema fatorial (6 x 2 x 2) constituídos, respectivamente, por seis

diferentes cultivares de café, duas faces de exposição (sombra e sol) e duas vias de processamento (seca e úmida), com três repetições cada.

Para avaliar o efeito das diferentes faces de exposição e das vias de processamento nas seguintes variáveis: para os cafés crus e torrados, a densidade aparente, a perda de massa e a dimensão dos grãos, foram as variáveis usadas para avaliar a influência das diferentes faces de exposição ao sol e das vias de processamento nestes atributos qualitativos.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando pacote estatístico *Sisvar* versão 5.3 (FERREIRA, 2011) e para comparação foi utilizado o teste de *Tukey* como teste de médias, ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

O nível de torra das amostras foi avaliado quanto ao valor Agtron, que varia em uma escala entre 0 e 100, sendo que 75 representa a torra clara, 55 a torra média e 35 a torra escura (WANG e LIM, 2015). Observa-se na Tabela 1 que todas as amostras estão adequadas ao parâmetro de nível de torra média, conforme estabelecido pelo protocolo de análise sensorial da SCA (2003).

Para a densidade aparente de café cru (Tabela 2) não houve diferença significativa entre as cultivares face sol ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$), ou seja, as vias de processamento não exerceram influência nesse atributo. Já para os tratamentos face sombra, somente a cultivar Paraíso apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as vias de processamento úmida e seca.

Os valores de densidade aparente dos grãos de café torrado (Tabela 3), por análise de variância, não diferiram no tratamento face sol ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$), ou seja, a via de processamento não exerceu influência nesse atributo. Já para os tratamentos face sombra, a cultivar Obatã apresentou diferença desse atributo para as vias seca e úmida. Isso pode ser explicado pelo nível de torra heterogêneo entre as amostras dos tratamentos via úmida (valor de Agtron = 57,4; 59,8 e 58,6) e via seca (60,7; 59,6 e 56,4) que podem ter influenciado na densidade aparente dos grãos torrados, bem como na diferença entre o percentual de perda de massa. De acordo com Corrêa *et al.* (2016) a densidade aparente do café é proporcional a diminuição do nível de torra.

A perda de massa (Tabela 4), por análise de variância, não apresentou diferença significativa entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$), ou seja, as faces de exposição e as vias de processamento não exerceram influência nas diferentes cultivares.

Tabela 2 - Densidade aparente (g/mL) de grãos de café cru, considerando o desdobramento face sol e face sombra em função das vias de processamento pós-colheita para todas as cultivares

		Cultivares					
		Bourbon Amarelo	Catuai Vermelho	Iapar 59	Obatã	Paraíso	Topázio
		Densidade aparente (g/mL)					
Face Sol	Via úmida	0,70 ^a	0,70 ^a	0,69 ^a	0,69 ^a	0,69 ^a	0,68 ^a
	Via seca	0,70 ^a	0,69 ^a	0,69 ^a	0,68 ^a	0,68 ^a	0,69 ^a

		Cultivares					
		Bourbon Amarelo	Catuai Vermelho	Iapar 59	Obatã	Paraíso	Topázio
		Densidade aparente (g/mL)					
Face	Via úmida	0,69 ^a	0,70 ^a	0,69 ^a	0,68 ^a	0,69 ^b	0,68 ^a
Sombra	Via seca	0,69 ^a	0,69 ^a	0,69 ^a	0,69 ^a	0,67 ^a	0,68 ^a

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: *Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela 3 - Densidade aparente (g/mL) de grãos de café torrado, considerando o desdobramento face sol e face sombra em função da via de processamento pós-colheita para todas as cultivares

		Cultivares					
		Bourbon Amarelo	Catuai Vermelho	Iapar 59	Obatã	Paraíso	Topázio
		Densidade aparente (g/mL)					
Face Sol	Via úmida	0,37 ^a	0,37 ^a	0,36 ^a	0,38 ^a	0,37 ^a	0,36 ^a
	Via seca	0,36 ^a	0,34 ^a	0,36 ^a	0,36 ^a	0,34 ^a	0,36 ^a

		Cultivares					
		Bourbon Amarelo	Catuai Vermelho	Iapar 59	Obatã	Paraíso	Topázio
		Densidade aparente (g/mL)					
Face	Via úmida	0,34 ^a	0,37 ^a	0,35 ^a	0,33 ^a	0,38 ^a	0,35 ^a
Sombra	Via seca	0,36 ^a	0,36 ^a	0,35 ^a	0,38 ^b	0,36 ^a	0,36 ^a

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: *Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela 4 - Perda de massa (%) considerando o desdobramento face sol e face sombra em função da via de processamento pós-colheita para todas as cultivares

		Cultivares					
		Bourbon Amarelo	Catuai Vermelho	Iapar 59	Obatã	Paraíso	Topázio
		Perda de massa (%)					
Face Sol	Via úmida	14,14 ^a	14,07 ^a	14,44 ^a	11,63 ^a	12,18 ^a	11,88 ^a
	Via seca	15,13 ^a	15,94 ^a	14,06 ^a	13,43 ^a	15,87 ^a	13,22 ^a
		Cultivares					
		Bourbon Amarelo	Catuai Vermelho	Iapar 59	Obatã	Paraíso	Topázio
		Perda de massa (%)					
Face	Via úmida	16,01 ^a	13,95 ^a	14,85 ^a	15,40 ^a	12,46 ^a	13,72 ^a
Sombra	Via seca	15,13 ^a	15,00 ^a	15,53 ^a	12,32 ^a	14,52 ^a	14,98 ^a

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: *Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

O tempo do processo de torra exerce influência na perda de massa. De acordo com Oliveira *et al.* (2014) isso é esperado, uma vez que, para se obter um café com nível de torra escura é necessário um tempo maior do processo de torra, ou seja, maior perda de umidade e, conseqüentemente, maior perda de massa, conforme relata neste estudo sobre a avaliação do percentual de perda de massa entre os níveis de torra média clara (4,53%) e moderadamente escura (5,36%).

Nakilcioğlu-taş e Ötles (2019) relataram que ocorre uma diminuição dos valores de densidade aparente de cafés em função dos níveis de torra clara (0,39 g/cm³), média (0,33 g/cm³) e escura (0,28 g/cm³).

Valores semelhantes de densidade aparente (0,37 g/mL) foram obtidos por Jokanović *et al.* (2012) em cafés torrados, no entanto, tal valor corresponde as amostras submetidas ao processo de torra de 40 minutos, as quais apresentam percentual de perda de massa entre 14,43 e 17,15. No presente trabalho observa-se nas Tabelas 3 e 4 valores menores quando comparado com o estudo citado anteriormente, isso porque as amostras foram submetidas ao processo de torra menos drástico com duração entre 8 e 12 minutos (SCA, 2003), conseqüentemente, influenciou em um menor percentual de perda de massa das amostras.

Em estudo anterior, Ribeiro (2014) e sua equipe observaram que a cultivar Topázio obtida pelo processo de via seca apresentava características sensoriais exóticas, tais como baunilha, canela, frutas vermelhas e chocolate, independente da face de exposição. A cultivar Iapar 59 possuía notas herbáceas e o Bourbon Amarelo notas de baunilha. De maneira geral, todas as cultivares apresentaram, em diferentes intensidades, notas de chocolate característica da região do Cerrado Mineiro.

A Tabela 5 exhibe os valores das dimensões X, Y e Z (mm) dos grãos de café cru dentro do tratamento face sol e sombra. Para os eixos Z e X da cultivar Bourbon Amarelo, a via de processamento seca influenciou na produção de grãos com tamanho maior quando comparado com a via úmida. O eixo Y das cultivares Paraíso e Topázio também apresentaram diferença significativa ($p < 0,05\%$) entre as vias de processamento seca e úmida, no entanto, neste caso o aumento no tamanho dos grãos ocorreu na via de processamento úmida.

Houve diferença significativa dos valores obtidos quando analisados os grãos de frutos da face sombra dos cafeeiros (Tabela 5). As cultivares Iapar 59 nos eixos Y e Z (7,22 e 4,13, respectivamente), Obatã no eixo Y (7,43) e Paraíso no eixo X (9,13), das quais as amostras Iapar 59 e Obatã obtidas pela via de processamento úmida, apresentaram tamanho maior quando comparadas com a via seca.

Para os grãos de café torrados, observa-se, na Tabela 6, uma diferença significativa ($p < 0,05$) para a cultivar Paraíso. Por exemplo, para exposição face sol e processamento via úmida o eixo Y foi maior quando comparado com a via seca, já as amostras da face sombra e processadas via seca apresentaram o valor do eixo X maior quando comparado com o obtido na via úmida e, o eixo Y foi semelhante para as duas vias de processamento.

A cultivar Iapar 59 dentro do tratamento face sombra apresentou diferença ($p < 0,05$) nos eixos X, Y e Z em função das vias de processamento úmida e seca.

Pimenta *et al.* (2009) avaliaram as dimensões de cafés torrados, tais como X; Y e Z (mm), respectivamente, de grãos chatos (8,4; 5,8 e 3,4) e moca (8,4; 5 e 4,5), dos quais apenas os eixos Y e Z apresentaram diferença significativa ($p < 0,05\%$), sendo que o eixo Y (i.e.: diâmetro intermediário) foi maior nos grãos chatos quando comparado com os mocas, além disso os autores relatam que essa análise é importante para mensurar qual a expansão dos grãos de café após a torra.

Tabela 5 - Dimensão (mm) dos grãos de café cru considerando o desdobramento face sombra e face sol em função da via de processamento pós-colheita para todas as cultivares

		Cultivares								
		Bourbon Amarelo			Catuaí Vermelho			Iapar 59		
		Dimensões XYZ (mm)								
		X	Y	Z	X	Y	Z	X	Y	Z
Face	1	9,07 ^a	6,94 ^a	4,09 ^a	8,65 ^a	6,83 ^a	3,99 ^a	8,88 ^a	7,22 ^b	4,13 ^b
	2	9,12 ^a	6,85 ^a	4,04 ^a	8,68 ^a	6,78 ^a	3,92 ^a	8,70 ^a	6,74 ^a	3,85 ^a
		Cultivares								
		Obatã			Paraíso			Topázio		
		Dimensões XYZ (mm)								
		X	Y	Z	X	Y	Z	X	Y	Z
Sombra	1	9,19 ^a	7,43 ^b	4,29 ^a	8,78 ^a	6,88 ^a	3,97 ^a	8,63 ^a	6,71 ^a	3,87 ^a
	2	9,34 ^a	7,21 ^a	4,19 ^a	9,13 ^b	6,85 ^a	3,97 ^a	8,69 ^a	6,62 ^a	3,85 ^a
		Cultivares								
		Bourbon Amarelo			Catuaí Vermelho			Iapar 59		
		Dimensões XYZ (mm)								
		X	Y	Z	X	Y	Z	X	Y	Z
Face Sol	1	9,12 ^a	6,83 ^a	3,89 ^a	8,82 ^a	6,82 ^a	3,86 ^a	8,69 ^a	6,91 ^a	3,99 ^a
	2	9,35 ^b	6,85 ^a	4,10 ^b	8,69 ^a	6,72 ^a	3,88 ^a	8,65 ^a	6,78 ^a	3,92 ^a
		Cultivares								
		Obatã			Paraíso			Topázio		
		Dimensões XYZ (mm)								
		X	Y	Z	X	Y	Z	X	Y	Z
Face Sol	1	9,03 ^a	7,32 ^a	4,22 ^a	8,94 ^a	7,10 ^b	4,00 ^a	8,54 ^a	6,72 ^b	3,86 ^a
	2	9,17 ^a	7,17 ^a	4,14 ^a	8,98 ^a	6,86 ^a	3,96 ^a	8,68 ^a	6,54 ^a	3,80 ^a

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: Em que: 1 é a via de processamento úmida e 2 é a via de processamento seca.

Nota: *Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela 6 - Dimensão (mm) dos grãos de café torrado considerando o desdobramento face sol e face sombra em função da via de processamento pós-colheita para todas as cultivares

		Cultivares								
		Bourbon Amarelo			Catuaí Vermelho			Iapar 59		
		Dimensões XYZ (mm)								
		X	Y	Z	X	Y	Z	X	Y	Z
Face	1	10,48 ^a	8,23 ^a	4,73 ^a	9,84 ^a	7,88 ^a	4,73 ^a	10,18 ^a	8,12 ^a	4,60 ^a
	2	10,46 ^a	8,13 ^a	4,68 ^a	9,55 ^a	7,89 ^a	4,55 ^a	10,14 ^a	7,97 ^a	4,55 ^a
		Cultivares								
		Obatã			Paraíso			Topázio		
		Dimensões XYZ (mm)								
		X	Y	Z	X	Y	Z	X	Y	Z
Sol	1	10,05 ^a	9,16 ^b	4,89 ^a	10,19 ^b	8,19 ^a	4,67 ^b	9,57 ^a	7,63 ^a	4,42 ^a
	2	9,97 ^a	8,39 ^a	4,90 ^a	9,20 ^a	8,60 ^a	4,43 ^a	9,45 ^a	7,57 ^a	4,34 ^a
		Cultivares								
		Bourbon Amarelo			Catuaí Vermelho			Iapar 59		
		Dimensões XYZ (mm)								
		X	Y	Z	X	Y	Z	X	Y	Z
Face	1	10,73 ^a	8,38 ^a	4,84 ^a	9,75 ^a	7,91 ^a	4,59 ^a	10,17 ^b	8,43 ^a	4,82 ^b
	2	10,14 ^a	8,12 ^a	4,74 ^a	9,57 ^a	7,80 ^a	4,51 ^a	8,68 ^a	9,48 ^b	4,54 ^a
		Cultivares								
		Obatã			Paraíso			Topázio		
		Dimensões XYZ (mm)								
		X	Y	Z	X	Y	Z	X	Y	Z
Sombra	1	10,21 ^a	8,59 ^a	4,95 ^a	9,98 ^a	8,11 ^a	4,59 ^a	10,01 ^a	8,02 ^a	4,54 ^a
	2	10,02 ^a	8,33 ^a	4,96 ^a	9,93 ^a	8,00 ^a	4,48 ^a	9,44 ^a	7,65 ^a	4,37 ^a

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: Em que: 1 é a via de processamento úmida e 2 é a via de processamento seca.

Nota: *Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Com relação as cultivares, quando o produtor de café decide implantar uma lavoura, para a escolha da cultivar é levado em consideração as características agronômicas da planta, o potencial de qualidade de bebida, resistência a pragas e doenças, a produtividade e as características dos grãos (DIAS *et al.*, 2019). Grãos de maior densidade e maiores dimensões são preferidos por produtores já que o café é uma commodity comercializada no peso. Além disso, nos últimos anos o mercado de café está pagando gratificações a produtores de cafés com peneiras altas, ou seja, grãos de cafés com maiores dimensões. Isso incentiva cada vez mais os produtores e pesquisadores a investigarem cultivares ou técnicas agrícolas ou de processamento que possuem relação com o aumento da densidade e dimensão dos grãos. Neste trabalho, de modo geral, não houve diferença entre as cultivares para os parâmetros densidade, mas para a dimensão dos grãos as cultivares Iapar 59 na face sombra processada via úmida, e a cultivar Bourbon amarelo na face sol processada via seca obtiveram maiores valores de dos parâmetros X, Y e/ou Z.

Conclusão

A cultivar Catuaí Vermelho não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (face de exposição ou via de processamento) para nenhum dos parâmetros físicos avaliados. A face sol não influenciou na densidade aparente de grãos crus ou torrados. Quanto a perda de massa, para todas as cultivares, não houve diferença entre as vias de processamento pós-colheita e a face de exposição.

Com relação as dimensões dos grãos crus, a cultivar Iapar 59 na face sombra processada via úmida, e a cultivar Bourbon amarelo na face sol processada via seca apresentaram maiores valores dos parâmetros Y e Z, e X e Z, respectivamente. Esse resultado é importante para produtores que objetivam a produção de cafés com peneiras altas, especialmente quando essas cultivaram também apresentam potencial para bebidas de qualidade.

Agradecimentos

Agradecemos à Universidade Federal de Lavras – UFLA, ao Polo de Tecnologia e Qualidade do Café - INOVACAFÉ, às agências de fomento CNPq, FAPEMIG e CAPES pelo apoio financeiro e aos colaboradores da Fazenda Juliana pela parceria e fornecimento das amostras de café.



Referências

- BICHO, N. C. *et al.* Use of colour parameters for roasted coffee assessment. **Food Science Technology**, v. 32, n. 3 p. 436-442, 2012.
- BOSELTMANN, A. S. *et al.* The influence of shade trees on coffee quality in small holder coffee agroforestry systems in Southern Colombia. **Agriculture, Ecosystems e Environment**, v. 129, p. 253-260, 2009.
- BOTELHO, C. E. *et al.* Adaptabilidade e estabilidade fenotípica de cultivares de café arábica em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 1404-1411, 2010.
- CORRÊA, P. C. *et al.* Preservation of roasted and ground coffee during storage Part 1 : Moisture content and repose angle o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, p. 581-587, 2016.
- DIAS, R. A. *et al.* Selection of coffee progênies for resistance to leaf rust and favorable agronomic traits. **Coffee Science**, v. 14, n. 2, p. 173 - 182, 2019.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.
- HU, G. *et al.* Effect of roasting degree of coffee beans on sensory evaluation: Research from the perspective of major chemical ingredients. **Food Chemistry**, v. 331, p. 1-10, 2020.
- JOKANOVIĆ, M. R. *et al.* Changes of physical properties of coffee beans during roasting. **Acta Periódica Tecnológica**, v. 43, p. 21-31, 2012.
- LAVIOLA, B. G. *et al.* Assimilates allocation in fruits and leaves of coffee plants cultivated in two altitudes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 1521-1530, 2007.
- MALTA, M. R. *et al.* Alterações na Qualidade do Café Submetido a Diferentes Formas de Processamento e Secagem. **Engenharia na Agricultura**, v. 21, p. 431-440, 2013.
- NAKILCIOĞLU-TAŞ, E.; ÖTLEŞ, S. Physical characterization of Arabica ground coffee with different roasting degrees. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, p. 1-15, 2019.
- OLIVEIRA, G. H. H. *et al.* Caracterização física de café após torrefação e moagem. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4 p. 1813-1827, 2014.
- PALACIOS-CABRERA, H. *et al.* The production of ochratoxin A by *Aspergillus ochraceus* in raw coffee at different equilibrium relative humidity and under alternating temperatures. **Food Control**, v. 15, p. 531-535, 2004.
- PIMENTA, T. V. *et al.* Roasting processing of dry coffee cherry: Influence of grain shape and temperature on physical, chemical and sensorial grain properties. **Boletim do Centro Pesquisas em Processamento de Alimentos**, v. 27, p. 97-106, 2009.

RIBEIRO, B. B. **Perfil Sensorial de Cafés de Cultivares em Relação as Faces de Exposição das Plantas e Processamentos Pós Colheita**. 2014, 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

SILVA, J. R. **Otimização do processo de torração do café pelo monitoramento de parâmetros e propriedades físicas e sensoriais**, 2008, 82 f . Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

SPECIALTY COFFEE ASSOCIATION (SCA). **Protocols & Best Practices**, 2003. Disponível em: <https://sca.coffee/research/protocols-best-practices>. Acessado em 15 de abril de 2021.

WORKU, M. *et al.* Effect of altitude on biochemical composition and quality of green arabica coffee beans can be affected by shade and postharvest processing method. **Food Research International**, v. 105, p. 278-285, 2018.

WANG, X. E.; LIM, L. T. Physicochemical Characteristics of Roasted Coffee. *In.*: PREEADY, V.R.(org.) **Coffee in Health Disease Prevention**. Academic Press, 2015, p. 247–254.



10 Capítulo

Caracterização e
comparação das
propriedades físico-
químicas das farinhas
de quiabo oriundas
dos cultivos orgânico
e convencional

Capítulo 10

Caracterização e comparação das propriedades físico-químicas das farinhas de quiabo oriundas dos cultivos orgânico e convencional

Luzia Almeida Couto*¹; Daniele de Brito Trindade²

Resumo

O quiabo caracteriza-se como um fruto que possui elevado teor de vitaminas, fibras, proteínas e óleos presentes em suas sementes. Nesta perspectiva, este trabalho teve por objetivo analisar e comparar as propriedades físico-químicas da farinha de quiabo orgânico e convencional. Para realização deste experimento foram utilizados quiabos da variedade *Abelmoschus esculentus* oriundos dos cultivos convencional e orgânico. O processamento e análises das farinhas ocorreram no laboratório de Bromatologia Vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – *campus* Guanambi. Inicialmente, realizou-se uma análise descritiva dos dados para verificar o comportamento das variáveis estudadas. Em seguida, para avaliar os pressupostos de normalidade e homoscedasticidade dos dados, foram realizados os testes de *Shapiro-Wilk* e de *Bartlett*, respectivamente. As variáveis que não rejeitaram as suposições de normalidade e homoscedasticidade foram submetidas a Análise de Variância (ANOVA). As que rejeitaram foram submetidas ao teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*. Todas as análises foram realizadas no *software* R (R versão 3.5.1) e todos os testes foram avaliados ao nível de 5% de significância. Com os resultados obtidos por meio da ANOVA, pode-se concluir que a farinha de quiabo convencional e orgânica são estatisticamente semelhantes para os parâmetros umidade, proteína e pH. Para a análise de lipídios, notou-se que a farinha de quiabo convencional e orgânico são estatisticamente diferentes. Com o resultado obtido no Teste de *Kruskal-Wallis*, concluiu-se que a farinha de quiabo convencional e orgânico não diferem estatisticamente para as análises de fibras, carboidratos e acidez. Em relação à análise de cinzas, o Teste de *Kruskal-Wallis* evidenciou que a farinha de quiabo convencional e orgânico são distintas. Portanto, pode-se concluir que, mesmo apresentando resultados estatisticamente semelhantes, a farinha de quiabo orgânico possui maiores valores médios dos parâmetros analisados para a composição centesimal do que a farinha de quiabo convencional.

Palavras-chave: Composição centesimal. Cultivo orgânico. Estatística. Processamento.

¹Graduada em Tecnologia em Agroindústria pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – *Campus* Guanambi. Mestranda em Genética e Biologia Molecular, Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC.

² Professora EBTT de Estatística, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – *Campus* Guanambi.

*E-mail para correspondência: lacouto@uesc.br



Introdução

A população mundial está em constante crescimento, entretanto, a disponibilidade de aportes alimentícios saudáveis torna-se cada vez mais escassa. Seguindo esta perspectiva, há a necessidade de desenvolver novas fontes nutricionais e o melhor aproveitamento de alimentos pouco utilizados na alimentação (JÚNIOR; OLIVEIRA, 2013).

Uma alimentação saudável é de suma importância e indispensável à manutenção da homeostase corporal e da saúde, visto que a dieta adequada influencia todos os estágios metabólicos, sendo fundamental no fornecimento de nutrientes indispensáveis para o bem-estar mental e corporal. Visando atingir equilíbrio nutricional, os alimentos ingeridos devem ser adequados para o consumo, tanto em questão de quantidade adequada, bem como em qualidade física, química ou microbiológica, a fim de garantir a integridade funcional do organismo (SILVA *et al.*, 2006).

Diante do apresentado acima, tem-se que uma alternativa de alimento saudável é o quiabo (*Abelmoschus esculentus*). O Brasil apresenta condições favoráveis para o seu cultivo, sobretudo, em relação ao clima (tropical e subtropical), onde as maiores produtividades encontram-se nas regiões Norte e Nordeste. A planta possui características que tornam seu manejo mais atrativo, como exemplo, ciclo rápido, baixo custo de produção, considerável resistência a pragas e elevado valor nutricional (DA MOTA *et al.*, 2005).

As vagens desta hortaliça são preparadas de formas variadas e como acompanhamento em diferentes pratos. Sua composição apresenta valores expressivos de carboidratos, proteínas, lipídios, vitaminas (A, C, K, B₆ e B₉), além de minerais, (Ca, Fe, Mg, P) e fibras não digeríveis (MESSA *et al.*, 2017).

Além das vagens, as sementes do quiabo possuem elementos benéficos quando se refere à nutrientes, visto que, são fontes de óleo e proteínas. O óleo presente nas sementes é comestível, tornando-se uma fonte alternativa de lipídios, embora este óleo ainda seja pouco utilizado. Entretanto, as sementes são comumente aproveitadas para fins de plantio (NASCIMENTO, 2015).

O teor elevado de vitaminas, fibras, proteínas e óleos presentes no quiabo, justificam a importância de incluí-lo e utilizá-lo na alimentação humana, contribuindo, assim, para a obtenção de novos produtos tendo esta hortaliça como matéria-prima, e, por consequência, proporcionando ao consumidor uma alimentação saudável e com níveis nutricionais satisfatórios. Nesta perspectiva, este trabalho tem por objetivo analisar e comparar as propriedades físico-químicas da farinha de quiabo oriunda de cultivo orgânico e convencional.

Material e Métodos

Para a realização deste experimento foram utilizados quiabos, em forma *in natura*, da variedade *Abelmoschus esculentus*. Foram coletados 15 lotes distintos de quiabos oriundos de cultivo convencional, os quais foram obtidos em feira-livre e estabelecimentos de hortifruti (comumente conhecidos como sacolão) do comércio local da cidade de Guanambi-BA. Dos 15 lotes de quiabos provenientes de cultivo orgânico, 8 lotes foram adquiridos no Sítio Gameleira – Comida da Roça, que possui certificação orgânica e fica localizado na zona rural da cidade de Candiba-BA, 4 lotes foram doados por um sítio localizado na zona rural de Caetité-BA e 3 lotes foram doados por um sítio localizado na zona rural de Guanambi-BA. Vale ressaltar que cada lote de quiabo, adquirido tanto do cultivo convencional quanto do orgânico, possuía cerca de 500 a 600 g do fruto *in natura*.

Os quiabos foram encaminhados para o laboratório de Bromatologia Vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano – *campus* Guanambi, onde ocorreu o desenvolvimento das análises. Cada lote de quiabo foi preparado individualmente a fim de evitar interferências nos resultados.

O preparo consistiu em limpeza e seleção, pré-lavagem, sanitização, enxágue, corte, pesagem e secagem. O processamento ocorreu após a etapa de secagem. Com os quiabos secos, o processo de produção da farinha de quiabo constituiu-se nas etapas de moagem, peneiramento, embalagem e estocagem.

Para realizar a composição centesimal das farinhas de quiabo orgânico e convencional, efetuou-se análises para definir umidade, cinzas, proteínas, lipídios, fração de fibras e carboidratos. Em relação às análises físico-químicas, realizou-se análises de pH e acidez total titulável. As análises foram desenvolvidas conforme os métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

Inicialmente, realizou-se uma análise descritiva dos dados para verificar o comportamento das variáveis estudadas. Em seguida, foram realizados os testes de Normalidade (Teste de *Shapiro-Wilk*) e Homoscedasticidade (Teste de *Bartlett*) para verificar se os dados seguiam distribuição normal e se as variâncias dos tratamentos eram homoscedásticas, respectivamente, à 5% de significância. As variáveis que não rejeitaram as suposições de normalidade e homoscedasticidade foram submetidas a Análise de Variância (ANOVA). As que rejeitaram, foram submetidas ao teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*, ao nível de 5% de significância. Todas as análises foram realizadas no *software* R (R versão 3.5.1), utilizando como auxílio o material didático elaborado por Trindade e Silva (2018).

Resultados e Discussão

Inicialmente, realizou-se uma análise descritiva e exploratória de dados dos parâmetros analisados para a caracterização das farinhas de quiabo convencional e orgânico, com a finalidade de averiguar o comportamento das variáveis estudadas. A Tabela 1 expõe as medidas descritivas das variáveis umidade, cinzas, proteína, fibra, lipídios, carboidratos pH e acidez titulável para cada tipo de farinha.

Tabela 1 - Medidas descritivas das variáveis obtidas por meio das análises realizadas para farinha de quiabo convencional e orgânica

Análise	Tipo	Mín.	1ºQ	Med.	Média	3ºQ	Máx.	DP%	CV%
Umidade%	Convencional	13,29	13,39	13,49	13,48	13,53	13,67	0,10	0,80
	Orgânica	13,31	13,42	13,48	13,49	13,58	13,62	0,09	0,72
Cinzas%	Convencional	7,15	7,40	7,54	7,50	7,62	7,75	0,16	2,14
	Orgânica	7,31	7,50	7,74	7,67	7,82	7,93	0,20	2,65
Proteína%	Convencional	3,13	3,82	4,32	4,50	5,20	5,84	0,85	18,90
	Orgânica	3,07	4,33	4,99	4,80	5,65	5,92	0,99	20,70
Fibra%	Convencional	1,21	1,93	2,93	2,55	3,14	3,36	0,72	28,39
	Orgânica	1,28	2,34	2,52	2,57	3,21	3,65	0,76	29,61
Lipídios%	Convencional	0,65	0,70	0,74	0,74	0,78	0,83	0,05	7,50
	Orgânica	0,71	0,76	0,79	0,79	0,82	0,88	0,04	6,25
Carboidratos%	Convencional	27,31	28,26	28,91	28,79	29,11	30,58	0,86	3,00
	Orgânica	26,23	28,73	29,97	29,30	30,20	30,95	1,57	5,37
pH	Convencional	4,29	4,78	5,06	5,47	5,37	5,63	0,38	7,66
	Orgânica	4,54	5,00	5,22	5,13	5,34	5,66	0,33	6,54
Acidez%	Convencional	2,59	2,89	3,51	3,41	3,76	4,18	0,54	16,05
	Orgânica	2,38	3,10	3,61	3,45	3,95	4,22	0,61	17,90

Fonte: Das autoras, 2021.

Legenda: Mín. = Mínimo; 1ºQ = 1º quartil; Med. = Mediana; 3º Q = 3º quartil; Máx. = Máximo; DP = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação.

Desta forma, os resultados para análise de umidade encontrado neste estudo estão em conformidade com os valores exigidos pela legislação vigente. Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), nº 263, de 22 de setembro de 2005 que aprova o “regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos”, cuja

qual estipula um valor aceitável de até 15%, com esse teor é possível inibir o desenvolvimento de microrganismos no farináceo e prolonga sua vida de prateleira (BRASIL, 2005).

As cinzas caracterizam-se como o resíduo mineral fixo resultante da incineração da amostra de um determinado alimento ou produto. Em similaridade, Messa (2017) ao realizar análise de cinzas para farinha de semente de quiabo, encontrou o valor de 4,52%, não estando dentro dos limites aceitáveis. Da mesma forma, Nascimento (2015), ao avaliar o teor de cinzas em farinha integral de sementes de quiabo, obteve valor médio de 4,75%.

O estudo realizado por Oliveira *et al.* (2020), ao desenvolver análise de farinha de quiabo, encontrou valor médio de proteínas igual a 13,38%. Este trabalho apresenta valor de proteínas acima do encontrado neste experimento.

Segundo a Instrução Normativa nº 52/2011, do MAPA, de 7 de novembro de 2011, a fibra bruta é o resíduo composto, especialmente, de celulose e lignina adquirido por meio de procedimento apropriado, sendo a sua medida expressa em gramas de fibra bruta por cem gramas de produto (BRASIL, 2011).

As fibras alimentares desempenham papéis importantes para o sistema gastrointestinal por meio de sua atuação física, tendo maior capacidade de hidratação, de crescer o volume e de aumentar a velocidade de circulação do bolo alimentar e fecal. Além disso, possuem a habilidade de se complexar com outros constituintes da dieta, podendo envolvê-los em maior quantidade na excreção fecal. Sendo assim, “tanto nutrientes essenciais, como proteínas, minerais e vitaminas, como substâncias tóxicas, poderão ser excretadas em maior ou menor quantidade, dependendo da qualidade e da quantidade da fibra presente na dieta” (SOUZA *et al.*, 2008).

A RDC nº 54 da ANVISA, de 12 de novembro de 2012, preconiza para a característica de extrato etéreo que valores menores que 3,00% são classificados como baixo. De tal modo, observou-se que os índices deste atributo no presente estudo apresentam-se como baixo em conteúdo de extrato etéreo (BRASIL, 2012).

As gorduras são fontes fundamentais de obtenção de energia para o corpo, além disso, auxiliam na absorção das algumas vitaminas como A, D, E e K. O quiabo caracteriza-se como um legume de ampla qualidade funcional/fisiológica e, também, dispõe de diversas vitaminas em sua composição (MESSA, 2017). Conforme apontado no regulamento técnico de óleos e gorduras, RDC nº 360, da ANVISA, de 23 de dezembro de 2003, os óleos ou gorduras vegetais são compostos especialmente de glicérides, denominados de ácidos graxos de espécies vegetais (BRASIL, 2003).

O carboidrato é uma biomolécula imprescindível para a manutenção da vida humana, afinal, ele contém glicose, a fundamental fonte de energia empregada pelo corpo (OLIVEIRA, 2018). Outros

termos utilizados para designar os carboidratos são glicídios, açúcares ou hidratos de carbono. Os carboidratos são compostos orgânicos que apresentam maior abundância nos vegetais, encontrando-se presentes, ainda, nos animais. Os carboidratos são amplamente analisados no campo da bioquímica, uma vez que os alimentos, ao adentrarem no organismo, passam na digestão por uma série de modificações químicas indispensáveis para que se formem e reconstruam biomoléculas e estruturas celulares (SANTOS; BORGES; DA SILVA, 2017).

Carvalho (2010) classifica os alimentos conforme o valor do pH como: alimentos pouco ácidos aqueles que apresentam $\text{pH} > 4,50$; alimentos ácidos quando o pH está entre 4,00 e 4,50; e, por fim, alimentos muito ácidos os que expõem $\text{pH} < 4,00$. Sendo assim, pode-se concluir por meio dos valores médios que a farinha de quiabo, tanto o convencional quanto o orgânico, caracteriza-se como um alimento pouco ácido.

Os baixos indicadores de pH podem ser relacionados à concentração de ácidos orgânicos presentes no alimento, tornando-se um dos fatores essenciais ao produto, visto que está relacionado ao desenvolvimento de microrganismos, atividades enzimáticas, retenção do sabor e odor e da conservação geral do produto.

Conforme a Instrução Normativa nº 52/2011, acidez é “a característica química que confere característica sensorial que se manifesta em valores menores ou maiores, conforme o processo de fabricação, para atender determinados padrões e hábitos de consumo, típicos de cada região consumidora” (BRASIL, 2011).

A alta acidez de um alimento pode ser acarretada por inadequação durante o período de armazenamento da farinha, quando o ambiente apresenta alta temperatura e umidade relativa elevada também proporciona o aumento da acidez, estes fatores interferem de forma direta na qualidade do produto.

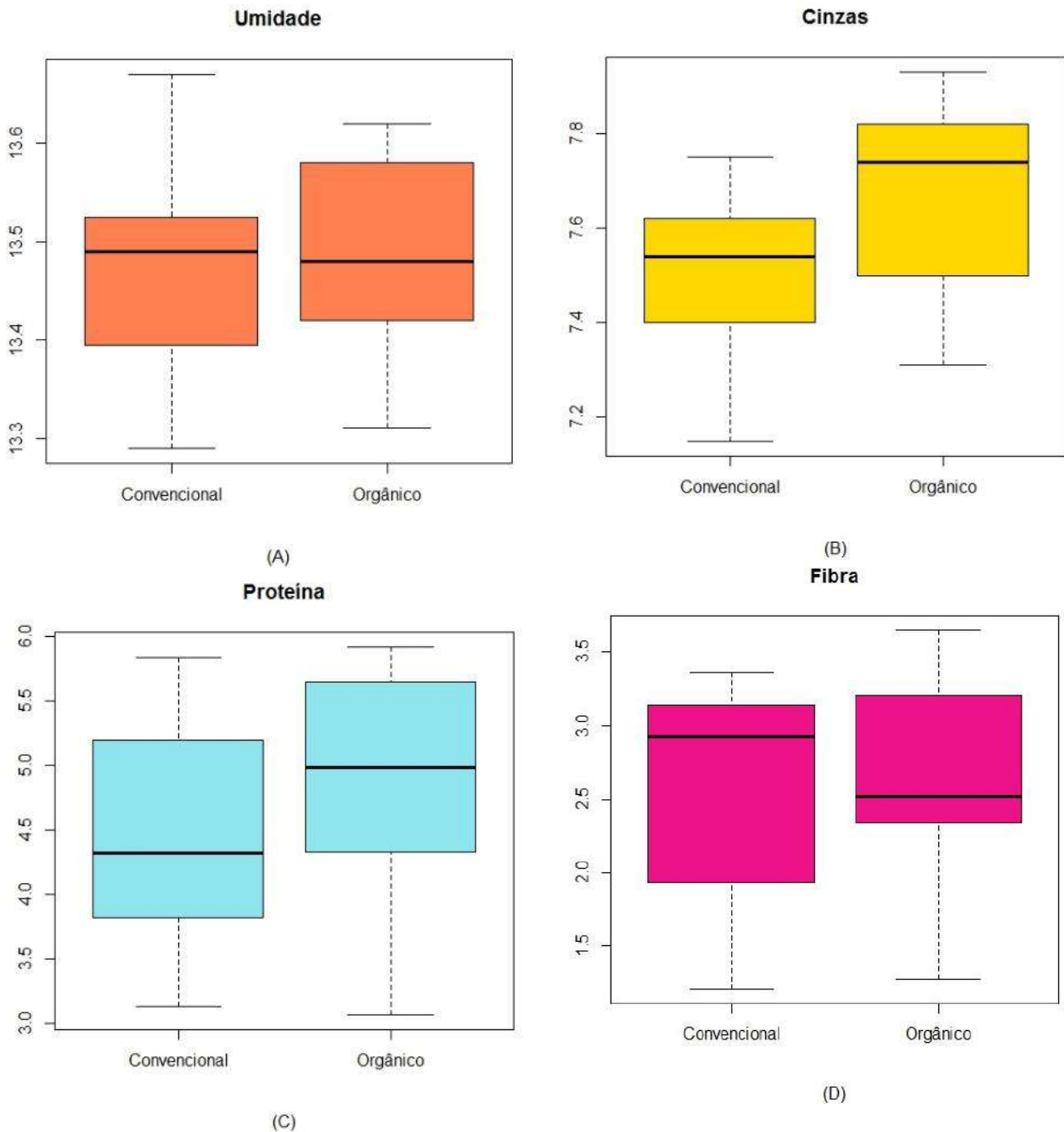
Os *boxplots* (Figura 1) foram elaborados para verificar o comportamento dos dados, graficamente, em relação as variáveis estudadas considerando os dois tipos de farinha de quiabos analisados.

Nota-se que, para as variáveis umidade (Figura 1 - A) e acidez (Figura 1 - H), aparentemente, não há diferença entre as medianas. Já para as variáveis cinzas (Figura 1 - B), proteína (Figura 1 - C), fibras (Figura 1 - D), lipídios (Figura 1 - E), carboidratos (Figura 1 - F) e pH (Figura 1 - G), aparentemente, existe uma diferença entre as medianas.

O *boxplot* pode ser útil na análise descritiva, uma vez que é possível verificar o comportamento dos dados graficamente, avaliando, além das separatrizes, a dispersão dos resultados encontrados. Entretanto, como se trata de uma análise visual, é necessário validar os resultados

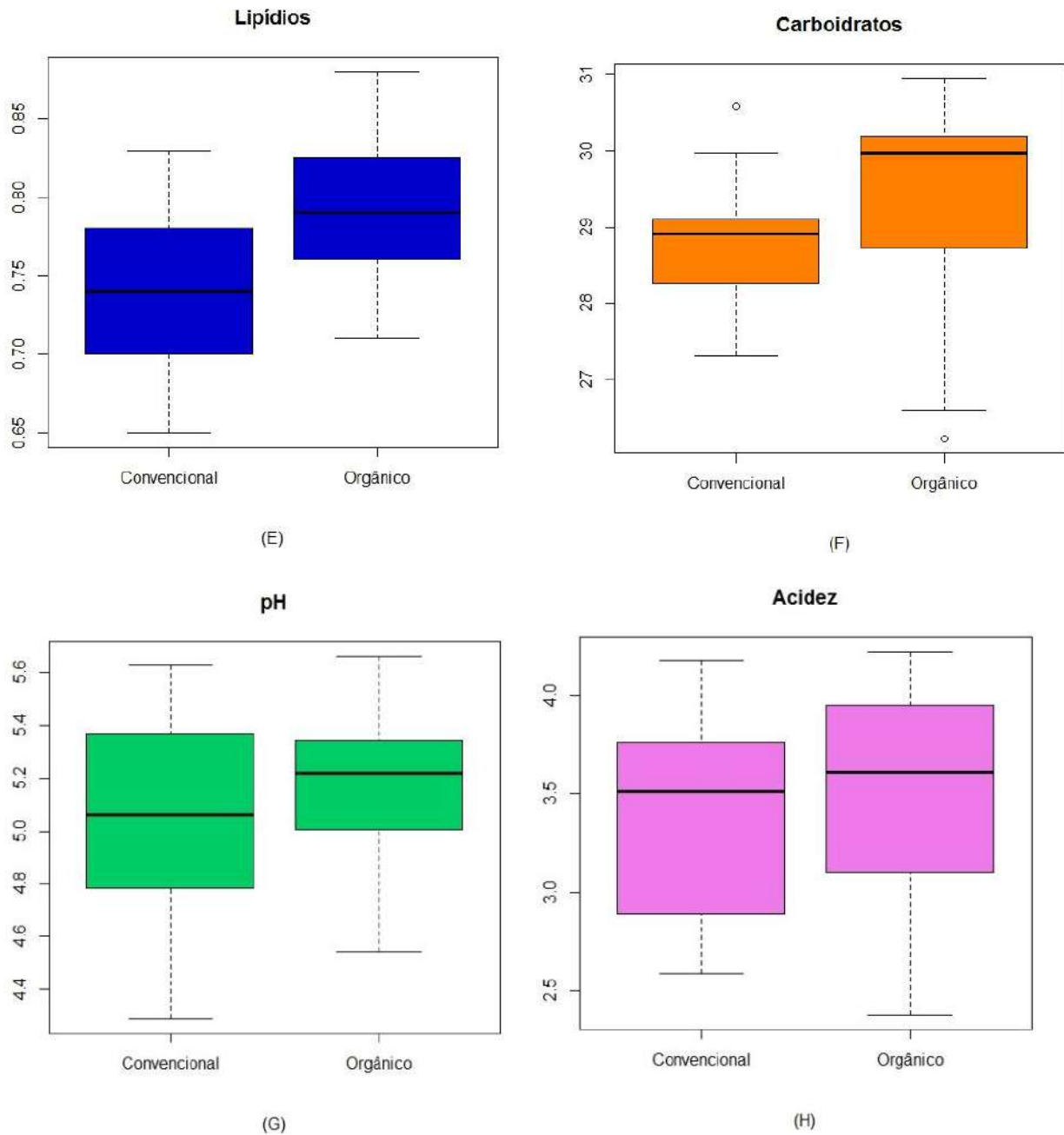
encontrados através da Análise de Variância (ANOVA) ou do teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*. Vale salientar que os *boxplots* são construídos em torno da mediana e não da média.

Figura 1 - *Boxplots* para as variáveis umidade, cinzas, proteína, fibras, lipídios, carboidratos, pH e acidez



Continua...

Continuação...



Fonte: Das autoras, 2021.

Legenda: A – Umidade; B – Cinzas; C - Proteína; D – Fibra; E – Lipídios; F – Carboidrato; G – pH; H – Acidez.

Para validar os resultados da ANOVA é necessário avaliar os pressupostos de normalidade e de homoscedasticidade, através dos testes de *Shapiro-Wilk* e de *Bartlett*, respectivamente. O Teste de *Shapiro-Wilk* verifica se os dados seguem distribuição normal (hipótese nula). Já o Teste de *Bartlett* avalia a igualdade das variâncias dos k tratamentos estudados, ou seja, a hipótese nula (H_0) testada é $\sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \dots = \sigma_k^2$. Se o p -valor for menor que o nível de significância (α), H_0 é rejeitada. Os

resultados dos testes de normalidade e homoscedasticidade para as variáveis estudadas são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - *P*-valores dos testes de *Shapiro-Wilk* (normalidade) e *Bartlett* (homoscedasticidade)

Análise	<i>Shapiro-Wilk</i>	<i>Bartlett</i>
Umidade	0,78	0,71
Cinzas	0,03*	0,40
Proteína	0,10	0,56
Fibras	0,01*	0,85
Lipídios	0,53	0,66
Carboidratos	0,03*	0,03*
pH	0,40	0,60
Acidez	0,04*	0,66

Fonte: Das autoras, 2021.

Nota: * *p*-valor < 0,05, rejeita-se H_0 .

Para as análises de umidade, proteína, lipídios e pH, ao observar o *p*-valor do teste de Normalidade de *Shapiro-Wilk*, a 5%de significância, constatou-se que os resíduos seguem distribuição normal. Para o teste de homoscedasticidade de *Bartlett*, avaliando as mesmas variáveis citadas acima, a 5%de significância, os resíduos são homoscedásticos (Tabela 3).

Com relação a análise de cinzas, fibra e acidez, é possível observar pelo Teste de Normalidade de *Shapiro-Wilk*, a 5%de significância, que os resíduos não seguem distribuição normal. Entretanto, de acordo com o Teste de *Bartlett*, a 5%de significância, os resíduos podem ser considerados homoscedásticos.

Considerando a análise de carboidratos, os testes de *Shapiro-Wilk* e *Bartlett*, rejeitaram as hipóteses de normalidade e homoscedasticidade a 5%de significância.

Como as análises de umidade, proteína, lipídios e pH não rejeitaram os pressupostos de normalidade e homoscedasticidade foi possível realizar a ANOVA e os resultados são apresentados na Tabela 3.

A ANOVA das variáveis umidade, proteínas e pH (Tabela 3), de acordo com o Teste F, a 5% de significância, mostrou que as médias não diferem estatisticamente entre si. Com estes resultados, percebe-se que, em média, a farinha de quiabo convencional e orgânico não apresentam diferenças.

Tabela 3 - Análise de Variância (ANOVA) para os dados obtidos na análise de umidade, proteínas, lipídios e pH

Variável	Fonte de variação	GL	SQ	QM	F	p-valor
Umidade	Tratamentos	1	0,00147	0,001470	0,13617	0,71489
	Resíduos	28	0,30227	0,010795		
	Total	29	0,30374			
	CV = 0,77%					
Proteína	Tratamentos	1	0,6453	0,64533	0,75016	0,39379
	Resíduos	28	24,0872	0,86026		
	Total	29	24,7325			
	CV = 19,92%					
Lipídios	Tratamentos	1	0,017763	0,0177633	6,3985	0,01733*
	Resíduos	28	0,077733	0,0027762		
	Total	29	0,095497			
	CV = 6,88%					
pH	Tratamentos	1	0,0590	0,058963	0,44875	0,50842
	Resíduos	28	3,6791	0,131395		
	Total	29	3,7380			
	CV = 7,12%					

Fonte: Das autoras, 2021.

Legenda: GL = Graus de liberdade; SQ = Soma dos quadrados; QM = Quadrado médio; F = Estatística de teste F; CV = Coeficiente de variação.

Nota: * p-valor < 0,05, rejeita-se H_0 .

Por meio da ANOVA realizada para a análise de lipídios (Tabela 3), ao analisar o exposto pelo Teste F, a 5% de significância, verifica-se que as médias diferem, estatisticamente, entre si, sendo a média descrita para a farinha de quiabo orgânico maior que a média da farinha de quiabo convencional (Tabela 4).

Tabela 4- Resultado do teste F da ANOVA para a variável lipídios

Variável	Tipo	Grupo	Média
Lipídios	Convencional	b	0,74
	Orgânico	a	0,79

Fonte: Das autoras, 2021.

Em concordância com os resultados dos pressupostos da ANOVA, em que os parâmetros cinzas, fibra, carboidratos e acidez rejeitaram estes pressupostos, para estas variáveis realizou-se o Teste de *Kruskal-Wallis*, a 5% de significância. Os resultados destes testes são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Resultado a análise de *Kruskal-Wallis* para a variável cinzas, fibra, carboidratos e acidez

Variável	Q ²	GL	p-valor
Cinzas	5,40 61	1	0,0200*
Fibra	0,1243	1	0,7244
Carboidratos	2,8238	1	0,0928**
Acidez	0,0275	1	0,8682

Fonte: Das autoras, 2021.

Legenda: Q² = Qui-quadrado; GL = Grau de Liberdade.

Nota: * p-valor < 0,05, rejeita-se H₀. ** p-valor < 0,10, rejeita-se H₀.

Ao analisar o resultado obtido do Teste de *Kruskal-Wallis* para análise de fibra, carboidratos e acidez (Tabela 5), observa-se que p-valor é maior que o nível de significância (0,05), desse modo compreende-se que as médias não diferem entre si.

Entretanto, para o resultado do Teste de *Kruskal-Wallis* para análise de cinzas (Tabela 5), nota-se que p-valor é menor que o nível de significância, portanto, as médias diferem entre si. Com isso, entende-se que, ao comprar os dados obtidos na análise de cinzas, a farinha de quiabo convencional e a farinha de quiabo orgânico são diferentes. Dessa maneira, nota-se que a farinha de quiabo orgânico apresentou maior média, conforme demonstrado na Tabela 6.

Tabela 6- Resultado da análise do Teste não-paramétrico de *Kruskal-Wallis* para a variável cinzas

Variável	Tipo	Grupo	Média
Cinzas	Convencional	b	11,76
	Orgânico	a	19,23

Fonte: Das autoras, 2021.

Conclusão

As farinhas de quiabo convencional e orgânico, ambos da variedade *Abelmoschus esculentus*, apresentaram quantidades expressivas de proteínas, fibras, lipídeos e carboidratos. Ao observar os resultados obtidos por meio da Análise de Variância, pode-se concluir que a farinha de quiabo

convencional e orgânica são estatisticamente semelhantes para os parâmetros umidade, proteína e pH. Para a análise de Lipídios, nota-se que a farinha de quiabo convencional e orgânico são estatisticamente diferentes.

Com o resultado obtido no Teste de *Kruskal-Wallis*, conclui-se que a farinha de quiabo convencional e orgânico não são diferentes para as análises de fibras, carboidratos e acidez. Em relação à análise de cinzas, o Teste de *Kruskal-Wallis* evidencia que a farinha de quiabo convencional e orgânico são distintas.

Desse modo, pode-se concluir que, mesmo apresentando resultados estatisticamente semelhantes, nota-se que a farinha de quiabo orgânico possui maiores valores dos parâmetros analisados para a composição centesimal do que a farinha de quiabo convencional. Este fato pode-se justificar com base na forma de cultivo e variedade entre os quiabos utilizados nos experimentos, sendo possível realizar estudos futuros para avaliar possíveis interferências. Logo, recomenda-se para o consumo e produção de gêneros alimentícios a farinha de quiabo orgânico.

Referências

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC N° 54, de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre informação nutricional complementar. **Diário Oficial União**, Brasília, 12 nov. 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC n° 263, de 22 de setembro de 2005. Aprova o “Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos”. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23 set. 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária– ANVISA. RDC n.º 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. **Diário Oficial União**, Brasília, 23 dez. 2003.

CARVALHO, I. T. **Microbiologia Básica**. Editora EDUFRPE: Recife/PE. 2010. 108p. Disponível em: <http://pronatec.ifpr.edu.br/wpcontent/uploads/2013/06/Microbiologia_Basica.pdf>. Acesso em: 23 jan. 2021.

DA MOTA, W. F. *et al.* Caracterização físico-química de frutos de quatro cultivares de quiabo. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 3, 2005.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de Alimentos. 4 ed. 1 ed digital. São Paulo: **Instituto Adolfo Lutz**, p. 281. 2008.

JÚNIOR, O. M. C.; OLIVEIRA, A. P. Caracterização físico-química da farinha da folha de cenoura (*Daucus carota*) e a aplicação na elaboração de produtos alimentícios. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 7, n. 2, p. 1098-1105, 2013.

MESSA, V. R. *et al.* Tecnologia e produção agropecuária através da fabricação de pães a partir de farinha de semente de quiabo. *In: XI SEMANA ACADÊMICA DE AGRONOMIA*, 2017, Cascavel. **Anais da XI SEAGRO**, Cascavel/PR, 2017. p. 57-60.

NASCIMENTO, E. S. **Obtenção de hidrolisado proteico de sementes de quiabo *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench e sua capacidade antioxidante**. 2015. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba/CT. João Pessoa, 2015.

OLIVEIRA, T. W. N. *et al.* Caracterização físico-química e sensorial de biscoitos tipo cookie elaborados com farinha de berinjela (*solanum melongena* l.) e quiabo (*abelmoschus esculentus* l. Moench). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 14259-14277, 2020.

OLIVEIRA, F. J. S. Ingestão de carboidratos por praticantes de musculação de uma academia do município de Monte Azul Paulista-SP. **Revista Ciências Nutricionais Online**, v.2, n.2, p.11-17, 2018.

SANTOS, N. L.; BORGES, F. C.; DA SILVA, L. S. Os carboidratos no cotidiano: teoria e prática no ensino da bioquímica para alunos do 9º ano em escolas da região do baixo Tocantins-Pa. **Revista Conexão UEPG**, v. 13, n. 3, p. 530-547, 2017.

SILVA, V. S. N. *et al.* **Estudo dos efeitos nutricionais da farinha de polpa e mucilagem extraída do quiabo (*Hibiscus esculentus* L.)**. 2006. 135f. Tese (doutorado)–Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP, 2006.

SILVA, C. E. **Desenvolvimento, caracterização e análise sensorial de bolo a partir da farinha de xiquexique (*Pilosocereus gounellei*)**. Relatório de Estágio (Tecnologia em Alimentos) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Campus Salgueiro, Salgueiro, PE, 64f, 2019.

SOUZA, J. M. L. de *et al.* Variabilidade físico-química da farinha de mandioca. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 4, p. 907-912, 2008.

TRINDADE, D. B.; SILVA, A. G. **Análise Estatísticas utilizando o software R: análise descritiva e exploratória de dados**. 2018. No prelo.



II Capítulo

Óleo essencial de gengibre:
extração, caracterização
e avaliação das atividades
antioxidante e inibitória da
enzima acetilcolinesterase

Capítulo 11

Óleo essencial de gengibre: extração, caracterização e avaliação das atividades antioxidante e inibitória da enzima acetilcolinesterase

Cassia Duarte Oliveira*¹; Maria das Graças Cardoso²; Ianca Carneiro Ferreira³;
Luciano de Souza⁴; Vanuzia Rodrigues Fernandes Ferreira⁵; Gabriela Fontes Alvarenga⁶

Resumo

Os óleos essenciais são metabólitos secundários de plantas utilizados em diversos setores industriais, como alimentício, farmacêutico e agroquímico. Esses óleos são caracterizados por serem líquidos a temperatura ambiente, incolores ou ligeiramente amarelados, apresentam solubilidade em solventes orgânicos e são instáveis a presença de luz, oxigênio e calor. A aplicação desses óleos essenciais nos diversos setores está relacionada com suas atividades biológicas, como atividade antioxidante, antifúngica, antibacteriana, inseticida, anti-inflamatória, aromatizante e atividade inibidora da acetilcolinesterase. Essas características estão associadas com a complexa composição química dos óleos essenciais, que muitas vezes age com sinergismo, aonde um composto pode influenciar positivamente ou negativamente a ação do outro. O gengibre é uma especiaria muito utilizada na culinária por ser aromático e por conferir sabor intenso, além de possuir diversas propriedades biológicas e medicinais. Os objetivos desse estudo foram extrair o óleo essencial de gengibre, avaliar o rendimento e o teor de umidade, bem como pesquisar a atividade antioxidante empregando o radical livre 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl e a atividade anticolinesterásica. Obtiveram-se um rendimento de 0,18% e umidade de 79,93%. Foi identificada a presença dos seguintes constituintes no óleo essencial de gengibre: geranial, neral, eucaliptol e zingibereno. O óleo essencial de gengibre apresentou baixa atividade inibitória sobre a acetilcolinesterase, com $IC_{50} > 0,1$ mg/mL e baixa atividade de eliminação do radical DPPH, com $IC_{50} > 500$ µg/mL.

Palavras-chave: DPPH. Metabólitos secundários. *Zingiber officinale*.

¹Discente de doutorado, Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras.

²Docente, Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras.

³Discente de mestrado, Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras.

⁴Discente de doutorado, Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras.

⁵Discente de doutorado, Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras.

⁶Discente de doutorado, Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras.

* E-mail para correspondência: cassiaduartemg2@hotmail.com

Introdução

Os óleos essenciais são considerados compostos obtidos por processos de hidrodestilação ou destilação por arraste a vapor d'água, assim como os produtos adquiridos por expressão de pericarpos e frutos cítricos. Esses óleos são caracterizados como líquidos a temperatura ambiente, normalmente incolores ou ligeiramente amarelados, apresentam solubilidade em solventes orgânicos, forte odor característico e densidade geralmente menor que da água. São intensamente instáveis a presença de luz, oxigênio, substâncias oxidantes e calor. Classificados como misturas voláteis compostas por diversos componentes químicos, específicos para cada espécie de vegetal, prevalecendo dois ou três compostos majoritários (SIMÕES *et al.*, 2017).

Os óleos essenciais são considerados conservantes naturais, pois são ricos em compostos bioativos, como componentes aromáticos derivados do fenol, terpenos e terpenoides (ZHANG *et al.*, 2021; AMALRAJ *et al.*, 2020). Devido às propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatória e aromatizantes, os óleos essenciais podem ser utilizados em uma ampla gama de aplicações nas indústrias de alimentos, farmacêuticas, agrônômicas, etc (AMALRAJ *et al.*, 2020).

O gengibre, *Zingiber officinale* L., é uma planta herbácea, pertencente à família Zingiberaceae, muito conhecida e utilizada como condimento e especiaria (ZHANG *et al.*, 2021; TEERARAK; LAOSINWATTANA, 2019). O óleo essencial (OE) de gengibre é extraído dos rizomas da planta *Zingiber officinale* L., e os principais compostos químicos presentes nesse óleo são α -zingibereno, β -sesquifelandrene, canfeno e ar-curcumeno (AMALRAJ *et al.*, 2020). Devido às suas propriedades antibacterianas, antifúngicas e antioxidantes, o óleo essencial de gengibre vem sendo utilizado em indústrias medicinais, indústrias de cosméticos, embalagens de alimentos, antioxidantes e para fins anti-inflamatórios (WIRJOSENTONO; MARPAUNG, 2020; TEERARAK; LAOSINWATTANA, 2019).

A acetilcolina é um neurotransmissor com função de propagar o impulso elétrico de um neurônio pré-sináptico para um pós-sináptico, se ligando a receptores no neurônio pós-sináptico, conduzindo o impulso elétrico. A enzima acetilcolinesterase é responsável por finalizar a transmissão do impulso nervoso e também por catalisar a acetilcolina em acetato e colina nas vias colinérgicas dos sistemas nervosos central e periférico (BARBOSA *et al.*, 2020).

Os inibidores da acetilcolinesterase impedem que a enzima quebre o neurotransmissor, prolongando a duração e aumentando o nível da acetilcolina na fenda sináptica. Isso vem sendo estudado para o desenvolvimento de drogas contra doenças neurodegenerativas. O reparo no nível de neurotransmissores pode fornecer um tratamento alternativo benéfico, uma vez que é capaz de reduzir

os sintomas cognitivos e funcionais, aumentando a disponibilidade sináptica de acetilcolina (BARBOSA *et al.*, 2020).

Existem muitas drogas que são utilizadas com o objetivo de inibir a enzima acetilcolinesterase, sendo esta, a forma de tratamento mais utilizada para a doença de Alzheimer. Porém, essas drogas podem causar efeitos colaterais graves, como bradiarritmias cardíacas, broncoconstrição, náuseas, aumento do peristaltismo e potenciais efeitos adversos em mulheres grávidas (BARBOSA *et al.*, 2020). Dessa forma, estudar compostos que são capazes de inibir a acetilcolinesterase, com o intuito de reduzir as doenças neurodegenerativas, e principalmente, que não causem efeitos colaterais aos seres humanos, é um grande ganho para a sociedade. Assim, uma alternativa ao uso dessas drogas seria o emprego de compostos naturais, que possuam o mesmo efeito, porém, sem causar esses efeitos colaterais (BARBOSA *et al.*, 2020).

Os objetivos desse estudo foram extrair óleo essencial de gengibre, avaliar o rendimento e a umidade bem como a atividade antioxidante por meio da eliminação do radical livre 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) e a atividade anticolinesterásica desse óleo essencial.

Material e Métodos

Extração do óleo essencial de gengibre

O gengibre fresco foi obtido no mercado varejista de Lavras, MG. O óleo essencial foi extraído no Laboratório de Química Orgânica – Óleos Essenciais da Universidade Federal de Lavras. O método de extração empregado foi o de hidrodestilação, utilizando-se o aparelho de Clevenger modificado (BRASIL, 2010). Foram pesados 300 g do gengibre fresco e submetidos ao processo de hidrodestilação por 2 horas. Após a extração, o óleo essencial foi separado do hidrolato por centrifugação, utilizando uma centrífuga de bancada de cruzeta horizontal (Fanem Baby[®]I Modelo 206 BL) a 965 g por 15 minutos. Em seguida, o óleo essencial foi pipetado com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e, posteriormente, armazenado em recipiente âmbar sob refrigeração. Paralelo à extração dos óleos essenciais, foram realizados testes para determinação do teor de umidade do material vegetal de acordo com a metodologia proposta por Pimentel *et al.* (2006), para posterior cálculo do rendimento dos óleos essenciais. Na determinação do rendimento dos óleos essenciais, foram adicionados 5g do gengibre e 80 mL de ciclo hexano em um balão volumétrico de 250 mL acoplado a um condensador com coletor volumétrico graduado (Dean Stark). O sistema foi submetido à aquecimento por 2 horas, medindo-se o volume de água ao final desse tempo.

O rendimento da extração (%R) foi calculado em porcentagem de peso/peso (%p/p), em Base Livre de Umidade (BLU), por meio da Equação 1.

$$\%R = \frac{100 \times \text{peso do óleo}}{\frac{\text{peso da amostra} - (\text{peso da amostra} \times \text{umidade})}{5}} \quad (\text{Eq. 1})$$

Caracterização química dos óleos essenciais

A caracterização química dos óleos essenciais foi realizada na Central de Análises e Prospecção Química (CAPQ) da UFLA, utilizando um cromatógrafo gasoso acoplado a um detector de espectrometria de massas (CG/EM) e um cromatógrafo gasoso acoplado a um detector de ionização em chama (CG/DIC). Os constituintes dos óleos essenciais foram identificados, utilizando-se um aparelho Shimadzu GC-17 A, com detector seletivo de massas modelo QP 5050 A, sob as seguintes condições experimentais; coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm) com fase ligada DBS (0,25 µm de espessura de filme); gás de arraste foi o $\%R = 100 \times \text{peso do óleo} / \text{peso da amostra} - (\text{peso da amostra} \times \text{umidade})$ 5 34 Hélio a um fluxo de 1,18 mL min⁻¹ a 210 °C; a temperatura iniciou-se em 60 °C, seguida de um aumento de 3 °C até 240 °C; posteriormente, a 10 °C até chegar em 300 °C, na qual permaneceu constante por 7 min; a temperatura do injetor foi de 220 °C e a do detector (ou interface) de 240 °C; foram injetados 0,1 µL de amostra, diluída em hexano a uma taxa de partição de 1:100; a energia de impacto foi de 70 eV; foi injetada também uma mistura de hidrocarbonetos (C₉H₂₀; C₁₀H₂₂; ...; C₂₄H₅₀; C₂₅H₅₂; C₂₆H₅₄). A quantificação dos constituintes foi realizada utilizando-se um cromatógrafo gasoso (Shimadzu CG – 17A) equipado com um detector de ionização de chamas (FID). Os parâmetros experimentais de análise foram os mesmos utilizados na identificação dos constituintes químicos por CG/EM, com temperatura do detector de 300 °C. Os constituintes foram identificados, comparando os índices de retenção calculados, pela equação de Van Den Dool e Kratz (1963) em relação à série homóloga de alcanos (nC₈- nC₁₈) e com extrapolação para C₁₉ e C₂₀, com os índices de retenção da literatura de acordo com Adams (2007) e duas bibliotecas disponíveis no equipamento a NIST107 e NIST2, sendo possível comparar os espectros obtidos das amostras com os já existentes na literatura.

Avaliação da atividade inibidora da acetilcolinesterase

Para avaliar a atividade inibidora da acetilcolinesterase foi realizado o monitoramento da taxa de formação do composto cromóforo 5-tio-2-nitrobenzoato adaptado de Ellman *et al.* (1961). Esse composto é produzido a partir da reação do Reagente de Ellman (ácido 5,5-ditiobis-2-nitrobenzoico ou sua forma ionizada) com a tiocolina. A tiocolina é obtida pela hidrólise da acetiltiocolina (substrato) catalisada pela enzima acetilcolinesterase (0,04 U/mL; tipo VI-S) de *Electrophorus electricus*.

Em um tubo de ensaio, foram adicionados 2970 µL de tampão Tris-HCl pH 8,0 (50 mmol/L), contendo NaCl (0,1 mol/L) e MgCl₂.6H₂O (0,02 mol/L) e 254 µL da solução de acetilcolinesterase e essa mistura foi incubada a 37 °C por 15 minutos. Decorrido esse tempo, foram adicionados 25 µL do óleo essencial diluído em etanol em diferentes concentrações (0,1; 0,050; 0,01; 0,005; 0,001; 0,0005; 0,000025 mg/mL); 100 µL da solução de reagente de Ellman e 80 µL da solução de substrato. A mistura foi novamente incubada a 37 °C por 15 minutos. Após incubação, a absorbância foi medida em espectrofotômetro UV a 412 nm.

Para o branco, foi utilizado 3,2 mL de tampão Tris-HCl. Para fins de comparação, o carvacrol foi utilizado como controle positivo nas mesmas concentrações utilizadas para os óleos essenciais. Para considerar a hidrólise espontânea da acetiltiocolina, foram realizados controles não enzimáticos para cada concentração de óleo testada, substituindo-se a enzima por tampão Tris-HCl. O controle negativo conteve todos os reagentes, exceto o óleo essencial, que foi substituído pelo solvente etanol. Os testes foram realizados em três repetições e a porcentagem de atividade enzimática foi calculada de acordo com a Equação 2.

$$A(\%) = \left(\frac{A_T - A_C}{A_O} \right) \cdot 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

Em que: A (%) = a absorbância percentual; AT= absorbância do tratamento contendo o óleo essencial/controle positivo; AC= absorbância do controle não enzimático; e AO= absorbância do controle negativo.

Atividade de eliminação do radical livre DPPH

A determinação da atividade antioxidante pelo teste de eliminação do radical DPPH foi realizada de acordo com Teixeira *et al.* (2012), em triplicata. Foram adicionados nos tubos de ensaio 0,3 mL de amostras nas concentrações 25, 50, 100, 150, 200, 250 e 500 µg/mL e 2,7 mL de solução etanólica de DPPH na concentração de 40 µg/L.

Os tubos para o controle negativo e para o branco continham 0,3 mL de etanol e 2,7 mL de solução de DPPH e 2,7 mL de etanol e 0,3 mL da solução de óleo essencial ou padrão na maior concentração, respectivamente. O BHT foi utilizado como controle positivo, nas mesmas concentrações do óleo essencial, para fins de comparação. As amostras foram protegidas de luz por 60 minutos, e as leituras das absorvâncias foram realizadas em espectrofotômetro UV/ Vis (Shimadzu UV-1601 PC) a 515 nm. A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) foi calculada pela Equação 3.

$$\%AA = \left(1 - \frac{A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}}\right) \times 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que, A_{amostra} é a absorvância da solução contendo todos os reagentes e A_{controle} é a absorvância do controle.

Análise estatística

Os valores obtidos para IC_{50} dos óleos essenciais e dos padrões carvacrol e BHT, utilizados respectivamente nas análises de atividade inibidora da acetilcolinesterase e atividade antioxidante, foram comparados entre si por análise de variância pelo teste *Scott-Knott* ao nível de 5% de probabilidade, usando-se o *software* Sisvar (FERREIRA, 2011).

Resultados e Discussão

Rendimento do óleo essencial de gengibre

A partir dos resultados de umidade, foi possível calcular o teor de água presente no gengibre e o rendimento em base livre de umidade (% p/p BLU) do óleo essencial de gengibre, como apresentado na Tabela 1.



Tabela 1 - Teor de umidade e rendimento do óleo essencial de gengibre

Óleo essencial	Teor de umidade (%)	Rendimento (% p/p BLU)
Gengibre	79,93	0,18

Fonte: Dos autores, 2021.

O gengibre é bastante comercializado pela sociedade, e é encontrado em sua forma natural, não passando pelo processo de secagem, como as outras especiarias encontradas nos mercados, como orégano, manjerição, açafrão, entre outras. Isso justifica o alto teor de umidade obtido.

Cutrim et al. (2019) obtiveram rendimento semelhante ao do presente estudo, sendo de 0,13% para óleo essencial de *Zingiber officinale*, enquanto Feng *et al.* (2018) obtiveram maior rendimento de extração, sendo de 4,07% para esse óleo.

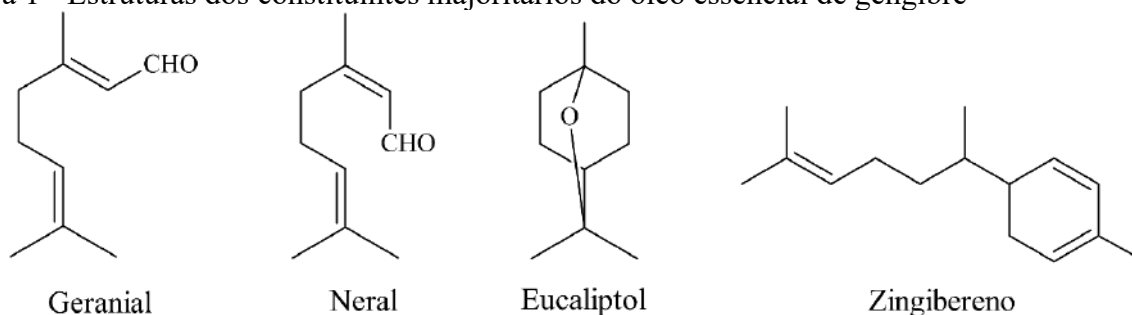
Jayasundara e Arampath (2021) avaliaram o rendimento do óleo essencial de *Zingiber officinale* e observaram que esse rendimento pode ser afetado pela variedade, estágio de cultivo e o local de cultivo. Esses autores observaram que rendimento diminuiu com o estágio de maturação em todas as variedades e localizações estudadas. O menor rendimento de óleo de gengibre obtido foi de 1,61% em 5 meses após o plantio para a variedade Siddha, plantada na área de Makandura. Além da variedade, estágio de cultivo e o local de cultivo, outros fatores como condições climáticas, horário de coleta e processos de secagem também podem influenciar na qualidade e quantidade de óleo essencial (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Identificação e quantificação química dos constituintes presentes no óleo essencial de Zingiber officinale

Os constituintes majoritários identificados do OE de gengibre foram geranial (45,160%), neral (29,780%), eucaliptol (7,040%) e zingibereno (4,080%). As estruturas dos constituintes majoritários estão apresentadas na Figura 1.

Jayasundara e Arampath (2021) afirmam que existem diversidade de perfis químicos das mesmas espécies de gengibre, cultivadas em diferentes regiões geográficas do mundo. O óleo essencial extraído de gengibre cultivado no Equador apresentou o seguinte perfil químico, como constituintes majoritários geraniol (10,5%), neral(9,1%), canfeno (7,8%), α -zingibereno (17,4%), α -farneseno (6,8%) e β -sesquifelandrene (6,7%), discordando em valores dos dados encontrados nesse trabalho (HÖFERL *et al.*, 2015).

Figura 1 - Estruturas dos constituintes majoritários do óleo essencial de gengibre



Fonte: Dos autores, 2021.

Chung *et al.* (2012) avaliaram a composição química dos óleos essenciais extraídos dos rizomas de gengibre em duas regiões diferentes da Coreia, Busan e Youngam. Nesses óleos essenciais, foram observados 37 e 35 compostos compreendendo 98,72 e 80,34% da área total do pico, que foram identificados nas regiões de Busan e Youngam, respectivamente. Os principais componentes comuns desses óleos nessas duas regiões foram canfeno (18,32; 14,08%), α -felandreno (8,83; 5,21%), biciclo [3.1.0] hexan-2-ol 2-metil- 5- (1- metiletil) -1a, 2a, 5a- (2,10; 12,68%), zingibereno (6,68; 11,15%), zingiberenol (1,71; 1,05%), linalol (4,11; 2,25%), Z-citral (1,81; 3,73%), α -farneseno (6,72; 2,98) e geraniol (7,61; 3,26%), respectivamente para Busan e Youngam.

Avaliação da atividade inibidora da acetilcolinesterase

Os resultados da Tabela 2 mostram uma maior atividade inibitória do carvacrol, quando comparado com o óleo essencial de gengibre, se diferenciando estatisticamente.

Tabela 2 - IC₅₀ do óleo essencial de gengibre e do carvacrol para a atividade inibitória da acetilcolinesterase

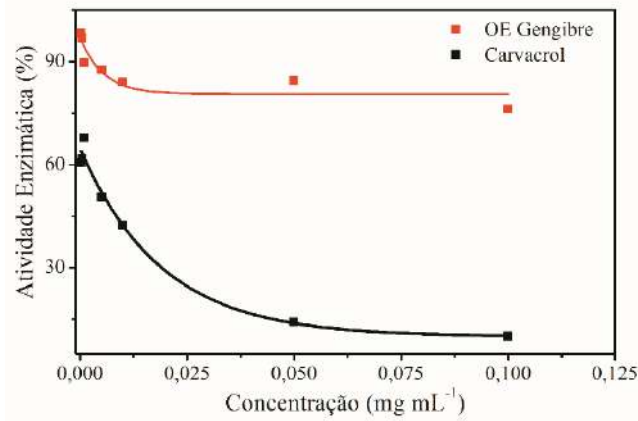
	IC ₅₀ (acetilcolinesterase) mg/mL
Óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	> 0,1 ^a
Carvacrol	0,005±0,0006 ^b

Fonte: Dos autores, 2021.

Alterações importantes que ocorrem no cérebro estão associados com a redução dos níveis do neurotransmissor acetilcolina mostrando que inibidores da acetilcolinesterase, a enzima chave que degrada a acetilcolina é de grande interesse (HAJLAOUI *et al.*, 2016).

Assim, como o composto que apresenta baixo valor de IC_{50} possui maior potencial de inibição, e o composto que apresenta maior valor possui menor potencial de inibição; o óleo essencial de gengibre, quando comparado com o carvacrol, apresentou menor potencial de inibição da acetilcolinesterase. Na Figura 2 é apresentada atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase nas diferentes concentrações estudadas.

Figura 2 - Efeito do carvacrol e do óleo essencial de gengibre na atividade sobre a acetilcolinesterase



Fonte: Dos autores, 2021.

Não foram encontrados na literatura estudos que avaliassem a atividade inibidora do óleo essencial de gengibre sobre a acetilcolinesterase. Essa atividade inibidora varia de acordo com as diferentes composições dos óleos essenciais, influenciando a interação e a inibição da enzima. Compostos cíclicos como 1,8-cineol, α -pineno e cariofileno, que são compostos encontrados nos óleos essenciais, apresentam boa atividade inibidora sobre a acetilcolinesterase (BARBOSA *et al.*, 2020).

Hajlaoui *et al.* (2016) avaliaram a atividade inibidora do óleo essencial de *Origanum majorana* e obtiveram IC_{50} de 0,15033 mg/mL. De acordo com os autores, a boa atividade é devida ao alto teor de hidrocarbonetos monoterpênicos (39,4%) e monoterpênicos oxigenados (56,1%).

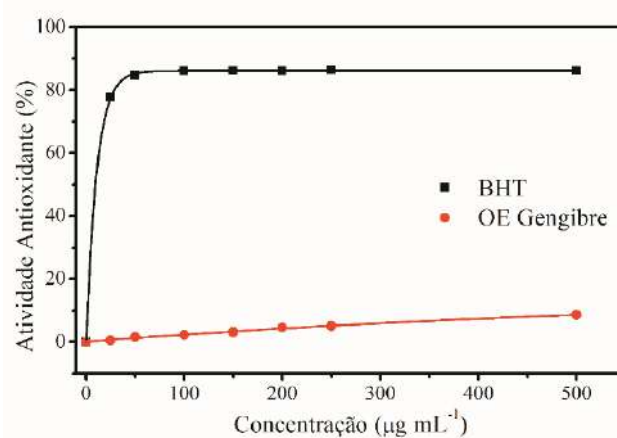
Atividade de eliminação do radical livre DPPH

O óleo essencial de gengibre apresentou baixa atividade de eliminação do radical DPPH, quando comparado com o BHT, como apresentado na Figura 3.

Os óleos que possuem constituintes majoritários fenólicos apresentam alta atividade de eliminação do radical DPPH, uma vez que conseguem estabilizar os radicais livres por meio da doação

de prótons, enquanto os óleos que não apresentam esses constituintes, apresentam atividade antioxidante baixa ou inexistente (FERREIRA *et al.*, 2019). Isso ocorre com os óleos essenciais de orégano e cravo da Índia, que apresentam em sua constituição compostos fenólicos, como eugenol, timol e carvacrol, os quais conferem boa atividade antioxidante (AVOLA *et al.*, 2020; FERREIRA *et al.*, 2019). Na ausência desses compostos fenólicos, a atividade antioxidante frente ao DPPH é baixa ou não existe, excetuando-se os compostos com o radical alila, em que o radical pode ser estabilizado por ressonância.

Figura 3 - Efeito do BHT e do óleo essencial de gengibre sobre a atividade antioxidante de eliminação do radical DPPH



Fonte: Dos autores, 2021.

Os constituintes dos óleos essenciais que melhor estabilizam radicais por meio da doação de prótons ou elétrons são, na seguinte ordem: fenilpropanoides, terpenoides com características fenólicas, álcoois e terpenos, sendo monoterpenos e sesquiterpenos (TEIXEIRA *et al.*, 2012). Isso porque os radicais fenilpropanoides são estabilizados pelo anel aromático, o que proporciona melhor deslocalização do elétron (FERREIRA *et al.*, 2019).

Quando comparado o IC₅₀ do óleo essencial de orégano com o IC₅₀ do antioxidante sintético BHT, foi observada diferença significativa, como apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - IC₅₀ do óleo essencial de gengibre e do BHT para a atividade antioxidante

	IC ₅₀ (acetilcolinesterase) µg/mL
Óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i>	> 500 ^a
BHT	4,53±1,1 ^b

Fonte: Dos autores, 2021.

O valor do IC₅₀ do BHT foi estatisticamente maior que do óleo essencial de gengibre. Isso porque a presença de compostos fenólicos está diretamente relacionada à essa atividade antioxidante e, como o óleo essencial de gengibre possui baixo teor de compostos fenólicos, sua atividade antioxidante é baixa (DHANIK *et al.*, 2017). Em seu estudo, Höferl *et al.* 2015 avaliaram a atividade antioxidante para eliminação do radical DPPH do óleo essencial de gengibre e obtiveram IC₅₀ de 675 µg/mL, corroborando com os dados qualitativos deste trabalho.

Imane *et al.* (2020) analisaram a atividade antioxidante por meio da eliminação do radical DPPH nos óleos essenciais de alecrim, gengibre, árvore do chá, limão e cravo. Esses autores observaram que apenas o cravo apresentou atividade antioxidante no método DPPH com IC₅₀ de 260 µg/mL. Isso foi justificado pela presença de compostos fenólicos e à superioridade dos compostos polares presentes no óleo essencial de cravo, além da presença de terpenos/terpenoides com capacidade de doação de hidrogênio para estabilizar o radical. Portanto, devido à variável composição química, influenciada pelos fatores de estágio de desenvolvimento da planta, parte da planta colhida, período, área geográfica de colheita e modo de extração, podem ser obtidos diferentes resultados para atividades antioxidantes dos óleos essenciais.

Conclusão

Após a extração e caracterização do óleo essencial de gengibre, observou-se que, comparando os resultados obtidos com aqueles encontrados na literatura, as condições de cultivo, métodos de extração e localidades diferentes vão influenciar no rendimento e na constituição dos constituintes do óleo extraído. Os constituintes majoritários, minoritários e o sinergismo entre eles, encontrados nos óleos essenciais influenciam diretamente nas suas atividades biológicas, como na atividade antioxidante e sobre a enzima acetilcolinesterase. Dados da literatura indicam que a presença de compostos fenólicos nos óleos essenciais apresenta boa capacidade antioxidante e ação sobre essa enzima. Como no óleo de gengibre não foi detectado compostos fenólicos, já era de esperar uma baixa atividade de eliminação do radical DPPH, quando comparado com o BHT, que é um antioxidante comercial muito utilizando na indústria de alimentos. Além disso, o óleo essencial extraído apresentou baixa atividade sobre a enzima acetil colinesterase, quando comparado com o carvacrol, que apresenta efeito anticolinesterástico, impedindo que a enzima quebre o neurotransmissor. A alta ação de drogas sobre a enzima acetil colinesterase vem sendo muito estudada, pois essas drogas podem atuar contra doenças neurodegenerativas. Assim, produtos naturais, como os óleos essenciais, que possam ser utilizados em preferência aos antioxidantes e drogas sintéticas, tendem a se



destacarem no mercado, ganhando cada vez mais espaço, uma vez que podem ser protótipos para futuramente serem empregados evitando a oxidação lipídica em alimentos e auxiliando no tratamento de doenças neurodegenerativas.

Agradecimentos

Universidade Federal de Lavras, CNPq, CAPES e FAPEMIG.

Referências

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**, Carol Stream: Allured, p. 469, 2007.

AMALRAJ, A. *et al.* Preparation, characterization, and antimicrobial activity of chitosan/gum arabic/polyethylene glycol composite films incorporated with black pepper essential oil and ginger essential oil as potential packaging and wound dressing materials. **Advanced Composites and Hybrid Materials**, v. 3, n. 4, p. 485-497, 2020.

AVOLA, R. *et al.* Oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil provides anti-inflammatory activity and facilitates wound healing in a human keratinocytes cell model. **Food and Chemical Toxicology**, v. 144, p. 111586, 2020.

BARBOSA, D. C. S. *et al.* Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory potential, *in silico*, of *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd.) O. Berg fruit peel essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 151, 2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Farmacopeia Brasileira**, Brasília, 5th ed.; n. 1, p. 198-199, 2010.

CHUNG, I. M. *et al.* GC-MS Analysis of the Essential Oil and Petroleum Ether Extract of Different Regions of Korean Ginger (*Zingiber officinale*) and Antioxidant Activity. **Asian Journal of Chemistry**, v. 24, n. 2, p. 832, 2012.

CUTRIM, E. S. M. *et al.* Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oils and Hydroalcoholic Extracts of *Zingiber officinale* (Ginger) and *Rosmarinus officinalis* (Rosemary). **Revista virtual de química**, v. 11, p. 60-81, 2019.

DHANIK, J. *et al.* Chemical profiling and antioxidant activity of essential oil of *Zingiber officinale* Roscoe from two different altitudes of Uttarakhand. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 20, n. 6, p. 1547-1556, 2017.

ELLMAN, G. L. *et al.* A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961.



FENG, J. *et al.* Chemical Composition and Skin Protective Effects of Essential Oil Obtained from Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 21, n. 6, p. 1542-1549, 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computerstatistic alanalysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p.1039-1042, 2011.

FERREIRA, V. R. F. *et al.* Colorimetric, electroanalytical and theoretical evaluation of the antioxidant activity of *Syzygium aromaticum* L., *Origanum vulgare* L., *Mentha spicata* L. and *Eremanthus erythropappus* M. essential oils, and their major constituents. **New Journal of Chemistry**, v. 43, n. 20, p. 7653-7662, 2019.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

HAJLAOUI, H. *et al.* Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase properties of Tunisian *Origanum majorana* L. essential oil. **Microbial Pathogenesis**, v. 95, p. 86-94, 2016.

HÖFERL, M. *et al.* Composition and comprehensive antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) essential oil from Ecuador. **Natural product communications**, v. 10, n. 6, p. 1085-1090, 2015.

IMANE, N. I. *et al.* Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of some essential oils against multidrug resistant bacteria. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 35, 2020.

JAYASUNDARA, N. D. B.; ARAMPATH, P. Effect of variety, location & maturity stage at harvesting, on essential oil chemical composition, and weight yield of *Zingiber officinale* roscoe grown in Sri Lanka. **Heliyon**, v. 7, n. 3, 2021.

PIMENTEL, F. A. *et al.* A convenient method for the determination of moisture in aromatic plants. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 373–375, abr. 2006.

SIMÕES, C. M. D. O. *et al.* **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TEERARAK, M.; LAOSINWATTANA, C. Essential oil from ginger as a novel agent in delaying senescence of cut fronds of the fern (*Davallia solida* (G. Forst.) Sw.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 156, 2019.

TEIXEIRA, M. L. *et al.* *Citrumelo Swingle*: Caracterização química, atividade antioxidante e antifúngica dos óleos essenciais das cascas frescas e secas. **Magistra**, v. 24, n. 3, p. 194-203, 2012.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal Chromatography Amsterdam**, v. 11, p. 463–471, 1963.

WIRJOSENTONO, B.; MARPAUNG, L. Microencapsulation of ginger-based essential oil (*Zingiber cassumunar roxb*) with chitosan and oil palm trunk waste fiber prepared by spray-drying method. **Case Studies in Thermal Engineering**, v. 18, 2020.

ZHANG, B. *et al.* Effect of sodium alginate-agar coating containing ginger essential oil on the shelf life and quality of beef. **Food Control**, 2021.

12 Capítulo

Padrão de qualidade de
cachaças produzidas em
alambiques no Território
de Identidade - Região do
Sertão Produtivo Baiano

Capítulo 12

Padrão de qualidade de cachaças produzidas em alambiques no Território de Identidade - Região do Sertão Produtivo Baiano

Amália Michelle Gomes Costa*¹; Marciene Vieira de Souza²;
Daniele de Brito Trindade¹; Mariana Texeira Rodrigues Vila¹

Resumo

A cachaça é a denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, sendo seu processo de fabricação obtido por quatro fases principais: a preparação da matéria-prima, fermentação, destilação e o envelhecimento. Grande parte dos produtores de cachaças são artesanais, constituídos pelo grupo familiar, e suas atividades são informais. O presente estudo teve por objetivo avaliar as características físico-químicas das cachaças produzidas e comercializadas na região do sertão produtivo, município Caetité-BA. Coletou-se 10 amostras de cachaças dos alambiques para a avaliação da qualidade destas através das análises físico-químicas, de grau alcoólico (% v/v), pH, densidade, acidez total, acidez fixa, acidez volátil, ésteres e cobre. Os resultados obtidos demonstraram que apenas as amostras de cachaças dos alambiques A, B, E e H estavam dentro do padrão definido para cachaça (38%-48%v/v), enquanto as demais (C, D, F, G, I e J) foram classificadas como aguardente de cana (38%-54%v/v). Quanto à acidez volátil, as amostras de cachaças dos alambiques C, D, I e J estavam conforme o permitido pela legislação, que prevê 150 mg/ml (máximo) e as demais (A, B, E, F, G e H) apresentaram valores superiores ao valor estabelecido. Para ésteres todas as amostras das cachaças dos alambiques estavam fora do padrão exigido pela legislação vigente que estabelece no máximo 200 mg/ml. Em relação ao cobre, apenas a amostra do alambique G estava dentro do padrão de 5 mg/L (máximo). Vale salientar que para os parâmetros pH, densidade, acidez total e fixa não há referências na legislação. Com o estudo, foi possível concluir que as cachaças produzidas na região do Sertão Produtivo Baiano, no município de Caetité-BA, possuem composição diferenciada e essas alterações se devem à condução do processo produtivo e processo de higienização não satisfatórios dos equipamentos.

Palavras-chave: Aguardente. Bebida destilada. Cana-de-açúcar. Legislação Brasileira.

¹ Professora EBTT, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, *Campus* Guanambi.

² Discente, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, *Campus* Guanambi.

* E-mail para correspondência: amaliamichelle@hotmail.com

Introdução

A produção de cachaça é fundamentada na transformação de açúcares existentes no mosto da cana-de-açúcar em componentes secundários, dióxido de carbono e álcool etílico. Nesta etapa, determinadas leveduras agem promovendo a catalisação dos açúcares presentes, além do processo de destilação, onde é obtida a bebida propriamente dita (CARDOSO, 2013), no qual os alambiques, conhecidos como destilaria da cachaça artesanal, são na verdade locais onde são realizados o processo de destilação em estrutura de cobre (GONÇALVES, 2009; SANTANA, 2014).

De acordo com Aquino *et al.* (2006), o processo de produção da cachaça, é representada por quatro fases principais: a primeira é a preparação da matéria-prima, a segunda fase é a fermentação, a terceira denota a destilação e a última, sendo esta opcional, é a fase do envelhecimento em barril de madeira, depois engarrafada e comercializada.

De acordo com a legislação Brasileira, Instrução Normativa Nº 13, de 29 de junho de 2005, a aguardente de cana pode ser definida como bebida de graduação de 38% a 54% em volume a 20 °C, obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar, sendo adicionada de açúcares até 6 g/l, expressos em sacarose (BRASIL, 2005).

A Instrução Normativa estabelece diferenças entre os termos aguardente de cana e cachaça quanto à graduação alcoólica e aspectos sensoriais afirmando que cachaça é usada para:

[...] denominação típica e exclusiva da aguardente de cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 a 48% em volume a 20 °C, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com características sensoriais. L-1, peculiares, podendo ser adicionada de açúcares em até 6 g expressos em sacarose (BRASIL, 2005).

O caldo de cana é obtido pelo processo da moagem, seguido pela filtração e decantação para retirada de impurezas. O produtor de aguardente na sua maioria desconhece este tipo de tecnologia utilizada no tratamento do caldo de cana, bem como os benefícios obtidos para produção de uma bebida de qualidade. A extração por moagem é a operação que permite a separação do colmo da cana-de-açúcar em duas frações: o caldo e o bagaço (VEIGA, 2006). O tratamento terá início com o caldo passando por peneiras de malha fina, destinada a reter partículas sólidas e resíduos de bagaço de diâmetros maiores. Seguido do processo de clarificação feita com fosfatos colocado na cana e o cálcio na calda, promovendo a coagulação de proteínas e arraste de impurezas para o fundo do decantador, de modo a remover materiais insolúveis e demais substâncias dissolvidas indesejáveis (DOHERTY; RACKEMANN, 2009; MAIA; CAMPELO, 2006).

Após o caldo de cana ser decantado, deverá passar por tanques onde será ajustado o °Brix, antes de dar início ao processo fermentativo. A concentração de açúcares entre 14 °Brix e 16 °Brix são ideias para a ocorrência do processo de fermentação. Valores acima de 16 °Brix devem passar pela diluição, para garantir a estabilidade do fermento ao longo do andamento do período de fermentação. Se não houver diluição as fermentações podem ser mais lentas e incompletas podendo interferir na qualidade final da cachaça (VEIGA, 2006). Em seguida o caldo passará pela etapa de fermentação, no qual o açúcar e outros compostos presentes no caldo de cana são transformados em etanol, CO₂ e outros produtos por meio da ação de enzimas de certos micro-organismos que são responsáveis pela qualidade e contaminantes do produto (MUTTON; MUTTON, 2005).

Além desses, há normalmente a formação de pequenas quantidades de outros componentes, os quais recebem a denominação de produtos secundários da fermentação alcoólica, tais como ácidos carboxílicos, metanol, ésteres, aldeídos e álcoois superiores (CARDOSO, 2013).

A fermentação alcoólica é o processo de oxidação anaeróbica parcial da glicose. Os micro-organismos mais comumente usados na fermentação alcoólica são as leveduras, fundamentalmente a espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Ao iniciar o processo é desejável que o micro-organismos seja sadio, regular, e que apresente altos rendimentos. No intuito de adquirir tais propriedades, faz-se o chamado “pé de cuba”, “inóculo”, “pé de fermentação” ou “levedo”. Este processo baseia-se na introdução de grandes quantidades de fermentos de excelente qualidade ao caldo que irá ser fermentado, podendo no pé de cuba ser utilizado leveduras selvagem ou leveduras selecionadas (SCHWAN; DIAS; DIAS, 2013).

Após a fermentação o mosto passa a ser chamado de líquido fermentado, possui baixa graduação alcoólica e pode conter um grande número de componentes de natureza distinta, podendo ser sólidos, líquidos ou gasosos. Sendo as substâncias voláteis de propriedades químicas e físicas diferentes, é possível que ocorra a separação delas por meio da diferença da temperatura de ebulição pelo processo conhecido como destilação (NOGUEIRA; VENTURINI FILHO, 2005).

A destilação consiste, sob determinada temperatura, na passagem de substâncias ou misturas da fase líquida para a fase gasosa; em seguida, essas são resfriadas, retornando à fase líquida. Trata-se de separações químicas realizadas por um processo físico (DIAS, 2013). Este processo deve ser efetuado de forma que o produto obtido preserve o aroma e sabor dos principais componentes contidos na matéria-prima e aqueles formados durante a fermentação. Após a fermentação, é vedada a adição ou introdução no equipamento de destilação de qualquer substância ou ingrediente e que altere as características sensoriais naturais do produto (BRASIL, 2005). O processo descontínuo geralmente é feito em alambiques de cobre cujas estruturas podem conter partes em alumínio ou em

ação. Esse método se apresenta menos eficiente sendo necessário realizar cortes durante a destilação, visando a obtenção de um produto com baixas concentração de substâncias tóxicas e compostos que reduzem a qualidade sensorial da bebida (SANTANA, 2014).

As três frações obtidas com essa separação são chamadas de cabeça, coração e cauda. Apenas a fração intermediária denominada de coração é utilizada para consumo, a fração inicial a cabeça, apresenta elevado teor alcoólico de (57% v/v) e a cauda, última fração, dispõe de um teor alcoólico relativamente baixo (27% v/v). sendo estas duas últimas frações descartadas. Independentemente do processo empregado, a qualidade da cachaça depende de variáveis relativas ao projeto do equipamento e das condições operacionais (SANTANA, 2014).

O processo de destilação é a etapa que também está relacionada com a qualidade da bebida. Nesta etapa ocorre a concentração do etanol presente no líquido fermentado e dos componentes do líquido (etanol, água e congêneres, como ácidos, álcoois, ésteres, compostos carbonilados, acetais, fenóis, hidrocarbonetos, compostos nitrogenados, compostos sulfurados e açúcar) que apresentam diferentes graus de volatilidade. Assim, é possível realizar a separação por destilação, onde esses compostos serão concentrados, caracterizando e qualificando a bebida. Os compostos mais voláteis são destilados na primeira fração da destilação, denominada de “cabeça”; em seguida, tem-se a fração “coração” e os compostos menos voláteis saem na última fração da destilação denominada de “cauda” ou “água fraca” (CARDOSO, 2013; SCANAVINI; CERIANI; MEIRELLES, 2012).

O resíduo gerado ao final do processo de destilação, conhecido como vinhoto ou vinhaça pode ser utilizado como repositores de minerais e água na fertilização do solo, bem como na alimentação animal, pois este resíduo apresenta baixíssima quantidade de etanol e grande quantidade de água (DIAS, 2013; SERAFIM *et al.*, 2011).

Após a destilação, a cachaça ainda não está pronta para o consumo, pois apresenta buquê irregular, por isso, há necessidade de um período de descanso de dois a três meses para completar a qualidade, devendo ser guardada em recipientes apropriados, em local protegido, evitando altas temperaturas (BARCELOS, 2006; SANTANA, 2014).

A cachaça resultante desse processo deve ser armazenada em recipientes feitos de madeira, aço inoxidável ou aço carbono isolado internamente de maneira a evitar contaminações ao produto. Além de obedecer a legislação vigente as áreas de estocagem devem seguir os padrões exigidos relacionados a umidade, temperatura e outros (INMETRO, 2005). Entretanto, a etapa de envelhecimento é opcional, mas agrega valor ao produto final. Nesta etapa a cachaça é armazenada em barris de madeira por um tempo determinado e nesse período ocorrem diversas reações que proporcionam a incorporação de compostos provenientes das madeiras usadas. Tais reações são

responsáveis por mudanças químicas, físicas e sensoriais da cachaça. A incorporação e os tipos dos compostos agregados dependem do tempo de armazenamento e principalmente da madeira usada na confecção dos barris. (BARCELOS, 2006; SANTANA, 2014).

A cachaça deve ser envasada em embalagens adequadas que garantam a integridade do produto. As embalagens de vidro, são as mais recomendadas pois o uso do plástico possibilita a reação do material da embalagem com alguns componentes presentes na bebida alterando a qualidade sensorial. Todo produto destinado ao envase deve ser filtrado e o local e os equipamentos limpos e higienizados. (SANTANA, 2014).

Conforme descrição da Instrução Normativa nº13, de 29 de junho de 2005, são apresentados na Tabela 1 os limites mínimos e máximos para os produtos secundários ou congêneres, bem como contaminantes orgânicos e inorgânicos respectivamente (BRASIL, 2005).

Tabela 1 - Limites mínimos e máximos para componentes secundários em cachaça

Componentes	Limites (mg/100 mL álcool anidro)	
	Mínimos	Máximos
Acidez volátil, expressa em ácido acético		150
Ésteres totais, expressos em acetato de etila	–	200
Aldeídos totais, em acetaldeído	–	30
Soma Furfural e Hidroximetilfurfural	–	5
Soma dos álcoois isobutílico, isoamílicos e n-propílico.	–	360
Soma dos coeficientes de congêneres.	200	650

Fonte: BRASIL, 2005.

Os aspectos gerais relacionados à qualidade da cachaça necessitam da verificação e monitoramento da composição inorgânica (metais e outros), e orgânica (componentes secundários) por meio de análises físico-químicas. Estudos objetivaram analisar a cachaça, segundo a legislação, utilizando análises físico-químicas, na geração de informações importantes para se adequar o tempo e as condições para a obtenção de um produto de qualidade, além de defender o consumidor de eventuais contaminantes e proporcionar conformidade com os limites mínimos exigidos pela legislação garantindo a aceitação do produto nos diversos mercados mundiais (CARDELLO; FARIA, 1997; MUTTON; MUTTON, 2010). Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar as características físico-químicas das cachaças produzidas e comercializadas na região do Sertão Produtivo Baiano, município de Caetité-BA.

Material e Métodos

Inicialmente, foi realizado o mapeamento do Território de identidade - Região do Sertão Produtivo Baiano para o conhecimento do local estudado. O município de Caetité-BA, juntamente com 17 municípios, está localizado na microrregião de Guanambi, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2018). Finalizada esta primeira etapa ocorreu uma visita aos produtores com o objetivo de informá-los sobre esse projeto e indagá-los sobre a disposição em participar. Aos produtores que aceitaram participar do projeto foi disponibilizado um termo de autorização para coleta de dados.

Realizou-se as análises físico-químicas das cachaças produzidas com o objetivo de comparar com os parâmetros apresentados na Legislação. Para aquelas variáveis que não possuem referências na Legislação, buscou-se comparar com os resultados encontrados na literatura.

As análises foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Instituto Federal Ciência e Tecnologia Baiano - *Campus* Guanambi e no Laboratório de Análise de Bebidas da Universidade Federal de Lavras. Foram selecionados 10 alambiques produtores de cachaças provenientes na zona rural do município de Caetité, os quais foram designados como A, B, C, D, E, F, G, H, I e J. Nessas bebidas, foram realizadas a avaliação da qualidade por meio das análises físico-químicas, em triplicata, dos compostos secundários, conforme a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008). As análises das amostras de cachaças dos alambiques foram: Determinação da Graduação Alcoólica, pH, Densidade, Acidez Total, Acidez Fixa, Acidez Volátil, Ésteres e Cobre.

Os dados obtidos nas análises físico-químicas em estudo foram avaliados estatisticamente utilizando o *software* estatístico R (R Core Team, 2018). O banco de dados com as variáveis avaliadas foi elaborado com o auxílio da ferramenta *Microsoft Excel*. Em seguida, com o objetivo de sumarizar os resultados encontrados na pesquisa, realizou-se a análise descritiva e exploratória de dados.

Resultados e Discussão

A Tabela 2 apresenta os resultados encontrados nas análises físico-químicas dos alambiques, que foram comparados com os valores de referência para verificar se estão dentro dos padrões de qualidade de cachaça estabelecidos pela Legislação Brasileira, Instrução Normativa nº13, de 29 de junho de 2005 (BRASIL, 2005).

Para a graduação alcoólica, apenas os alambiques A, B, E e H são classificadas como cachaça, pois apresenta no limite permitido pela legislação ao referir-se a bebida típica e exclusiva da

aguardente de cana-de-açúcar produzidas no Brasil, com graduação alcoólica entre 38 a 48% (V/V) a 20 °C. Quanto aos alambiques C, D, F, G, I e J, por apresentarem graduação alcoólica superior a 48%, são classificados como aguardente de cana sendo uma bebida de graduação de 38% a 54% em volume a 20 °C. Esses valores encontrados dentro do limite estabelecido pela legislação é um indicativo sobre o correto procedimento de separação das frações da cabeça, coração e cauda.

França, Sá e Fiorini (2011) relatam que o aproveitamento da porção da cabeça contribui para o aumento da graduação e uma maior aplicação dos produtos originados da calda contribui para uma queda na graduação. Cachaça com menor graduação resulta na formação de um produto turbido, com qualidade depreciada.

A legislação brasileira que dispõe sobre os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) para aguardente de cana-de-açúcar e cachaça (BRASIL, 2005), não define padrões para os parâmetros de densidade relativa e pH.

Em relação aos resultados das análises de pH, foram obtidos valores entre 3,31 e 3,82. Resultados superiores foram encontrados para pH por Borges (2011), que ao avaliarem 11 amostras de cachaças produzidas em um sistema de destilação em alambique de cobre, encontrou valores entre 4,0 a 5,3, com valor médio de $4,59 \pm 0,46$. Volpe (2013) ao estudar cachaças artesanais e industriais indicou que o aumento ou a diminuição do pH da cachaça, seja ela artesanal ou industrial é resultado de características de cada processo, que levam a variações na porção ácida da bebida. Os componentes de maior relevância para a distinção da artesanal em relação a industrial é a presença do acetaldeído, ácido acético e grau alcoólico em maiores proporções para estas bebidas, influenciando para a posição positiva. O pH, pouco teve influência na diferenciação das bebidas. As cachaças artesanais apresentaram concentrações expressivas para estes compostos devido à condução da etapa de fermentação (assepsia, contaminação, viabilidade das leveduras, entre outros), bem como a forma de destilação (alambique) e o material de constituição do mesmo (cobre).

Os valores encontrados nas análises para densidade das amostras de cachaças dos alambiques variaram entre 0,914 g/L e 0,959 g/L. Cavalcante (2017) relata que a densidade das cachaças pode sofrer alteração por meio da absorção, umidade e outros compostos. Uma vez que o preparo e armazenamento da cachaça afeta diretamente no valor da densidade.

Para acidez total, os resultados apresentaram valores entre 40,01 e 191,6 mg/100L. Para a acidez fixa os resultados variaram entre 4,63 e 50,54 mg/100mL de amostra. Para os parâmetros acidez total e acidez fixa não existem padrões na legislação.

Tabela 2 - Resultados obtidos para a composição das cachaças de alambiques produzidos no município de Caetitê- BA, os valores apresentados na Legislação, o desvio padrão e coeficiente de variação

Comp. analisados	Gradação alcoólica (GL) (% v/v)	pH	Densidade (g/L)	Acidez total* (g/L)	Acidez fixa* (g/L)	Acidez volátil* (g/L)	Ésteres totais*	Cobre** (mg/L)
Mín.	38	-	-	-	-	-	-	-
Máx.	48	-	-	-	-	150	200	5
A	48,00	3,82	0,926	107,82	4,63	214,97	391,11	5,99
B	48,00	3,50	0,918	186,59	46,33	292,20	397,22	10,96
C	50,33	3,74	0,937	43,80	10,10	67,4	288,64	5,10
D	50,00	3,51	0,923	63,18	23,58	79,2	310,34	6,28
E	45,66	3,31	0,914	174,77	50,54	276,06	441,91	23,75
F	52,00	3,83	0,922	191,6	32,85	305,29	383,59	14,46
G	49,00	3,51	0,919	124,67	26,11	201,14	375,94	3,91
H	47,66	3,41	0,926	177,74	35,38	296,59	384,99	6,32
I	50,33	3,69	0,959	48,43	17,69	61,94	323,84	26,46
J	50,00	3,79	0,971	40,01	11,37	57,29	289,23	15,12
DP	1,80	0,18	0,02	63,63	15,45	107,67	52,02	8,01
CV	3,68	5,15	2,04	54,93	59,75	58,13	14,50	67,71

Fonte: Dos autores, 2019.

Nota: *mg/100mL, **mg/L; as letras A, B, C, D, E, F, G, H, I, J representam os alambiques. DV= Desvio Padrão e CV=Coefficiente de Variação.

O limite estabelecido pela Instrução Normativa N°13, de 29 de junho de 2005 (BRASIL, 2005) para a acidez volátil é de 150 mg de ácido acético/100mL de amostra ou 100 ml de álcool anidro. Para este parâmetro, as cachaças dos alambiques apresentaram valores entre 57,29 e 305,29 mg/100 ml. Dentre os alambiques analisados, os identificados como C, D, I e J apresentaram cachaças com valores abaixo do limite exigido pela legislação, enquanto os alambiques A, B, E, F, G e H apresentaram valores superiores ultrapassando o limite estabelecido pela a legislação.

De acordo com Cardoso (2013), os valores de acidez volátil estão relacionados a fatores como o controle adequado do tempo e da temperatura no decorrer do processo fermentativo, do tipo de levedura utilizada, manejo do mosto e, principalmente, o processo de higienização de equipamentos e utensílios no período de fabricação.

Para os resultados de ésteres, as concentrações variaram entre 288,6 e 441,9 mg/100mL evidenciando que todas as dez amostras estavam acima do limite estabelecido pela legislação, que é de 200 mg/100mL, destacando que o resultado não foi satisfatório para este parâmetro observado.

Segundo Cavalcante (2017), a presença de ésteres em cachaças é desejável, pois são responsáveis pelo aroma e sabor. Sua presença não está relacionada apenas a etapa de envelhecimento, como também está ligada à etapa de manejo da fermentação e destilação, além do tipo de equipamento influenciando no aparecimento de ésteres na cachaça. Os valores de ésteres presentes no produto, podem ter ligação com o período em que a cachaça foi destilada, sendo este valor menor em cachaças que foram recém destiladas. O éster quando presente em pequenas porções, é responsável pela incorporação de um aroma agradável de frutas na cachaça. Por outro lado, em grandes quantidades, confere à cachaça um sabor enjoativo e indesejado (WINDHOLZ, 1976).

Para o teor de cobre houve variação de 3,91 a 26,46 mg/L, evidenciando que, dentre todas as amostras de cachaças dos alambiques analisados, apenas o G estava dentro do limite previsto pela legislação, que estabelece um valor máximo de 5 mg/L.

França, Sá e Fiorini (2011) ao analisar cachaças produzidas artesanalmente no município de Passos (MG) observaram que os teores de cobre estavam acima dos valores estabelecidos na Instrução Normativa N° 13, de 29 de junho de 2005 e que dos alambiques avaliados apenas o B e H apresentaram 4,64 mg/L e 3,08 mg/L de cobre, respectivamente, representando 25% das amostras analisadas em consonância com a legislação vigente. Os autores destacaram que em 75% das amostras os teores de cobre apresentavam-se fora da especificação determinada pela legislação; com um valor extremo de 19,92 mg/L na amostra de cachaça do alambique identificado como G.

De acordo com Azevedo *et al.* (2003), a entrada do cobre na cachaça ocorre na etapa de destilação, uma vez que o metal é constituinte do equipamento e quando exposto ao ar úmido

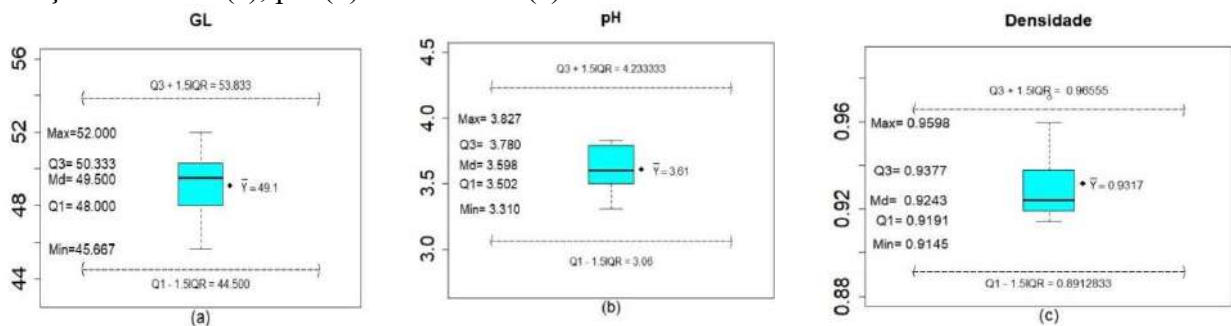
contendo gás carbônico lentamente se oxida, ficando coberto por uma camada esverdeada chamada de “azinhavre” $[CuCO_3Cu(OH)_2]$ nas paredes internas dos alambiques de cobre. Podendo este composto ser dissolvido pelos vapores alcoólicos ácidos, contaminando a bebida na destilação.

Azevedo *et al.* (2003) recomenda alguns procedimentos como manter os destiladores cheios de água nas entressafras, manter os destiladores vazios e realizar a assepsia com solução de bicarbonato a cada início de safra, além de lavagens diárias com água ao final do dia de trabalho.

A Tabela 2 apresenta o desvio padrão e o coeficiente de variação da composição das cachaças de alambiques produzidos na Região do Sertão Produtivo Baiano, município de Caetité-Ba Em relação ao desvio padrão das variáveis graduação alcoólica, pH e densidade os valores encontrados foram de 1.80, 0.18 e 0.02 respectivamente. Considerando o coeficiente de variação (CV) da composição das cachaças, é possível concluir que a densidade apresenta maior homogeneidade em relação às outras variáveis estudadas (CV = 2,04). Vale salientar também, que o cobre apresentou o maior coeficiente de variação (CV = 67,71), indicando que há uma maior variabilidade entre os alambiques.

Os resultados das determinações físico-químicas das cachaças de alambiques adquiridas na Região do Sertão Produtivo Baiano, no município de Caetité-Ba são apresentadas nas Figuras 1, 2 e 3.

Figura 1 - *Boxplots* da composição das cachaças e suas respectivas medidas descritivas para a graduação alcoólica (a), pH (b) e densidade (c)



Fonte: Dos autores, 2019.

Nota: Mín = mínimo; Q1 = 1º quartil; Md = mediana, \bar{Y} = média; Q3 = 3º quartil e Máx = máximo. Os valores que estão fora do intervalo Q1 - 1.5 IQR e Q3 + 1.5IQR são considerados *outliers* e precisam ser analisados com cuidado, em que IQR é a distância interquartilica (Q3 - Q1).

Para a graduação alcoólica (GL), tem-se que a média e a mediana foram 49,1% v/v e 49,5% v/v, respectivamente. Além disso, 75% dos alambiques produziram cachaças com GL abaixo de 50,33% v/v (3ºquartil). Vale salientar que a o valor médio da GL das cachaças analisada foi 49,10 e que 50% (mediana) dos alambiques apresentaram GL abaixo de 49,50% v/v (Figura 1a).

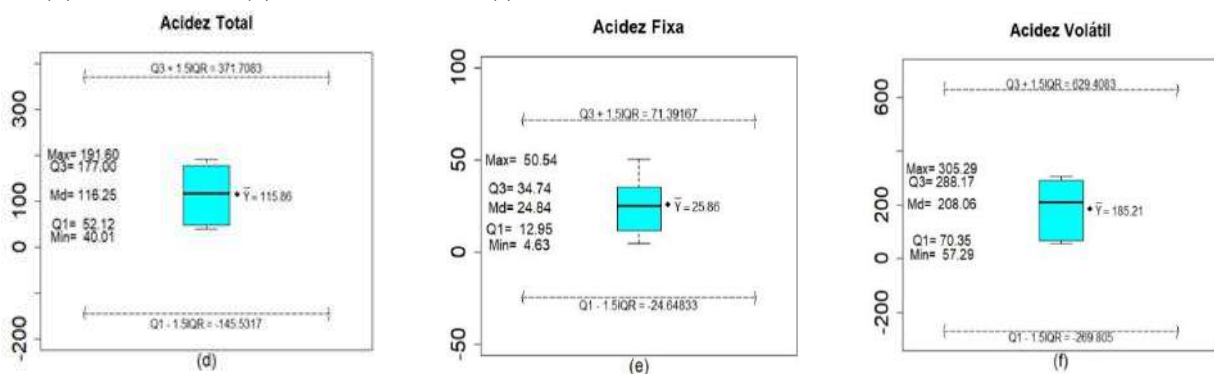
Verificou-se que o pH da cachaça produzida nos alambiques variou de 3,31 (mínimo) a 3,82 (máximo). Além disso, 75% dos alambiques produzem cachaças com pH acima de 3,50 (1º quartil). Vale ressaltar que o valor médio do pH das cachaças foi de 3,61 e que 50% (mediana) dos alambiques apresentaram pH de 3,59 (Figura 1b).

Em relação à densidade das cachaças, Figura 1c, houve variação de 0,9145 g/L (mínimo) a 0,9598 g/L (máximo). Além disso, 25% dos alambiques fabricaram cachaças com densidade abaixo de 0,9191 g/L (1º quartil). O valor médio da densidade da cachaça de 0,9317 g/L estava acima do valor mediano (0,9243 g/L), ocasionando uma leve assimetria à direita na distribuição dos dados.

A Figura 2d apresenta as medidas para acidez total. Notou-se que houve variação de 40,01 mg/100L (mínimo) a 191,60 mg/100L (máximo). Além disso, 50% dos alambiques produziram cachaças com acidez total entre 52,12 mg/100L e 177,00 mg/100L (amplitude interquartílica). Observou-se também que os valores médio e mediano da acidez total das cachaças analisadas foram de 115,36 mg/100L e 116,25 mg/100L, respectivamente.

Em relação à acidez fixa, verificou-se uma variação de 4,63 (mínimo) a 50,54 (máximo). Vale ressaltar que, 75% dos alambiques acusaram acidez fixa acima de 12,95 (1º quartil). Salienta-se também que o valor médio das cachaças para acidez fixa foi de 25,86, com mediana de 24,95 (Figura 2e).

Figura 2 - *Boxplots* da composição das cachaças e suas respectivas medidas descritivas para acidez total (d), acidez fixa (e) e acidez volátil (f)



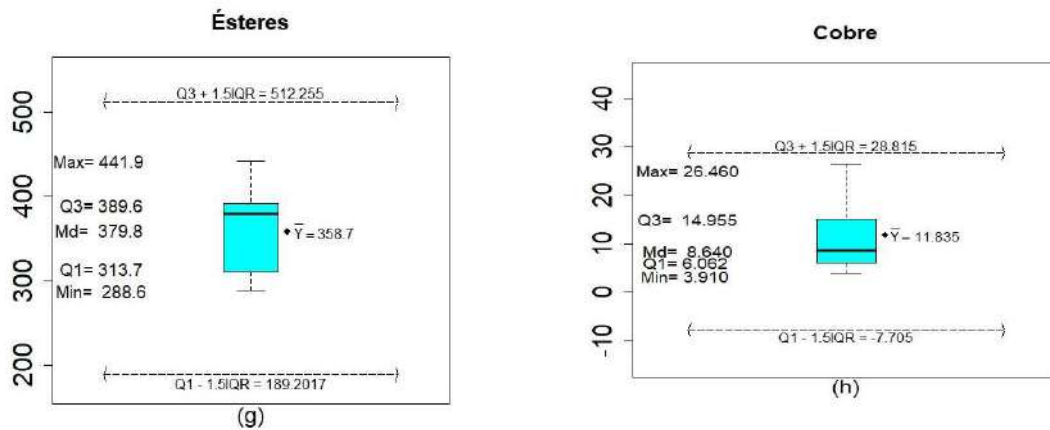
Fonte: Dos autores, 2019.

Nota: Mín = mínimo; Q1 = 1º quartil; Md = mediana, \bar{Y} = média; Q3 = 3º quartil e Máx = máximo. Os valores que estão fora do intervalo Q1 - 1.5 IQR e Q3 + 1.5IQR são considerados *outliers* e precisam ser analisados com cuidado, em que IQR é a distância interquartílica (Q3 - Q1).

Para acidez volátil, as cachaças analisadas apresentaram uma variação de 57,29 mg/100L (mínimo) a 305,29 mg/100L (máximo). Notou-se que, 50% dos alambiques produziram cachaça com acidez total de 70,35 e 288,17 mg/100L (amplitude interquartílica). O valor médio da acidez volátil

das cachaças foi 185,21 mg/100L. Já a mediana da acidez volátil foi 208,06 mg/100L, mostrando que houve uma assimetria à esquerda para os dados deste parâmetro.

Figura 3 - *Boxplots* da composição das cachaças e suas respectivas medidas descritivas ésteres (g) e cobre (h)



Fonte: Dos autores, 2019.

Nota: Mín = mínimo; Q1 = 1º quartil; Md = mediana, \bar{Y} = média; Q3 = 3º quartil e Máx = máximo. Os valores que estão fora do intervalo Q1 - 1.5 IQR e Q3 + 1.5IQR são considerados *outliers* e precisam ser analisados com cuidado, em que IQR é a distância interquartilica (Q3 - Q1).

Em relação às medidas referentes aos ésteres, Figura 3g, nota-se a variação de 288,60 mg/100mL (mínimo) a 441,9 mg/100mL (máximo). Além disso, 75% dos alambiques apresentaram ésteres abaixo de 313,7 mg/100mL (1º quartil). Vale ressaltar que o valor médio de ésteres na cachaça foi de 358,7 mg/100mL e que 50% (mediana) dos alambiques apresentaram ésteres de 379,8 mg/100mL, mostrando que houve uma assimetria à esquerda.

A Figura 3h apresenta as medidas descritivas para cobre, sendo possível notar que houve variação de 3,91 mg/L (mínimo) a 26,46 mg/L (máximo). Notou-se que, 75% dos alambiques apresentaram o valor de cobre nas cachaças avaliadas acima de 6,06 mg/L (1º quartil). Vale salientar que as cachaças apresentaram um valor um médio 11,83 mg/L e que 50% (mediana) dos alambiques apresentaram valores de cobre de 8,64 mg/L, mostrando que houve uma assimetria à esquerda.

Conclusão

O presente estudo averiguou os parâmetros relacionados à qualidade das cachaças de cana-de-açúcar de acordo com a legislação. Os resultados mostraram que, dos dez alambiques estudados, quatro estavam dentro do padrão definido para cachaça (38%-48%v/v), enquanto seis foram classificados como aguardente de cana (38%-54% v/v).

Em relação a acidez volátil, quatro estavam conforme o permitido pela legislação e seis apresentaram valores superiores ao valor estabelecido. Para o parâmetro ésteres todas as amostras estavam fora do padrão exigido pela legislação vigente. Em relação ao cobre, apenas um alambique estava dentro do padrão. Já para os valores de pH, densidade, acidez total e fixa, não existem valores na legislação para estes parâmetros.

O estudo, mostrou que as cachaças produzidas na Região do Sertão Produtivo Baiano, no município de Caetité-BA, possuem composição variável, com alterações no processo produtivo, influenciados pela condução do processo fermentativo, a destilação, o ponto de corte, dentre outros.

Deste modo, ainda se faz necessário a realização de estudos e pesquisas voltados para obtenção de dados que caracterizem os produtores da Região do Sertão Produtivo Baiano, capacitem os mesmos para o gerenciamento das atividades dos alambiques e obtenção de cachaças dentro dos parâmetros, que são pertinentes a legislação, além de estudo mais aprofundado sobre os componentes orgânicos e inorgânicos presentes em cachaças.

Referências

AQUINO, F. W. B. *et al.* Determinação de marcadores de envelhecimento em cachaças. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1. 2006.

AZEVEDO, A. M. *et al.* Levantamento da contaminação por cobre nas aguardentes de cana-de-açúcar produzidas em Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 3, p. 618-624, 2003.

BARCELOS, L. V. F. **Teores de carbamato de etila e outros componentes secundários em diferentes aguardentes produzidas em Minas Gerais**. 2006. 63f.- Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

BORGES, C. A. **Avaliação da qualidade de cachaças do estado da Bahia**. 2011. 65 fl. Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB. Campus de Itapetinga, Itapetinga, BA, 2011.

BRASIL. **Instrução normativa nº 13, de 29 de junho de 2005**. Dispõe sobre o Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para aguardente de cana e para cachaça. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 jun. 2015. Seção 1, p.3-4. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-13-de-29-de-junho-de-2005.pdf/view>. Acesso em: 05 de fevereiro de 2021.

CARDELLO, H. M. A.B.; FARIA, J. B. Modificações físico-químicas e sensoriais de aguardente de cana durante o envelhecimento em tonel de carvalho (*Quercus alba* L.) **Boletim Ceppa**, Curitiba, v. 15, n. 2, p. 87-100, jul./dez.1997.

CARDOSO, M. das G. **Produção de aguardente**. Lavras: UFLA, 2013. p. 340.

CAVALCANTE, S. S. **Determinação das características físico-químicas da cachaça de alambique produzidas e comercializadas na Paraíba**. 2017. 35 p. Trabalho de Conclusão de curso (Graduação em Ciências Agrárias) Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Humanas e Agrárias, 2017.

DIAS, S. M. B. C. O processo da destilação. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3. ed. ampl. e ver. Lavras: Editora UFLA, 2013. p. 104-150.

DOHERTY, W. O. S.; RACKEMANN, D. W. Some aspects of calcium phosphate chemistry in sugarcane clarification. **International Sugar Journal**, London, v.111, p. 448-455, 2009.

FRANÇA, N.; SÁ O. R.; FIORINI, J. E. Avaliação da qualidade da cachaça artesanal produzidas no município de Passos (MG), **Ciência et Praxis** v. 4, n. 7, 2011.

GONÇALVES, C. M. **Avaliação das Boas Práticas de Fabricação da Cachaça de Alambiques no Estado da Bahia como Porte para Desenvolvimento Biotecnológico dos Processos Produtivos da Bebida**. 2009. 174f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2009.

IBGE INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Região de Influência das Cidades**, 2018. Rio de Janeiro: IBGE, 2018. 201 p. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ba/caetite/panorama> . Acesso em: 10 fevereiro de 2019.

INMETRO INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Portaria nº 126, de 2005**. Regulamento de avaliação da conformidade da cachaça. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/legislacao/rtac/pdf/RTAC000955.pdf>. Acesso em: 06 junho de 2019.

INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Métodos Físico-químicos para análise de Alimentos**. 4 ed. São Paulo, 2008.

MAIA, A. B. R. A., CAMPELO, E. A. P. **Tecnologia da cachaça de alambique**. SEBRAE/MG; SINDBEBIDAS – Belo Horizonte – MG, 2006, 129. P.:il.

MUTTON, M. A., MUTTON, M. J. Aguardente In: Filho, W.G.V. (Coord.). **Tecnologia de Bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. Ed. Edgard Blucher, São Paulo, 2005.

MUTTON, M. A., MUTTON, M. J. Aguardente In: Filho, W.G.V. (Coord.). **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia** Ed. Blucher, São Paulo, 2010.

NOGUEIRA, A. M. P.; VENTURINI FILHO, WALDEMAR G. V. **Aguardente de cana**. Botucatu: UNESP, 2005.

R CORE TEAM (2018). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Disponível em: <https://www.R-project.org> . Acesso em 10 de junho de 2019.



SANTANA, D. A. **Análise de compostos fenólicos e atividade antioxidante em cachaças baianas.** 162 p. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia). Salvador, outubro de 2014.

SCANAVINI, H. F. A.; CERIANI, R.; MEIRELLES, A. J. A. Cachaça distillation investigated on the basis of model systems. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 429-440, apr./jun. 2012.

SCHWAN, R. F.; DIAS, D. R.; DIAS, W. R. Fermentação. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana.** 3.ed. amp. e rev. Lavras: Editora UFLA, 2013. p. 80-101. 2013

SERAFIM, F. A. *et al.* Ácidos orgânicos em aguardentes produzidas em alambique e em coluna. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 28-32, 2011.

VEIGA, J. F. Equipamentos para produção e controle de operação da fábrica de cachaça. In: CARDOSO, M.G. (ed.) **Produção de aguardente de cana.** 2º ed. Editora UFLA – Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2006, p. 68-100.

VOLPE, T. C. **Avaliação das Características Físico-Químicas da Cachaça Industrial E Artesanal Comercializadas No Centro Norte Paranaense.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação Bacharel em Engenharia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão-Paraná, p. 66, 2013.

WINDHOLZ, M. (Ed.). **The merck index** Rahway: Merck, 1976.



13 Capítulo

Influência da marca
e embalagem de
sorvetes na aceitação e
na intenção de compra
dos consumidores

Capítulo 13

Influência da marca e embalagem de sorvetes na aceitação e na intenção de compra dos consumidores

Jesilaine Aparecida Vargas¹; Tatielle Aparecida de Carvalho Rodrigues¹; Lara Aguiar Borges²; Juliana Pinto de Lima³; Gerson de Freitas Silva Valente⁴; Rejiane Avelar Bastos*⁴

Resumo

Existe uma grande diversificação no mercado de sorvetes no Brasil, principalmente devido à criação de empresas regionais. Estas, podem enfrentar a falta de competitividade no mercado com as grandes marcas, em virtude da baixa qualidade dos seus produtos, embalagens e rótulos. Nesse sentido, uma das formas de reverter esse cenário é estudar o comportamento dos consumidores em relação aos produtos, embalagens e rótulos dessas empresas, visando identificar os problemas e propor melhorias. Sendo assim, objetivou-se com este trabalho verificar a influência da marca, da embalagem e das informações contidas nos rótulos na aceitação sensorial de diferentes marcas de sorvete. Para tal, foi realizada uma pesquisa de mercado e, posteriormente, foram estudadas quatro marcas (AG, BG, CR e DR), as quais foram avaliadas em três etapas de testes de aceitação e intenção de compra: teste cego, teste com embalagem e teste com informação. De uma forma geral, verificou-se que as quatro marcas de sorvete apresentaram boa aceitação no teste cego e de informação. A marca DR não mostrou qualquer influência na resposta dos consumidores ao se realizar uma comparação entre as médias de aceitação e intenção de compra das três sessões. As notas para as marcas AG e BG mudaram para uma posição mais alta, à medida que se fornecia informação ao consumidor acerca das amostras. Desta forma, pode-se concluir que a marca e a embalagem são fortes contribuintes na hora da compra de um produto, pois podem impactar de forma positiva ou negativa na avaliação dos consumidores.

Palavras-chave: Características não sensoriais. Escala hedônica. Gelados comestíveis.

¹Tecnólogas em Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais - *Campus Barbacena*.

²Mestranda em Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

³Docente do Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais - *Campus Montes Claros*.

⁴Docentes do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais - *Campus Barbacena*.

*Autor para correspondência: rejiane.bastos@ifsudestemg.edu.br

Introdução

O sorvete é um delicioso produto lácteo congelado amplamente consumido em diferentes partes do mundo, devido ao seu sabor agradável e *mouthfeel* (SARWAR *et al.*, 2021). Este alimento é caracterizado como um sistema coloidal complexo constituído por proteínas, gordura cristalizada e água, ar, minerais, açúcares e aditivos (FEYZI *et al.*, 2020; KALEDA *et al.*, 2018). É importante destacar, ainda, que a legislação brasileira trata o sorvete como gelado comestível, o qual é definido como “o produto congelado obtido a partir de uma emulsão de gorduras e proteínas, podendo ser adicionados de outro(s) ingrediente(s) desde que não descaracterize(m) o produto” (BRASIL, 2005).

O consumo de sorvete no Brasil, cuja a média por pessoa é de 5,4 L/ano, ainda é pequeno em comparação a outros países, segundo a Associação Brasileira das Indústrias e do Setor de Sorvete (ABIS, 2021a). A Nova Zelândia, por exemplo, é o país que mais consome o produto (28,3 L *per capita*/ano), já os Estados Unidos, são 20,8 L (ABIS, 2021a). No Brasil, o mercado de sorvetes movimenta acima de R\$ 13 bilhões, sendo representado por mais de 10.000 fabricantes, os quais 92% são micro e pequenas empresas (ABIS, 2021b). Além disso, o consumo *per capita* de sorvete em 2019 esteve na faixa de 5,29 L, superando os valores dos anos anteriores (ABIS, 2021b). Dessa forma, esses dados podem indicar um crescimento no consumo de sorvetes, refletindo em novas oportunidades para que os estabelecimentos ofereçam produtos atrativos, diferenciados e de qualidade (COELHO *et al.*, 2020), despertando, assim, o interesse do consumidor no momento da escolha e compra desse produto alimentício.

É importante salientar que os atributos sensoriais (como por exemplo, cor, sabor, odor, aparência, textura, dentre outros) não são os únicos fatores responsáveis pela seleção e aceitação de um alimento. Os consumidores também fazem uso de outros recursos a fim de fazer seus julgamentos e decidir quando escolher, consumir e apreciar determinados produtos (DELLA LUCIA *et al.*, 2014). Tais informações são chamadas de características não sensoriais, muitas vezes presentes na embalagem ou relacionados aos conceitos relativos ao consumidor (DELLA LUCIA *et al.*, 2014; CHUNG *et al.*, 2012). Assim, os consumidores são também influenciados por informações extrínsecas relacionadas ao produto, tais como a marca, embalagem ou rótulo (DELLA LUCIA *et al.*, 2014).

A marca é um conjunto de atributos (nome, símbolos, desenhos, forma) que uma empresa utiliza para poder se diferenciar dos seus concorrentes de mercado (ROCHA; OLIVEIRA, 2017). A embalagem, por sua vez, é tão importante que pode ser toda a razão para a existência de uma marca,

porque comunica a identidade da mesma, atrai a atenção em contextos comerciais, além de posicionar o produto dentro de uma categoria concreta (GÓMEZ; MARTÍN-CONSUEGRA; MOLINA, 2015). Nesse contexto, vários autores demonstraram a importância da marca e embalagem para entender as expectativas dos consumidores e a relevância destes elementos na intenção de compra (DI CICCIO *et al.*, 2021; EBERLE *et al.*, 2019; FREITAS; SILVA; DELLA LUCIA, 2020; LOPES; RODRIGUES; ARAÚJO, 2018; SOUSA; CARVALHO; PEREIRA, 2020).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo estudar a influência da marca e da embalagem na aceitação sensorial e intenção de compra de diferentes marcas de sorvete comercializadas na cidade de Barbacena - MG.

Material e Métodos

Pesquisa de mercado

A avaliação da percepção e preferência dos consumidores em relação ao sorvete foi realizada por meio de uma pesquisa de mercado após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CAAE: 57113116.3.0000.5588). Realizou-se uma pesquisa quantitativa, por meio de entrevistas pessoais com consumidores residentes na cidade de Barbacena, Minas Gerais, Brasil. As entrevistas foram conduzidas em diferentes locais de comercialização de sorvetes, como supermercados, padarias e lanchonetes, em diferentes dias e horários, por meio de um questionário estruturado. A amostragem (385 indivíduos) foi calculada por meio da fórmula para cálculo de tamanho de amostras para populações infinitas e com variância desconhecida, de acordo com Malhotra (2001), utilizando-se intervalo de confiança de 95% e erro amostral de 5%.

Amostras

Para escolha das marcas, tamanho de embalagem e sabor alvo do estudo, foram utilizados os dados obtidos na pesquisa de mercado, realizada com consumidores residentes em Barbacena – MG. Para tal, fez-se uma avaliação da percepção e preferência dos consumidores em relação ao produto, investigando os locais de compra de sorvetes, maneira de compra, tamanho das embalagens de sorvete preferidas pelos consumidores, sabor de sorvete consumido, marca de sorvete mais consumida, dentre outros. A partir dos resultados (dados não apresentados), foram escolhidos sorvetes industrializados sabor chocolate, em embalagem de 1,5 L de quatro marcas

diferentes. As marcas de empresas líderes foram codificadas como AG e BG e as outras duas marcas regionais foram codificadas como CR e DR.

Testes afetivos

O recrutamento dos provadores foi realizado juntamente com a pesquisa de mercado. De acordo com as respostas obtidas, foram selecionadas pessoas para participar dos testes de aceitação e de intenção de compra, as quais consomem sorvete pelo menos uma vez por mês e tenham hábitos de ler rótulos durante a compra e de realizar compras de produtos alimentícios.

Os testes afetivos foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais - *Campus Barbacena*, em três sessões distintas. As avaliações foram realizadas em cabines individuais sob luz branca, sendo as amostras servidas de forma aleatória e monádica (FREITAS; SILVA; DELLA LUCIA, 2020). O teste de aceitação do produto e da embalagem foi realizado por meio de uma escala hedônica de 9 pontos, variando de “desgostei extremamente” (1) a “gostei extremamente” (9) (MINIM, 2018). Já para o teste de intenção de compra, utilizou-se uma escala hedônica de cinco pontos com variação de “com certeza não compraria” (1) a “com certeza compraria” (5) (MINIM, 2018).

Na primeira sessão, os julgadores avaliaram as amostras devidamente codificadas com números de três dígitos (teste cego), ou seja, os provadores não sabiam informações sobre qual marca de sorvete estava em avaliação. Já na segunda sessão os consumidores avaliaram as embalagens dos sorvetes (teste embalagem). Por fim, na terceira sessão (teste com informação) as amostras de sorvete foram avaliadas juntamente com as suas respectivas embalagens.

Análise estatística

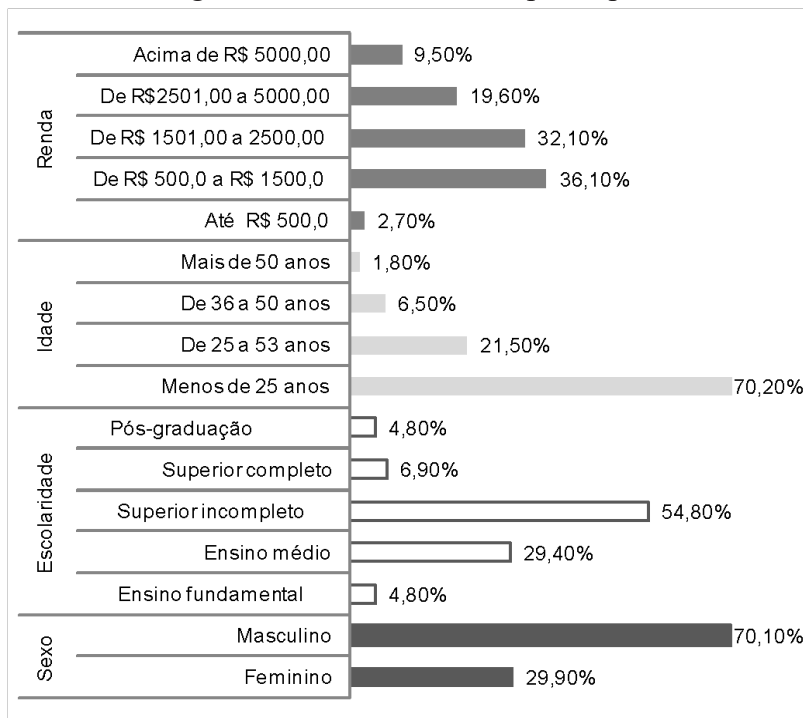
A análise de variância (ANOVA) foi aplicada e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, ao se estudar as marcas dentro de cada sessão (teste cego e teste com informação) e no estudo comparativo da aceitação das amostras entre as sessões. Todas as análises estatísticas foram feitas utilizando o *software* estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2009).



Resultados e Discussão

Conforme se observa na Figura 1, 70,1% dos participantes deste estudo são de sexo feminino e 29,9% do sexo masculino. A maioria apresentou idade menor que 25 anos (70,2%) e com nível superior incompleto (54,8%). Quanto à renda familiar mensal, 36,1% dos entrevistados afirmaram ter renda entre R\$ 500,00 a R\$ 1500,00 e 32,1% afirmaram possuir renda familiar mensal de R\$ 1501,00 a R\$ 2500,00.

Figura 1 - Perfil demográfico dos consumidores participantes do estudo

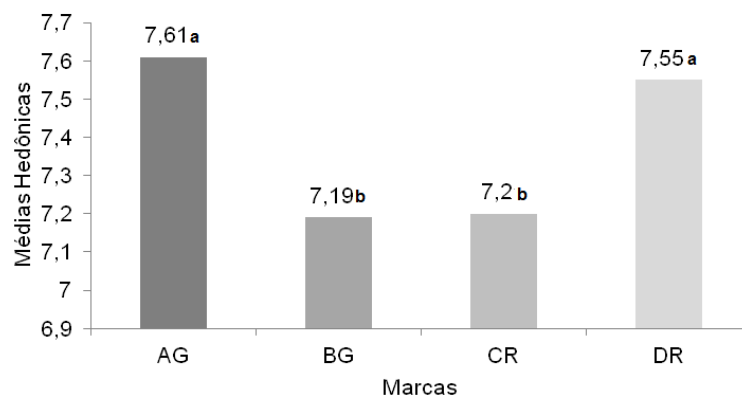


Fonte: Dos autores, 2021.

Conforme ilustrado na Figura 2, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias de aceitação das marcas quando estas foram avaliadas no teste cego. Em geral, as quatro marcas apresentaram boa aceitação, com escores entre 7,19 (marca BG) e 7,61 (marca AG), situando-se entre os termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei muito”. Os sorvetes das marcas AG e DR foram mais aceitos que as marcas BG e CR, pois constatou-se que as médias de aceitação destas marcas foram significativamente superiores ($p < 0,05$) às demais médias. De acordo com os resultados obtidos, pode-se verificar que a marca DR, mesmo sendo uma marca regional, apresentou aceitação estatisticamente igual ($p > 0,05$) a marca AG e superior ($p < 0,05$) a marca BG, as quais são líderes do setor de gelados comestíveis. Estes resultados mostram uma boa

aceitação da marca regional em relação a grandes marcas já consolidadas. De acordo com o Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE, 2017), as empresas regionais se adaptam melhor ao mercado e conseguem lançar novos produtos mais rapidamente do que as grandes empresas concorrentes do referido setor, sendo uma vantagem competitiva.

Figura 2 - Médias de aceitação para as marcas de sorvete líderes (AG e BG) e regionais (CR e DR) testadas no teste cego



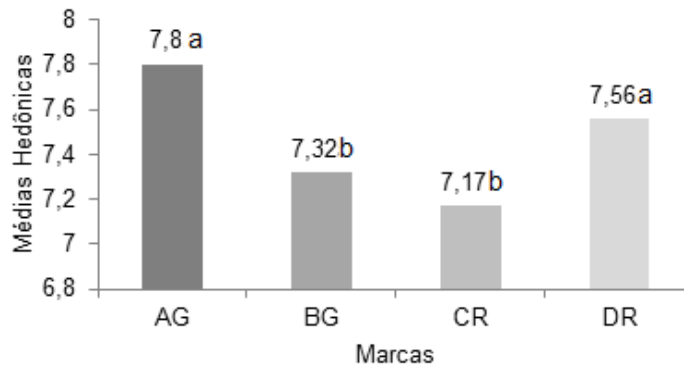
Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: Médias hedônicas: 1 – desgostei extremamente, 2 – desgostei muitíssimo, 3 – desgostei moderadamente, 4 – desgostei levemente, 5 – não gostei nem desgostei, 6 – gostei levemente, 7 – gostei moderadamente, 8 – gostei muitíssimo, 9 – gostei extremamente. Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-knott ($p > 0,05$).

Como pode ser observado na Figura 3, no teste com informação, o qual avaliou a influência da embalagem, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras em relação a aceitação. As médias variaram entre 7,17 (marca CR) e 7,8 (marca AG), situando-se entre os termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei muito”. Da mesma maneira que no teste cego, as médias de aceitação dos sorvetes das marcas AG e DR não diferiram entre si ($p > 0,05$), porém foram significativamente superiores ($p < 0,05$) às médias de aceitação dos sorvetes das marcas BG e CR (Figura 3).

A Figura 4 representa um paralelo entre as médias de aceitação das três sessões para as quatro marcas de sorvete. As médias obtidas no teste cego, teste da embalagem e teste com informação para os sorvetes marcas BG e DR não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), ou seja, a marca e a embalagem não influenciaram na aceitação do produto, isso mostra a familiaridade dos consumidores com os sorvetes destas marcas.

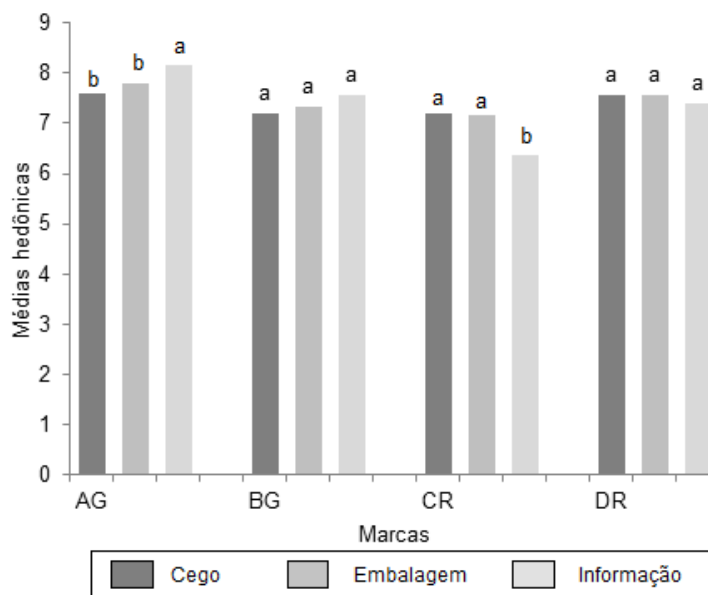
Figura 3 - Médias de aceitação para as marcas de sorvete líderes (AG e BG) e regionais (CR e DR) testadas no teste com informação



Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: Médias hedônicas: 1 – desgostei extremamente, 2 – desgostei muitíssimo, 3 – desgostei moderadamente, 4 – desgostei levemente, 5 – não gostei nem desgostei, 6 – gostei levemente, 7 – gostei moderadamente, 8 – gostei muitíssimo, 9 – gostei extremamente. Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-knott ($p > 0,05$).

Figura 4 - Médias de aceitação para as marcas de sorvete líderes (AG e BG) e regionais (CR e DR) testadas nas sessões 1 (teste cego), 2 (teste da embalagem) e 3 (teste com informação)



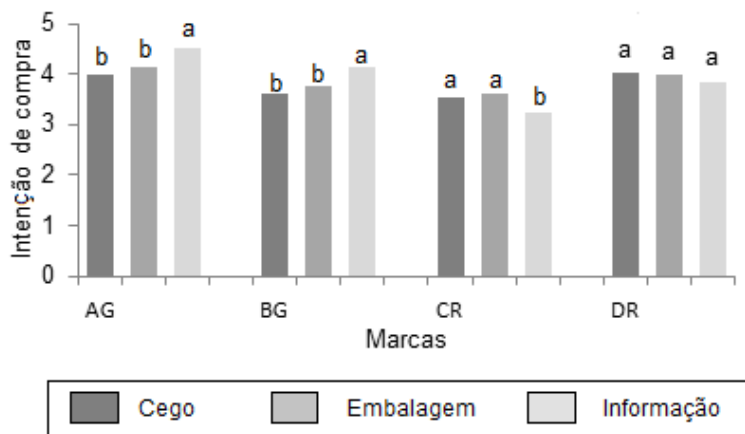
Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: Médias hedônicas: 1 – desgostei extremamente, 2 – desgostei muitíssimo, 3 – desgostei moderadamente, 4 – desgostei levemente, 5 – não gostei nem desgostei, 6 – gostei levemente, 7 – gostei moderadamente, 8 – gostei muitíssimo, 9 – gostei extremamente. Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-knott ($p > 0,05$).

A Figura 5 representa um paralelo entre as notas de intenção de compra das três sessões para as quatro marcas de sorvete. Comparando as médias obtidas de intenção de compra, pode-se observar que para o sorvete da marca DR, não houve diferença significativa das médias obtidas nas

três sessões ($p > 0,05$). Entretanto para o sorvete da marca BG, as médias obtidas no teste com informação foi significativamente maior ($p < 0,05$) que nos testes cego e com embalagem, ou seja, a marca influenciou de forma positiva na intenção de compra pelos consumidores. Isto muito provavelmente pode estar associado ao fato de que o sorvete da marca BG corresponde a uma grande marca do mercado, a qual deve estar consolidada no mesmo.

Figura 5 - Médias de intenção de compra para as marcas de sorvete líderes (AG e BG) e regionais (CR e DR) testadas nas sessões 1 (teste cego), 2 (teste da embalagem) e 3 (teste com informação)



Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: Médias hedônicas: 1 – desgostei extremamente, 2 – desgostei muitíssimo, 3 – desgostei moderadamente, 4 – desgostei levemente, 5 – não gostei nem desgostei, 6 – gostei levemente, 7 – gostei moderadamente, 8 – gostei muitíssimo, 9 – gostei extremamente. Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-knott ($p > 0,05$).

A marca AG obteve maior aceitação e notas de intenção de compra ($p < 0,05$) no teste com informação, em relação ao teste cego e da embalagem (Figura 4 e 5), ou seja, a informação do nome da marca influenciou na aceitação dos consumidores de forma positiva. É interessante perceber que quando a marca é anunciada, a mesma gera uma alteração nas respostas dos consumidores para determinadas amostras, especialmente se as mesmas forem bastante conhecidas nacionalmente, como a marca AG. Comportamento semelhante foi reportado por Ribeiro *et al.* (2008) ao avaliarem a influência da embalagem na aceitação de marcas de cervejas comerciais brasileiras tipo Pilsen. Estes autores mencionaram que as notas para as marcas de cerveja mudaram para uma posição mais alta, à medida que se fornecia informação ao consumidor sobre as amostras.

O valor da marca é caracterizado por um conjunto de recursos que adicionam ou subtraem o valor a um produto, podendo ajudar o cliente a processar, interpretar e acumular informações, bem como afetar a confiança do mesmo na decisão de compra (AAKER, 1998). Isso confirma o fato de que as características não sensoriais, como a marca, podem exercer uma influência nas avaliações dos consumidores, conforme reportado em inúmeros estudos (DELLA LUCIA *et al.*, 2014; EBERLE *et al.*, 2019; FREITAS; SILVA; DELLA LUCIA, 2020; LOPES; RODRIGUES, ARAÚJO, 2018; PINTO *et al.*, 2017; TORRES-MORENO *et al.*, 2012).

A marca CR (Figura 4 e 5) obteve menor aceitação e nota de intenção de compra no teste com informação em relação ao teste com a embalagem e teste cego ($p < 0,05$), isso indica que a marca influenciou na aceitação do produto de forma negativa. Segundo Freitas, Silva e Della Lucia (2020), isto sugere que um investimento nas estratégias de *marketing* e propaganda destes produtos pode fortalecer a marca perante o público estudado, principalmente se a mesma já é percebida pelo consumidor como tendo boa qualidade sensorial. Dentro das estratégias de *marketing*, o incentivo ao crescimento e desenvolvimento da marca é crucial para o sucesso do mercado, pois o entendimento da mesma tende a expressar maior confiança ao consumidor (RIBEIRO *et al.*, 2008).

A embalagem pode levar o consumidor a comprar o produto, gerando expectativas em relação ao mesmo. Esse elemento comunicativo ajuda os consumidores a decidirem qual item escolher, capturando sua atenção e convencendo-os de que contém o produto que melhor atende às suas necessidades (GIL-PÉREZ; REBOLLAR; LIDÓN, 2020). No presente estudo, verificou-se que ocorreu uma confirmação da expectativa gerada pela embalagem de todos os sorvetes das marcas estudadas, uma vez que as médias obtidas no teste da embalagem foram estatisticamente iguais ($p > 0,05$) às médias obtidas no teste cego. Este é um ponto positivo, pois a embalagem pode induzir o consumidor a adquirir a mercadoria, enquanto os atributos sensoriais confirmam a preferência e podem determinar a reincidência na compra (MURRAY; DELAHUNTY, 2000).

Vários autores têm ressaltado a importância da embalagem de produtos alimentícios nas expectativas dos consumidores e sua relevância para as decisões de compra. Olesen e Giacalone (2018) ao investigarem a influência do *design* da embalagem na percepção dos consumidores sobre a qualidade de cenouras frescas, concluíram que uma embalagem transparente que permitisse aos consumidores inspecionarem o produto foi o aspecto mais importante. Ademais, Di Cicco *et al.* (2021) ao investigarem como a percepção visual da suculência de uma laranja mostrada na embalagem do suco de laranja afeta as propriedades inferidas do produto, constataram que a percepção visual dos alimentos deve ser integrado ao processo de *design* da embalagem. Por sua vez, Martin, Lange e Murette (2021) ao estudarem a possibilidade de alterar as preferências do

consumidor em relação a produtos *plant-based*, evidenciaram que a embalagem induziu um aumento significativo nas preferências de compra para estes alimentos.

Conclusão

As quatro marcas de sorvete apresentaram boa aceitação no teste cego e de informação. A marca e a embalagem influenciaram na aceitação e comportamento do consumidor, evidenciando que esses elementos são fortes contribuintes no momento da compra de um produto. Apesar do fato de que no setor de sorvetes existam grandes marcas, as quais são responsáveis por maior faturamento do setor, existem marcas regionais bem estabelecidas no mercado que as mesmas atendem. Entretanto, é fundamental que os produtores regionais de sorvete utilizem estratégias para tornar suas marcas conhecidas e sólidas no mercado, tais como investimentos na melhoria da qualidade tanto do produto quanto das embalagens, bem como investir em propagandas e *marketing*.

Agradecimentos

Agradecemos o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais (IF Sudeste MG), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

AAKER, D. A. **Marcas: *Brand equity*** gerenciando o valor da marca. São Paulo: Negócio Editora, 1998.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS E DO SETOR DE SORVETES (ABIS). **Mercado de sorvetes quer surpreender o consumidor e impulsionar as vendas**. 2021a. Disponível em: <<https://abis.com.br/mercado-de-sorvetes-quer-surpreender-o-consumidor-e-impulsionar-as-vendas/>>. Acesso em: 17 julho 2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS E DO SETOR DE SORVETES (ABIS). **Mercado**. 2021b. Disponível em: <<https://www.abis.com.br/mercado/>>. Acesso em: 26 maio 2021.



BRASIL. Resolução-RDC nº 266, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para Gelados Comestíveis e Preparados para Gelados Comestíveis. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, de 22 de setembro de 2005.

CHUNG, L. *et al.* Comparing the liking for Korean style salad dressings and beverages between US and Korean consumers: Effects of sensory and non-sensory factors. **Food Quality and Preference**, v. 26, p. 105-118, 2012.

COELHO, R. R. P. *et al.* Elaboração e avaliação sensorial de sorvete de cajá-manga. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 20002-20011, 2020.

DELLA LUCIA, S. M. *et al.* Use of relative risk test to evaluate the influence of the brand on beer acceptability. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 267-276, 2014.

DI CICCIO, F. *et al.* A juicy orange makes for a tastier juice: The neglected role of visual material perception in packaging design. **Food Quality and Preference**, v. 88, 104086, 2021.

EBERLE, L. E. *et al.* Um estudo sobre determinantes da intenção de compra de alimentos orgânicos. **Revista de Gestão Social e Ambiental**, v. 13, n. 1, p. 94-111, 2019.

FEYZI, S. *et al.* A study on aroma release and perception of saffron ice cream using in-vitro and in-vivo approaches. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 65, 102455, 2020.

FREITAS, L. S.; SILVA, B. P.; DELLA LUCIA, C. M. Influência da embalagem na intenção de compra do consumidor de suco de laranja industrializado. **Revista da Associação Brasileira de Nutrição**, v. 11, n. 1, p. 128-141, 2020.

GIL-PÉREZ, I.; REBOLLAR, R.; LIDÓN, I. Without words: the effects of packaging imagery on consumer perception and response. **Current Opinion in Food Science**, v. 33, p. 69-77, 2020.

GÓMEZ, M.; MARTÍN-CONSUEGRA, D.; MOLINA, A. The importance of packaging in purchase and usage behaviour. **International Journal of Consumer Studies**, v. 39, n. 3, p. 203-211, 2015.

KALEDA, A. *et al.* Ice cream structure modification by ice-binding proteins. **Food Chemistry**, v. 246, p. 164-171, 2018.

LOPES, M. M. T.; RODRIGUES, M. C. P.; ARAÚJO, A. M. S. Influence of Expectation Measure on the Sensory Acceptance of *Petit Suisse* Product. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 3, p. 798-803, 2018.

MALHOTRA, N. **Pesquisa de marketing: uma orientação aplicada**. 3.ed. Porto Alegre: Bookman, 2001. 719p.

MARTIN, C.; LANGE, C.; MARETTE, S. Importance of additional information, as a complement to information coming from packaging, to promote meat substitutes: A case study on a sausage based on vegetable proteins. **Food Quality and Preference**, v. 87, 104058, 2021.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 4. ed. Viçosa: Editora UFV, 2018.



MURRAY, J. M.; DELAHUNTY, C. M. Mapping consumer preference for the sensory and packaging attributes of Cheddar cheese. **Food Quality and Preference**, v. 11, p. 419-435, 2000.

OLESEN, S. N.; GIACALONE, D. The influence of packaging on consumers' quality perception of carrots. **Journal of Sensory Studies**, v. 33, n. 1, e12310, 2018.

PINTO, V. R. A. *et al.* Influence of package and health-related claims on perception and sensory acceptability of snack bars. **Food Research International**, v. 101, p. 103-113, 2017.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2009.

RIBEIRO, M. M. *et al.* Influência da embalagem na aceitação de diferentes marcas comerciais de cerveja tipo Pilsen. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 2, p. 395-399, 2008.

ROCHA, M.; OLIVEIRA, S. L. I. **Gestão Estratégica de Marcas**. 1. ed. São Paulo: Saraiva, 2017.

SARWAR, A. *et al.* Characterization of synbiotic ice cream made with probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 in combination with inulin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 141, 110910, 2021.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS (SEBRAE). **Como se destacar no mercado de sorvetes**. 2017. Disponível em: <<https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/como-se-destacar-no-mercado-de-sorvetes,a49d99a5a995b510VgnVCM1000004c00210aRCRD>>. Acesso em: 26 maio 2021.

SOUSA, M. M. M.; CARVALHO, F. M.; PEREIRA, R. G. F. A. Colour and shape of design elements of the packaging labels influence consumer expectations and hedonic judgments of specialty coffee. **Food Quality and Preference**, v. 83, 103902, 2020.

TORRES-MORENO, M. *et al.* Influence of label information on dark chocolate acceptability. **Appetite**, v. 58, p. 665-671, 2012.



14 Capítulo

Quantificação dos
compostos bioativos
da casca e polpa
dos frutos de pitayas
de polpa branca
e vermelha

Capítulo 14

Quantificação dos compostos bioativos da casca e polpa dos frutos de pitayas de polpa branca e vermelha

Vander Rocha Lacerda*¹; Andres Felipe Gaona Acevedo¹; Juliana Aparecida dos Santos¹;
Rogério Lopes Vieites²

Resumo

A pitaya é uma fruta que vem conquistando o mercado devido a sua alta aceitação pelos consumidores e seus benefícios para a saúde. Objetivou-se quantificar e comparar os compostos bioativos e atividade antioxidante da casca e polpa dos frutos de pitaya de casca vermelha com polpa branca e pitaya de casca vermelha com polpa vermelha. Os frutos foram colhidos em pomar comercial localizado no município de Presidente Prudente-SP, e em seguida transportados para o Departamento de Produção Vegetal da FCA-UNESP Botucatu. Após, foram armazenados em câmara fria no Departamento de Horticultura, onde foram realizadas as análises bioquímicas da casca e polpa dos frutos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2, sendo duas espécies de frutos, de casca vermelha e polpa branca e casca vermelha e polpa vermelha e avaliação de duas partes dos frutos separadamente, casca e polpa. Com exceção da casca e polpa da pitaya branca, houve diferença significativa para todos os parâmetros avaliados. A pitaya de casca vermelha e polpa vermelha contém mais compostos bioativos e atividade antioxidante que a pitaya de casca vermelha e polpa branca. Esses compostos estão cerca de 200 a 300% mais concentrados na casca em comparação com a polpa. As correlações foram todas significativas, com ênfase para os flavonoides, que com o aumento destes, aumentou-se a atividade antioxidante ($r= 0,850$). O mesmo ocorreu para as betalaínas, porém de forma menos expressiva ($r= 0,613$). Também houve correlação positiva entre betalaínas e flavonoides ($r= 0,902$).

Palavras-chave: Antioxidantes. Betalaínas. Metabolismo secundário. Pós-colheita.

¹Aluno(a) de Doutorado em Agronomia Horticultura, Departamento de Produção Vegetal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP campus Botucatu.

²Professor Dr., Departamento de Produção Vegetal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP campus Botucatu.

* E-mail para correspondência: vander.rocha@unesp.br

Introdução

A pitaya é uma fruta tropical de cactos colunares hemiepífitos. Possui florescência noturna, hábito variado, sendo seu fruto conhecido por vários nomes comerciais e nativos, sendo os mais comuns mundialmente, ‘pitahaya’ ou ‘dragon fruit (fruta do dragão)’ (ORTIZ-HERNÁNDEZ; CARRILLO-SALAZAR, 2012) e no Brasil, pitaya (DE MENEZES *et al.*, 2015). A pitaya pertence à família Cactaceae, com diversas espécies, sendo agrupados em quatro gêneros principais: *Cereus* (MILL), *Selenicereus* (BERGER A.) Riccob, *Hylocereus* (BRITTON; ROSE, 1963) e *Stenocereus* (BRITTON; ROSE, 1963; MIZRAHI; NERD; NOBEL, 1997).

Essas espécies mais cultivadas podem ser diferenciadas pelas cores da casca e polpa (NERD; GUTMAN; MIZRAHI, 1999): casca vermelha e polpa branca [*Hylocereus undatus* (Haworth) Britton e Rose e *Hylocereus trigonus* (Haw.) Saff.]; casca vermelha e polpa vermelha [*Hylocereus purpusii* (Weing.) Britton e Rose, *Hylocereus costaricensis* (Weber) Britton e Rose e *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton e Rose]; casca amarela e polpa branca [*Hylocereus megalanthus* (K. Schumann ex Vaupel) Ralf Bauer] (LE BELLEC; VAILLANT; IMBERT, 2006); e também a pitaya-do-cerrado ou pitaya saborosa, casca vermelho escuro e polpa branca [*Selenicereus setaceus* (RIZZ)].

Tem como origem as regiões de florestas tropicais do México, América Central e América do Sul, posteriormente foi introduzida nos demais continentes (FLORA OF CHINA, 2015; GLOBAL COMPENDIUM, 2015). Também há espécies de ocorrência em áreas de Cerrado e acredita-se que o Brasil seja um dos centros de origens das pitayas. Outras espécies como a *Hylocereus polyrhizus* foram introduzidas, como também a espécie *Selenicereus setaceus*, (JUNQUEIRA *et al.*, 2002). A espécie *Hylocereus undatus* passou a ser cultivada na década de 1990, no estado de São Paulo (NUNES *et al.*, 2014).

A pitaya vermelha de polpa branca (*Hylocereus undatus*) é uma das espécies mais cultivadas no Brasil, e vem despertando grande interesse por parte dos produtores por sua alta capacidade produtiva e pela grande aceitação no mercado de exportação, proporcionando ganhos econômicos altamente compensatórios, além de constituir uma excelente fonte de nutrientes. O interior do estado de São Paulo apresenta características climáticas favoráveis à implantação da cultura de pitaya, o que já vem ocorrendo, com bons resultados (FERNANDES, 2011).

Nos últimos anos aumentou exponencialmente as pesquisas com conjuntos de diferentes ensaios baseados em diferentes mecanismos, incluindo conteúdo fenólico total, conteúdo total de flavonoides, conteúdo total de, 2, 2'-difetil-1-picrilhidrazil (DPPH) ensaio de eliminação de radicais

livres, para estimar o conteúdo de compostos fenólicos em frutas e mapear seu potencial antioxidante (YANG; DUNSHEA; SULERIA, 2020; SULERIA; BARROW; DUNSHEA, 2020).

Esses componentes do metabolismo secundário das plantas, geralmente não são recuperados de cascas e, portanto, fornecem uma fonte futura de ingredientes antioxidantes valiosos que podem ser industrializados. Presentes na pitaya, os compostos fenólicos e compostos nitrogenados são um grande grupo de metabólitos secundários comumente presentes em diversas outras frutas e vegetais, que desempenham um papel proeminente na saúde humana e nutrição. Essas porções fenólicas têm alta atividade antioxidante que previne a formação de radicais livres. Os polifenóis mais abundantes em diferentes cascas de frutas incluem flavan-3-ols, flavonóis, ácidos fenólicos e hidroquinonas (SULERIA; BARROW; DUNSHEA, 2020).

Objetivou-se quantificar e comparar os compostos bioativos e atividade antioxidante da casca e polpa dos frutos de pitaya de casca vermelha com polpa branca e pitaya de casca vermelha com polpa vermelha.

Material e Métodos

Os frutos de pitaya de casca vermelha de polpa branca variedade Branca Comum (*Hylocereus undatus* Haw.) e pitaya de casca vermelha de polpa vermelha variedade Vermelha Costa Rica “Roxa do Pará” (*Hylocereus polyrhizus* Weber) (Figura 1), foram colhidos pela manhã em um pomar comercial localizado no município de Presidente Prudente, no estado de São Paulo, Brasil (latitude 22°3'21,24" S, longitude 51°21'35,16" W e 477,6 m de altitude). A colheita foi realizada no período entre o 34° e 38° dia após a antese floral, considerado entre os dias adequados para colheita, quanto à coloração, aparência e composição físico-química, segundo Magalhães *et al.* (2019). Os frutos foram acondicionados em caixas plásticas “hortifrúti” e transportados para o laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças do Departamento de Horticultura da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp) Faculdade de Ciências Agrônômicas, Campus de Botucatu, SP.

No dia seguinte ao da colheita, os frutos foram selecionados, isentos de injúrias e defeitos, padronizados em relação ao tamanho e coloração, com ausência de danos físicos. Em seguida foram acondicionados em bandejas de poliestireno expandido com dois frutos cada, revestidos e selados com filme de policloreto de vinila (espessura 0,020 mm) e resfriados a 12 ± 1 °C por 24 horas com UR $85 \pm 5\%$, para diminuir o estresse.

As amostras da casca e polpa previamente congeladas no nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -18°C , foram maceradas em nitrogênio líquido com o auxílio de um mixer, grau e pistilo, e armazenadas em tubos de 2 mL (eppendorf).

Os conteúdos de betalainas foram extraídos e medidos seguindo o método de García-Cruz *et al.* (2013), com modificação de Qingzhu *et al.* (2016) e Wybraniec e Mizrahi (2002). Foram maceradas 0,5 g da amostra fresca em pó fino em nitrogênio líquido e extraídas com 5 mL de solução aquosa de metanol a 80% (v/v). As amostras foram mantidas durante 10 minutos em banho ultrassônico (SB25-12DT, Ningbo) e depois agitadas durante 20 min no escuro à temperatura ambiente. Após centrifugação a $2200 \times g$ por 10 min retirou-se o sobrenadante e acondicionou em frasco âmbar. Os resíduos foram submetidos a uma segunda extração. Os compostos bioativos foram medidos através de espectrofotometria (BEL SP 1105).

Figura 1 – Frutos da Pitaya Branca Comum (casca vermelha e polpa branca) e frutos da pitaya Vermelha Costa Rica “Roxa do Pará” (casca vermelha e polpa vermelha)



Fonte: Dos autores, 2021.

Os teores de betalaínas, betacianinas somadas com as betaxantina (mg/100g de polpa fresca), foram calculados pela Equação 1:

$$B = (A 538 \text{ ou } A 483 \times DF \times W \times V \times 100) / (\varepsilon \times P \times L) \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, A 538 nm é a absorbância para betacianinas; A 483 nm é absorbância para betaxantinas; DF é o fator de diluição, W é o peso molecular (550 g/mol para betanina e 308 g/mol para indicaxantina); V é o volume da solução de pigmento (mL); ε é o coeficiente de extinção molar (60.000 L/mol/cm para betanina e 48.000 L/mol/cm para a indicaxantina) e L é o comprimento da célula (1 cm). P é o peso do pigmento fresco (g). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

Os flavonoides foram determinados utilizando um ensaio colorimétrico de acordo com o procedimento de Zhishen, Mengcheng e Jianming (1999). Foram adicionados 0,30 μ L de NaNO₂ (5%), 1 mL de extrato da amostra, 4 mL de água deionizada e deixado em repouso por cinco minutos. Posteriormente foi adicionado 0,3 mL de AlCl₃ (10%) e deixada em repouso durante 5 minutos. Em seguida, 2 mL de NaOH a 1 mol/L foram adicionados a esta solução. As leituras foram realizadas contra o branco em comprimento de onda 510 nm. Os flavonoides totais das amostras da casca e da polpa foram expressos em mg de rutina equivalente por 100 g da amostra fresca (mg RU/100g). Para o cálculo, foi realizado a curva padrão, com concentração variando de zero a 0,2 mg/g de rutina. A equação da curva está demonstrada na Equação 2:

$$y = 0,0008x - 0,0013 \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde, y é a absorbância e x a concentração de rutina. O coeficiente de regressão foi acima de 0,98, indicando curva confiável. Todas as medições foram feitas em triplicata.

O método DPPH (BRAND-WILIAMS; CUVÉLIER; BERSET, 1995) é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, no princípio de que o DPPH sendo um radical estável de coloração violeta escura, aceita um elétron ou um radical hidrogênio para tornar-se uma molécula estável, sendo reduzido na presença de um antioxidante e adquirindo coloração violeta clara (tonalidade amarela). Na forma de radical, o DPPH possui absorção característica a 517 nm, que desaparece à medida que ele vai sendo reduzido pelo hidrogênio doado por um composto antioxidante.

A mistura de reação foi constituída pela adição de 0,5 mL do extrato da amostra, 3,0 mL de acetona 80% e 0,3 mL do radical DPPH diluído em acetona 80%. O branco foi constituído pela adição 3,5 mL de acetona 80% e 0,3 mL do radical DPPH diluído em acetona 80%. Ambos foram incubados por 45 minutos, em temperatura ambiente e protegido da luz. Foi realizada a curva de calibração para a obtenção da equação da reta, Equação 3:

$$y = 16,065x - 6,0671 \quad (\text{Eq. 3})$$

Sendo as concentrações de DPPH variando de dez a 60 μM no eixo X e as respectivas absorvâncias no eixo Y. O coeficiente de regressão foi de 0,9947. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de DPPH reduzido, através da Equação 4:

$$\% \text{ DPPH reduzido} = \frac{(A \text{ Branco} - A \text{ Amostra})}{A \text{ Branco}} \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2, sendo duas espécies de frutos, de casca vermelha e polpa branca e casca vermelha e polpa vermelha e avaliação de duas partes dos frutos separadamente, casca e polpa.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk. Com todos os dados normais, estes foram submetidos à análise de variância (Two-Way ANOVA), e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Os resultados foram apresentados em médias com desvio padrão (média \pm DP). Correlações lineares foram aplicadas entre as variáveis, e o coeficiente de correlação de Pearson (r) foi obtido, considerando correlações significativas com $p < 0,05$. Foi utilizado o software estatístico GraphPad Prism versão 8.0.1 (San Diego, CA, EUA).

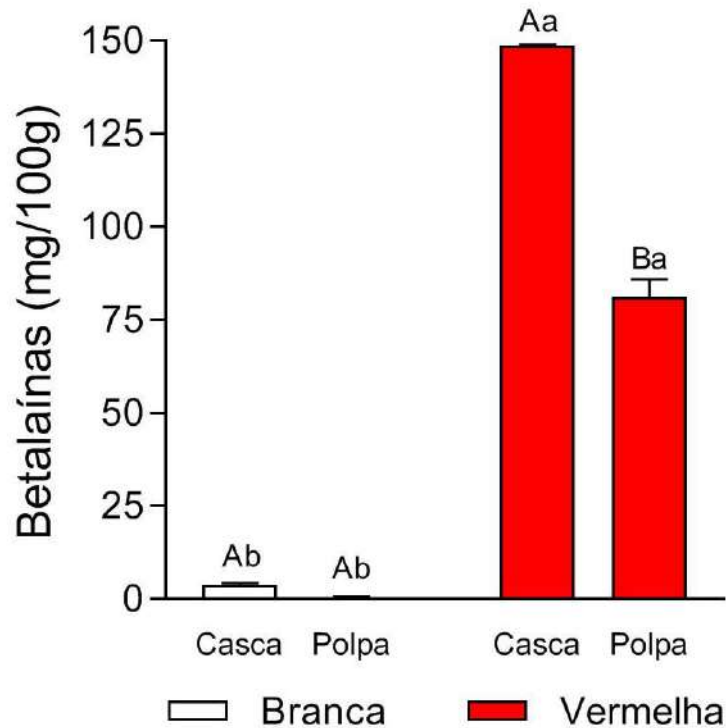
Resultados e Discussão

Para betalaínas (Figura 2) foi observado diferença significativa entre a pitaya branca e a vermelha, evidenciando maior conteúdo de betalaína na casca que na polpa da pitaya vermelha. Entre a casca e a polpa da pitaya branca não houve diferença significativa. O conteúdo de betalaína na pitaya branca é significativamente inferior comparado a vermelha, principalmente na casca e quase inexistente na polpa.

Suh *et al.* (2014) estudaram o perfil do metabolito de Pitayas vermelhas e brancas (*Hylocereus polyrhizus* e *Hylocereus undatus*) para comparar a biossíntese de betalaínas (betacianinas e betaxantinas) e a atividade antioxidante. Os autores observaram que a maioria das betacianinas identificadas por análise UPLC foram mais numerosas na casca de ambas as espécies de pitaya do que na polpa. Os dados sugeriram que há correlações positivas entre flavonoides, metabólitos relacionados à betalaína e a atividade antioxidante. Além disso, os conteúdos relativos dos metabólitos primários e secundários na via de biossíntese da betalaína também foram explicados. Assim, a análise de metabólitos primários pode ajudar na compreensão da biossíntese de betalaína e dos precursores e explicar as informações de nutrientes em diferentes partes de ambas as espécies de pitaya. A maioria dos metabólitos relacionados à betalaína foram significativamente maiores na casca

do que na polpa das pitayas, corroborando com os resultados do presente estudo na pitaya de casca vermelha com polpa vermelha.

Figura 2 - Betalainas da casca e polpa dos frutos de pitaya com casca vermelha e polpa branca e pitaya de casca vermelha e polpa vermelha



Fonte: Dos autores, 2021.

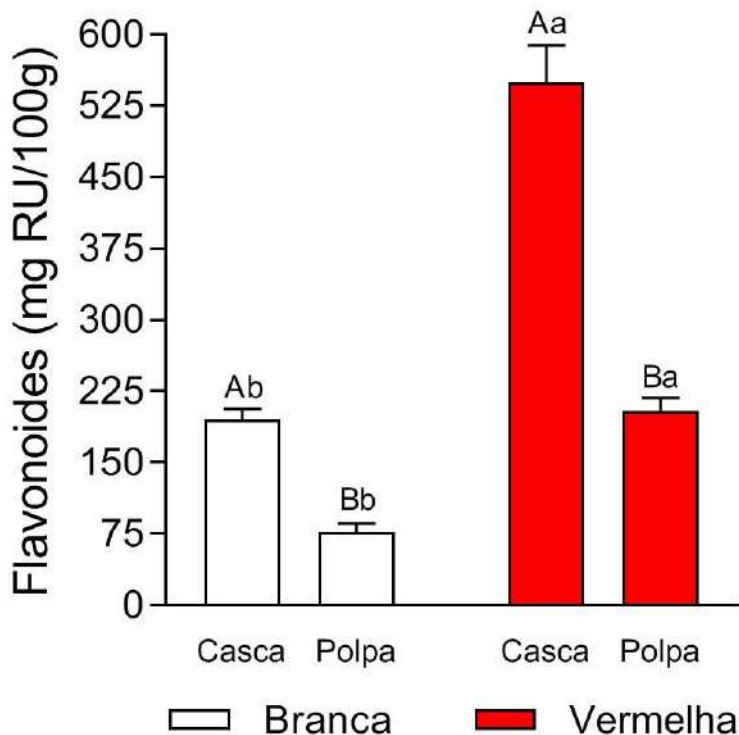
Nota: Médias seguidas da mesma letra maiúscula (comparação entre casca e polpa do mesmo fruto) e da mesma letra minúscula (comparação entre cascas de frutos diferentes e polpa de frutos também diferentes) não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para os flavonoides (Figura 3), houve diferença significativa entre a pitaya branca e a pitaya vermelha, apresentando-se maior conteúdo na pitaya vermelha, principalmente na casca, sendo superior significativamente. Em ambas, há mais flavonoides na casca em comparação com a polpa.

Hua *et al.* (2018) investigaram os perfis metabólicos de três cultivares de pitaya com diferentes cores de polpa durante a maturação dos frutos. Na fase madura, as menores concentrações de flavonoides foram observadas na casca e na polpa da variedade Guanhuabai (casca vermelha com polpa branca), corroborando com este trabalho. Para as três cultivares, os níveis de flavonoides na casca foram maiores do que na polpa no estágio maduro. Esses autores concluíram que a casca de Pitaya tem quantidade superior do que a polpa como fonte de betalainas, flavonoides e fenóis.

Lin *et al.* (2021) avaliando os perfis metabólicos de diferentes espécies de pitaya, observaram que os flavonoides exibiram padrões específicos de tecido de abundância de íons, visto que essa classe de metabólitos foi enriquecida nos tecidos da casca em comparação com os tecidos da polpa.

Figura 3 - Flavonoides da casca e polpa dos frutos de pitaya com casca vermelha e polpa branca e pitaya de casca vermelha e polpa vermelha



Fonte: Dos autores, 2021.

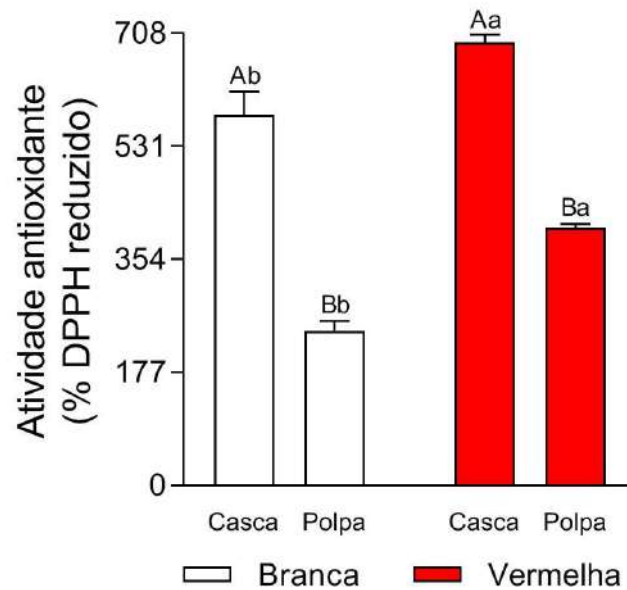
Nota: Médias seguidas da mesma letra maiúscula (comparação entre casca e polpa do mesmo fruto) e da mesma letra minúscula (comparação entre cascas de frutos diferentes e polpa de frutos também diferentes) não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Hua *et al.* (2016) caracterizando frutos de pitaya de diferentes cultivares na China, observou 1 mg/g de rutina na casca e 0,6 mg/g de rutina na polpa de pitaya vermelha de polpa branca, diferindo aos resultados deste presente trabalho, uma vez que foi observado maiores valores na polpa.

A atividade antioxidante (Figura 4) foi significativamente diferente para cada fator, e houve interação entre os fatores, tanto para a casca como para a polpa. Para pitaya branca e vermelha se evidencia atividade antioxidante, observando que a casca apresenta maiores valores que a polpa. Podendo corroborar que a pitaya vermelha apresenta melhor capacidade antioxidante que a pitaya branca.

Foi observado na casca, aproximadamente o dobro de atividade antioxidante da polpa, diferindo com os resultados de Kim *et al.* (2011), uma vez que estes autores observaram o contrário ao caracterizar diferentes espécies de pitaya na Coreia do Sul, com 68% de antioxidante total na casca e 24% na polpa da pitaya vermelha de polpa branca (*Hylocereus undatus*).

Figura 4 – Atividade antioxidante da casca e polpa dos frutos de pitaya com casca vermelha e polpa branca e pitaya de casca vermelha e polpa vermelha



Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: Médias seguidas da mesma letra maiúscula (comparação entre casca e polpa do mesmo fruto) e da mesma letra minúscula (comparação entre cascas de frutos diferentes e polpa de frutos também diferentes) não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

As correlações (Tabela 1) foram significativas, com ênfase para os flavonoides ($p= 0,150$), que com a presença destes, aumentou-se o valor da correlação com a atividade antioxidante. A correlação da atividade antioxidante com as betalaínas resultou de forma menos expressiva ($p= 0,387$) se comparada aos flavonoides.

A atividade antioxidante mais forte dos flavonoides em comparação com as betalaínas provavelmente resultou do maior teor de flavonoides observados nos frutos. Estudos anteriores identificaram uma relação positiva entre os compostos fenólicos, grupo a qual estão os flavonoides, e a atividade sequestradora de radicais livres do DPPH (HUANG *et al.*, 2002; ASMAH *et al.*, 2008).

Em diversos estudos, foram observadas correlações entre betalaínas e sua capacidade de eliminação de radicais. As propriedades de eliminação de radicais das betalaínas aumentam com o

número de grupos hidroxila, que pode variar com a origem e genética dos frutos (GANDÍA-HERRERO *et al.*, 2013; ESATBEYOGLU *et al.*, 2015).

Também houve alta correlação positiva entre betalaínas e flavonoides ($p=0,098$). Certamente, as ativações do metabolismo secundário desses vegetais atuaram paralelamente em ambas rotas metabólicas para biossíntese desses compostos bioativos. Os resultados indicam que esses metabólitos secundários apresentam papel importante como agentes antioxidantes.

Tabela 1 - Correlações entre as variáveis atividade antioxidante, betalaínas e flavonoides dos frutos de pitaya de casca vermelha e polpa branca e de casca vermelha e polpa vermelha

	Atividade antioxidante	Flavonoides
Betalaínas	0,6135**	0,9023**
Flavonoides	0,8500**	-

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: ns Não significativo; *Significativo a $p < 0.05$; **Significativo a $p < 0.01$.

Suh *et al.* (2014) observaram que os resultados do teste de atividade antioxidante (DPPH), flavonoides e betalaínas também mostraram maiores teores de metabólitos na casca do que na polpa de pitayas. Como resultado, os metabólitos relacionados à betalaína foram sugeridos como os principais contribuintes para a atividade antioxidante em amostras de pitaya.

Conclusão

Os compostos bioativos (betalaínas e flavonoides) e atividade antioxidante da casca e polpa das pitayas de polpa branca e vermelha foram quantificados e comparados. Na casca e polpa da pitaya de casca vermelha com polpa vermelha contém mais compostos bioativos e atividade antioxidante em relação a casca e polpa da pitaya de casca vermelha com polpa branca. Com exceção de betalaínas na pitaya de casca vermelha com polpa branca, os compostos bioativos e atividade antioxidante estão mais concentrados na casca, em comparação com a polpa individualmente de cada espécie analisada. A pitaya, principalmente a vermelha, deve ser considerada como uma fonte promissora de potencial para utilização como matéria-prima na prevenção de doenças, portanto é necessário realizar estudos de extração, isolamento, bioacessibilidade e biodisponibilidade desses compostos bioativos.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Referências

- ASMAH, R. *et al.* Free radical scavenging activity of two *Hylocereus species* (Cactaceae) and their effect on the proliferation of HeLa and MDA-MB-231 cancer cell lines. **Planta medica**, v. 74, n. 09, p. PA5, 2008.
- BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.
- BRITTON, N. L.; ROSE, J. N. Descriptions and illustrations of plants of the cactus family. Vol. I and II. **Dover Publications Inc.**, New York, USA, p. 183-195, 1963.
- DE MENEZES, T. P. *et al.* Características físicas e físico-químicas de pitaya vermelha durante a maturação. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 631- 643, 2015.
- ESATBEYOGLU, T. *et al.* Betanin - A food colorant with biological activity. **Molecular nutrition & food research**, v. 59, n. 1, p. 36-47, 2015.
- FERNANDES, L. M. S. **Conservação frigorificada de pitaya orgânica irradiada**. 2011. 108f. Tese (Doutorado em Agronomia Horticultura) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu-SP, 2011.
- FLORA OF CHINA. Editorial Committee: Flora of China. St. Louis, Missouri and Cambridge, Massachusetts, USA: **Missouri Botanical Garden and Harvard University Herbaria**, 2015. Disponível em <https://www.missouribotanicalgarden.org/media/fact-pages/flora-of-china.aspx>. Acesso em: 13 jan. 2020.
- GANDÍA-HERRERO, F. *et al.* Encapsulation of the most potent antioxidant betalains in edible matrixes as powders of different colors. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 18, p. 4294-4302, 2013.
- GARCÍA-CRUZ, L. *et al.* Physical, chemical, and antioxidant activity characterization of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruits. **Plant foods for human nutrition**, v. 68, n. 4, p. 403-410, 2013.
- GLOBAL COMPENDIUM OF WEEDS. ***Hylocereus undatus* (Cactaceae)**, 2015. Disponível em http://www.hear.org/gcw/species/hylocereus_undatus/. Acesso em: 13 jan. 2020.
- HUA, Q. *et al.* Metabolomic characterization of pitaya fruit from three red-skinned cultivars with different pulp colors. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 126, n. 3, p. 117-125, 2018.



HUA, Q. *et al.* Transcriptomic analysis reveals key genes related to betalain biosynthesis in pulp coloration of *Hylocereus polyrhizus*. **Frontiers in plant science**, v. 6, n. 2, p. 1179, 2016.

HUANG, X. *et al.* Ferrous ion autoxidation and its chelation in iron-loaded human liver HepG2 cells. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 32, n. 1, p. 84-92, 2002.

JUNQUEIRA, K. P. *et al.* Informações preliminares sobre uma pitaya (*Selenicereus setaceus* Rizz) nativa do Cerrado. Planaltina: **EMBRAPA**, 18p. (Documentos, 62). 2002. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/566991/1/doc62.pdf>.

KIM, H. *et al.* Comparative antioxidant and antiproliferative activities of red and white pitayas and their correlation with flavonoid and polyphenol content. **Journal of food science**, v. 76, n. 1, p. C38-C45, 2011.

LE BELLEC, F.; VAILLANT, F.; IMBERT, E. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): A new fruit crop, a market with a future. **Fruits**, v. 61, n. 4, p. 237-250, 2006.

LIN, X. E. *et al.* Comparative Metabolic Profiling in Pulp and Peel of Green and Red Pitayas (*Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus*) Reveals Potential Valorization in the Pharmaceutical and Food Industries. **BioMed research international**, v. 2021, 2021.

MAGALHÃES, D. S. *et al.* Physical and physicochemical modifications of white-fleshed pitaya throughout its development. **Scientia horticulturae**, v. 243, p. 537-543, 2019.

MIZRAHI Y.; NERD, A.; NOBEL, P.S. Cacti as crop. **Horticultural Reviews**, v. 18, p. 291-320, 1997.

NERD, A.; GUTMAN, F.; MIZRAHI, Y. Ripening and postharvest behaviour of fruits of two *Hylocereus species* (Cactaceae). **Postharvest Biology and Technology**, v. 17, n. 1, p. 39-45, 1999.

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

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D.; CARRILLO-SALAZAR, J. A. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a short review. **Comunicata Scientiae**, v. 3, n. 4, p. 220-237, 2012.

QINGZHU, H. *et al.* Transcriptomic analysis reveals key genes related to betalain biosynthesis in pulp coloration of *Hylocereus polyrhizus*. **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 1179, 2016.

SUH, D. H. *et al.* Metabolite profiling of red and white pitayas (*Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus*) for comparing betalain biosynthesis and antioxidant activity. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 34, p. 8764-8771, 2014.

SULERIA, H. A., BARROW, C. J., DUNSHEA, F. R. Screening and characterization of phenolic compounds and their antioxidant capacity in different fruit peels. **Foods**, v. 9, n. 9, p. 1206, 2020

WYBRANIEC, S., MIZRAHI, Y. Fruit flesh betacyanin pigments in *Hylocereus cacti*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 6086-6089, 2002.

YANG, D., DUNSHEA, F. R., SULERIA, H. A. LC-ESI-QTOF/MS characterization of Australian herb and spices (garlic, ginger, and onion) and potential antioxidant activity. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 7, p. e14497, 2020.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999.



15 Capítulo

Condições de produção
e perfil da qualidade
de gelados comestíveis
produzidos e
comercializados em
Cuiabá, MT

Capítulo 15

Condições de produção e perfil da qualidade de gelados comestíveis produzidos e comercializados em Cuiabá, MT

Thamme dos Santos Clini Iaworski¹; Jonatã Henrique Rezende-de-Souza*²; Túlio Henrique Batista da Silva²; Danilo Florisvaldo Brugnera¹; Luciana Kimie Savay-da-Silva*¹

Resumo

Gelados comestíveis são bem consumidos no Brasil, principalmente em épocas quentes, sendo inserido na alimentação principalmente como sobremesa, por ser um alimento refrescante, mesmo podendo conter alta concentração de calorias, açúcares e gorduras, condições essas indesejáveis pelos consumidores. Com isso, o nicho comercial vem mudando a fim de acompanhar os desejos dos consumidores. Logo, objetivou-se compreender as etapas de produção de gelados comestíveis de abacaxi comercializados em Cuiabá-MT, bem como avaliar seus parâmetros de qualidade. Para isso, por meio de visitas *in locu* em dois estabelecimentos produtores de gelados comestíveis, um artesanal e outro industrial, foi possível desenvolver fluxograma de processo, análise de custo e comparação do perfil nutricional. Com três potes de 2 L de diferentes lotes de cada estabelecimento visitado, foram realizadas análises microbiológicas (*Salmonella* spp., Estafilococos coagulase positiva e coliformes termotolerantes) e sensoriais (teste de aceitação e intenção de compra). Os resultados da sensorial foram submetidos à análise de variância e teste Tukey. Foi verificado que em grande parte, as etapas de produção são similares, no entanto os gelados comestíveis produzidos de forma artesanal (R\$ 7,94) possuem valores acima dos fabricados industrialmente (R\$ 2,86). No que se refere ao perfil nutricional, o gelado comestível industrial foi mais calórico, devido a adição de gordura na formulação. Os parâmetros microbiológicos não diferenciaram entre as amostras, entretanto, àquelas de produção industrial tiveram maior aceitação significativa, com exceção do aroma. Logo, os processos de produção e os custos operacionais são diferentes, sendo influenciados principalmente pela lista de ingredientes dos produtos, no entanto, as diferenças das composições e dos processos afetam diretamente a preferência sensorial do gelado comestível industrial em relação ao artesanal, devido a maior incorporação de ar a massa, o que por consequência, influencia positivamente na melhoria da textura durante o consumo.

Palavras-chave: Ingredientes. Processamento de alimentos. Satisfação do consumidor. Sorbet.

¹ Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Mato Grosso.

² Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

* E-mail para correspondência: jonatarezendesouza@gmail.com; lukimie@gmail.com

Introdução

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2005), os gelados comestíveis são definidos como produtos alimentícios obtidos a partir de uma emulsão de gorduras e proteínas, com ou sem adição de outros ingredientes e substâncias, ou de uma mistura de água, açúcares e outros ingredientes e substâncias. Os produtos devem ser obtidos, processados, embalados, armazenados, transportados e conservados em condições que não produzam, desenvolvam e ou agreguem substâncias físicas, químicas ou biológicas que coloquem em risco a saúde do consumidor.

Com relação a sua produção, conforme a Associação Brasileira das Indústrias de Sorvetes – ABIS (2020), o volume de sorvete produzido no Brasil em 2019 foi de 764 milhões de litros, o que classificou o país como o 10º maior produtor desse alimento no mundo. Ademais, o Brasil se destacou como o 11º maior consumidor, com uma média de consumo *per capita* de 5,29 litros. A região sudeste expressou maior destaque nesse quesito, sendo a responsável por 52 % do consumo nacional de sorvete. Por outro lado, o pico de produção e consumo de sorvetes no Brasil se deu em 2014, com valores de 923 milhões de litros produzidos e 6,51 litros de consumo *per capita*.

Essa queda de produção e consumo pode estar relacionada ao tipo de alimento, no qual, de forma geral, apresenta lactose e elevada concentração de energia, açúcares e gordura (CIMM, 2020), e ainda, por esse alimento ser considerado, no Brasil, apenas como uma sobremesa, diferente de outros países, os quais consideram os gelados comestíveis como alimento presente em uma dieta regular (ABIS, 2020). No entanto, mesmo com essa representação de queda de produção e consumo, o mercado nacional de gelados comestíveis vem se mantendo relevante e com grande variedade de opções aos consumidores (PLETSCH *et al.*, 2019).

As principais alternativas do setor produtivo de gelados comestíveis se dão por meio do investimento na formação de parcerias com profissionais da área de alimentos e na criação de novas tecnologias de fabricação desses produtos, vinculando a imagem do alimento a um produto saudável e nutritivo, que pode ser consumido durante todo o ano (YU *et al.*, 2021). Neste contexto, a ciência do comportamento do consumidor apresenta grande relevância, pois leva em consideração não somente aspectos econômicos, mas também são considerados os aspectos sociais e psicológicos dos indivíduos (SILVA, 2012).

Ademais, a composição química do gelado comestível determina não somente a aceitabilidade do produto, mas também afeta vários parâmetros estruturais como firmeza, resistência ao derretimento e textura (GRANGER *et al.*, 2005). Então, torna-se de grande importância que o responsável pela produção saiba reconhecer as características sensoriais e nutricionais desse produto,



e que aplique esse conhecimento em toda a cadeia de produção, armazenamento e distribuição. Esse cuidado irá também impactar diretamente na qualidade microbiológica do produto final, evitando o desenvolvimento de doenças transmitidas por alimentos após o seu consumo (RIZZO, 2004). Diante disso, este estudo teve por objetivo, compreender as etapas de produção de gelados comestíveis de abacaxi comercializados em Cuiabá-MT, bem como avaliar suas qualidades nutricionais, microbiológicas e sensoriais.

Material e Métodos

Elaboração e descrição do fluxograma de produção

Para compreensão do processo industrial de gelados comestíveis de abacaxi, foram realizadas visitas *in locu*, em diferentes estabelecimentos produtores desse alimento, sendo um deles considerado produtor artesanal e o outro considerado como produtor em escala industrial. As empresas localizam-se na cidade de Cuiabá-MT, e as visitas ocorreram durante o mês de fevereiro de 2014. Com base nos dados coletados, foram desenvolvidos fluxogramas de todo o processo de produção de gelados comestíveis de abacaxi, desde a recepção das matérias-primas até a etapa de estocagem.

Foram também coletadas as listas de ingredientes e os dados de custo das matérias-primas utilizadas na fabricação dos produtos, a fim de se mensurar o custo médio de produção dos mesmos. Entretanto, para esses cálculos, não foram utilizados os custos fixos, como, por exemplo, gastos com energia elétrica, água utilizada em limpeza ou no processo produtivo, assim como o pagamento de funcionários.

Coletas das amostras

As amostras foram cedidas pelas próprias empresas, através de parcerias firmadas com esta pesquisa. Ao todo, foram coletadas seis amostras de 2 litros de gelados comestíveis, sabor abacaxi, sendo três produzidas de forma artesanal e outras três amostras produzidas em escala industrial. As amostras coletadas eram provenientes de diferentes lotes e foram transportadas em caixa de isopor com gelox (gelo sintético) até o Laboratório de Técnica Dietética da Faculdade de Nutrição, da Universidade Federal de Mato Grosso, onde foram armazenadas em freezer à -21 °C até o início das análises.



Avaliação da informação nutricional

A avaliação da informação nutricional dos produtos foi realizada através da comparação das suas tabelas nutricionais. Para o produto produzido industrialmente, a tabela nutricional foi fornecida pelo próprio fabricante, enquanto que para o produzido de forma artesanal, que só possui em sua composição dois ingredientes (abacaxi e açúcar), a informação nutricional do produto foi calculada a partir da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO (LIMA *et al.*, 2011) para o abacaxi, e do rótulo da marca do açúcar utilizado pelo fabricante de sorvete.

Avaliação microbiológica

Foram realizadas as análises com base na Instrução Normativa n° 60, de 23 de dezembro de 2019, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2019), sendo elas: detecção de *Salmonella spp.*, enumeração de Estafilococos coagulase positivo e coliformes termotolerantes. As metodologias utilizadas foram aquelas descritas pelo Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água (SILVA *et al.*, 2010), e as análises foram conduzidas em duplicata de cada uma das três repetições de amostras de cada tratamento, no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, alocado na Faculdade de Nutrição, da Universidade Federal de Mato Grosso.

Análise sensorial

A avaliação sensorial das amostras foi conduzida em cabines individuais localizadas no Laboratório de Análise Sensorial, da Faculdade de Nutrição, também alocado na Universidade Federal de Mato Grosso. As amostras foram codificadas com algarismos de três dígitos aleatórios e apresentadas aos provadores em copos plásticos descartáveis. Para condução do experimento, contou-se com a participação de 80 consumidores não treinados.

A análise sensorial seguiu um modelo adaptado de Martins (2013), no qual, inicialmente fez-se um levantamento das informações básicas dos voluntários e, em seguida, realizou-se um teste afetivo quantitativo de aceitação e outro de intenção de compra. Para o teste de aceitação, os atributos avaliados foram “aroma”, “cor”, “acidez”, “sabor” e “aparência global”, sendo essa avaliação realizada através da utilização de uma escala hedônica estruturada, variando de “desgostei muitíssimo” (nota 1) a “gostei muitíssimo” (nota 9). Já para o teste de intenção de compra, utilizou-se uma escala hedônica estruturada variando de “não, com certeza” (nota 1) a “sim, com certeza”



(nota 5). E por fim, foi questionado aos provadores o que eles “mais gostaram” e o que eles “mais desgostaram” nas amostras.

Ressalta-se que este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, da Universidade Federal de Mato Grosso, protocolo CAAE 27011614.2.0000.5541.

Análise estatística

Realizou-se testes estatísticos apenas para os parâmetros sensoriais. Para isso, os dados obtidos no teste de aceitação da análise sensorial e no teste de intenção de compra foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e posteriormente ao teste de *Tukey*, para comparação múltipla das médias ($p < 0,05$), através do programa estatístico SISVAR (versão 5.3).

Resultados e Discussão

Elaboração e descrição do fluxograma de produção

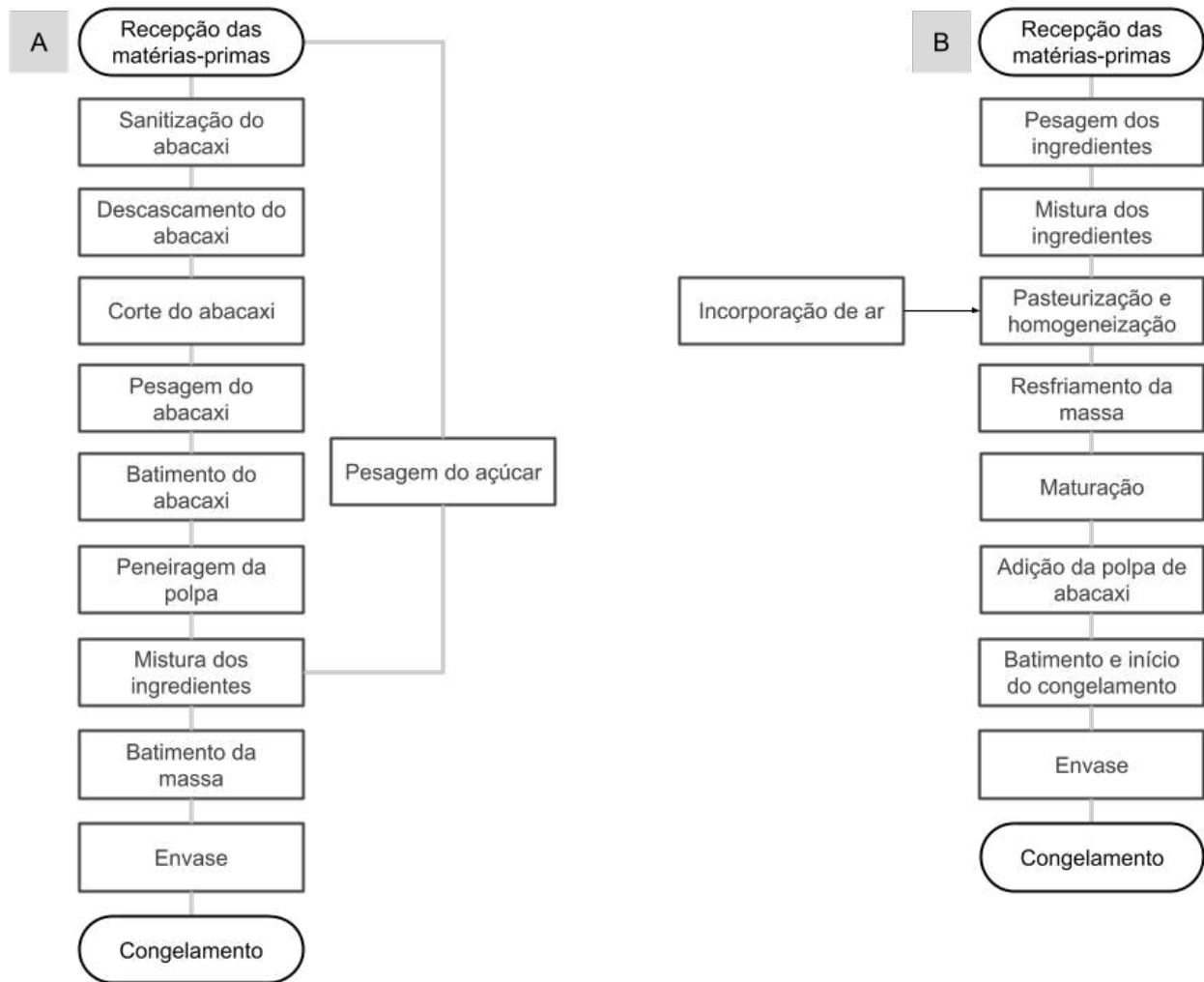
Na Figura 1, observam-se os fluxogramas de produção elaborados para os diferentes gelados comestíveis avaliados.

Para produção do gelado comestível artesanal, são utilizados apenas os ingredientes abacaxi e açúcar, cujas proporções encontram-se na Tabela 1. Após a recepção das matérias-primas, ocorre a sanitização dos abacaxis em água clorada à 1.500 ppm, por 15 minutos. Em seguida, são descascados, cortados e pesados, sendo descartados os amassados ou deteriorados. Posteriormente, os pedaços de abacaxi são homogeneizados em liquidificador e peneirados. O preparado é homogeneizado com açúcar e batido no equipamento durante 30 minutos, a fim de desenvolvimento de estruturação e incorporação de ar à massa, para então ser envasado em potes plásticos de 2 litros e, por fim, serem submetidos ao congelamento à $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Para a elaboração do gelado comestível industrial, os ingredientes utilizados são açúcar cristal, ácido cítrico, água filtrada, aroma de abacaxi em pó, aroma de abacaxi líquido, corante amarelo tartrazina, emulsificante, xarope de glicose desidratado e gordura vegetal hidrogenada. Esses são pesados nas proporções descritas na Tabela 1 e, aqueles em pó são misturados com água, em pasteurizador, para início da formação da massa. Nessa mistura, é aplicado calor para início do processo de pasteurização, e quando a temperatura atinge $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, é acrescentado a gordura e a glicose, de forma a facilitar suas dissoluções e formação de emulsão. Os processos de pasteurização e

homogeneização dos ingredientes são finalizados após 1 hora de aquecimento, o que durante esse tempo, a temperatura da massa atinge 80 °C. Na sequência, inicia-se a etapa de resfriamento, que dura no máximo 2 horas, sendo a temperatura do produto reduzida para 4 °C. A mistura é então mantida à 4 °C durante um período de 4 a 12 horas, sob agitação lenta e constante.

Figura 1 - Fluxograma de produção de gelados comestíveis do tipo artesanal e industrial comercializados em Cuiabá-MT



Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: A: fluxograma de produção artesanal de gelado comestível de abacaxi; B: fluxograma de produção industrial de gelado comestível de abacaxi.

Conforme Walstra *et al.* (2005), essa etapa é chamada de maturação e possui como objetivo permitir a melhor hidratação dos ingredientes secos, promovendo então a intensificação da formação de gel entre o estabilizante com as frações aquosa e oleosa. Esses autores descrevem ainda que nesse momento ocorre a solidificação dos glóbulos de fração lipídica, resultando em ganho de estruturação à massa e contribuindo para maior cremosidade e resistência ao descongelamento e menor sensação

de frio ao gelado comestível. Passado esse período total de maturação, é adicionada à massa, polpa de abacaxi em temperatura ambiente, as quais são misturadas e parcialmente congeladas, formando uma massa de maior volume, contribuindo na posterior leveza no consumo do produto. Por fim, a mistura é envasada e congelada às temperaturas de -25 a -28 °C.

Tabela 1 - Formulação e custo médio dos ingredientes de gelados comestíveis do tipo artesanal e industrial comercializados na cidade de Cuiabá-MT

Ingredientes	Artesanal (2 kg)		Industrial (2 kg)	
	Quantidade (%)	Custo (R\$)	Quantidade (%)	Custo (R\$)
Abacaxi Havaí	75	5,95	0	0
Açúcar cristal	25	1,98	19	0,55
Ácido cítrico	0	0	0,08	0,00*
Água filtrada	0	0	56	1,61
Aroma de abacaxi em pó	0	0	3	0,10
Aroma de abacaxi líquido	0	0	0,04	0,00*
Corante amarelo tartrazina	0	0	0,001	0,00*
Emulsificante	0	0	0,46	0,01
Xarope de glicose desidratado	0	0	6	0,17
Gordura vegetal hidrogenada	0	0	3	0,07
Preparo de abacaxi com pedaços	0	0	12	0,35
Total	100	7,94	100	2,86

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: *: valores ínfimos quando diluídos no custo de obtenção do ingrediente.

Com relação aos custos operacionais básicos para elaboração dos produtos avaliados, verificou-se que para a produção de 2 litros de gelado comestível artesanal, gastou-se quase três vezes mais que o valor calculado para produção da mesma quantidade de produto de forma industrial (Tabela 1). Um dos fatos que explica isso é que na formulação do sorvete industrializado, é acrescido emulsificante. Este ingrediente possui uma capacidade de promoção de emulsão da massa e retenção de ar, o que contribui consideravelmente para o aumento de rendimento e consequente diminuição de custo (BAER; WOLKOW; KASPERSON, 1997; GOFF, 1997; SYED *et al.*, 2018; WARREN; HARTEL, 2018). Este fenômeno é chamado de *overrun*, usualmente definido como o aumento do volume da massa obtida a partir de um volume inicial de calda (WALSTRA *et al.*, 2005). Esta etapa

é regulamentada pela ANVISA, por meio da RDC nº 266, de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005), na qual é definido que a densidade aparente máxima permitida é 475 g/L. Já o gelado comestível artesanal, além de não utilizar este ingrediente no processamento, possui em sua formulação o abacaxi *in natura* que, conforme Daniel *et al.* (2019) e Guimarães *et al.* (2016), no Brasil, essa fruta caracteriza-se como uma matéria-prima de alto custo, além de ser sazonal, o que acaba impactando também em uma diferença de preço dependendo da época do ano.

Avaliação da informação nutricional

A comparação dos resultados das informações nutricionais dos dois tipos de gelados comestíveis estudados, pode ser verificada na Tabela 2.

Tabela 2 - Informação nutricional de gelados comestíveis do tipo artesanal e industrial comercializados na cidade de Cuiabá-MT

Componente	Artesanal (1 bola – 60 g)		Industrial (1 bola – 60 g)	
	Quantidade (g)	VD * (%)	Quantidade (g)	VD * (%)
Valor energético	84 (kcal)	4	111 (kcal)	5
Carboidrato	21	7	15	4
Proteínas	0	1	1	2
Gorduras totais	0	0	4	7
Gorduras saturadas	0	0	2	10
Gordura <i>trans</i>	0	**	0	**
Fibra alimentar	0	2	0	0
Sódio	0	0	0,022	1

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: VD *: valores diários com base em uma dieta de 2.000 kcal; **: valor diário não estabelecido.

Para este estudo, em 1 bola de gelado comestível (60 g), aquele produzido artesanalmente expressou 24% menor valor energético comparado ao produzido industrialmente. Isso se deu devido à composição de ingredientes das formulações, pois naquele produzido de forma artesanal, não houve adição de gordura, como houve no de produção industrial. Sabe-se que o desenvolvimento de gelados comestíveis com teor reduzido em calorias surge como uma interessante alternativa para a produção

mais saudável desses alimentos (YU *et al.*, 2020), sendo esse tipo de produto cada vez mais requerido pelo consumidor atual.

A crescente demanda por um bem-estar alimentar vem aumentando a necessidade de adaptações das indústrias a fornecer alimentos que sejam mais saudáveis aos consumidores, especialmente em relação a sobremesas, que muito das vezes o seu consumo está mais relacionado ao prazer do que a nutrição, com isso, a incorporação de frutas, utilização de ingredientes funcionais, e redução de açúcares, são estratégias promissoras a se adotar na fabricação dos produtos (ITAL, 2020). Conforme Campos *et al.* (2015), vem aumentando por parte dos consumidores a busca por alimentos mais saudáveis, ricos em fibras e com baixo teor de carboidratos e gordura total e saturada, e ainda, baixo em sódio e, se possível, com ausência de aditivos.

Isso pois esses nutrientes estão relacionados ao aumento de sobrepeso na população e com o risco de diversas doenças crônicas (BIDDLE *et al.*, 2010; GODAKANDA; ABEYSENA; LOKUBALASOORIYA, 2018; WHO, 2021), tais como: hipertensão, diabetes, problemas renais, câncer, problemas cardíacos e obesidade (GREGORU; COLEMAN-JENSEN, 2017; VAHEDPARAST; MOHAMMADI; AHMADI, 2016), dentre outros. Com isso, reforça-se a busca por alternativas tecnológicas a fim de garantia das boas características nutricionais de um produto, mesmo esse sendo de baixo custo de produção e baixo valor comercial, e saboroso e conveniente.

Avaliação microbiológica

Os resultados das análises microbiológicas foram satisfatórios para ambos os tipos de produção de gelados comestíveis analisados (Tabela 3), indicando que o preparo desses produtos foi realizado atendendo as normas de Boas Práticas de Fabricação.

Tabela 3 - Condições microbiológicas de gelados comestíveis de abacaxi do tipo artesanal e industrial comercializados na cidade de Cuiabá-MT

Gelado comestível	<i>Salmonella</i> spp.	Estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	Coliformes termotolerantes (NMP/g)
Artesanal	Ausente em 25 g	< 10	< 3
Industrial	Ausente em 25 g	< 10	< 3

Fonte: Dos autores, 2021.

No caso do gelado comestível artesanal, mesmo não sendo pasteurizado, este apresentou a mesma qualidade microbiológica do gelado comestível industrial. Isso pode ser reflexo dos

ingredientes e das etapas de produção, visto que apenas água e fruta sanitizada são utilizadas no processo. Desta maneira, os dois produtos atendem as necessidades do consumidor quanto a segurança alimentar.

Lima *et al.* (2019), avaliaram 51 amostras de gelados comestíveis de 12 diferentes frutas tropicais brasileiras, incluindo o abacaxi, e do total de amostras, foram isoladas 267 leveduras pertencentes a 29 espécies, sendo que deste total, 41 isolados foram resistentes ao menos um antifúngico testado e 16 espécies são patogênicas. Allata, Valero e Benhadja (2017), perceberam uma tendência de diminuição da contagem de micro-organismos aeróbicos e coliformes totais em gelados comestíveis, após a implementação do Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle sob a norma ISSO 22000:2005 em estabelecimento produtora desse alimento, na Argélia.

Esses dados indicam a necessidade de introdução de ferramentas de qualidade em estabelecimentos de produção desse alimento, bem como atualização dos padrões microbiológicos estabelecidos em legislação nacional, para intensificar os critérios básicos relacionados à segurança alimentar.

Avaliação sensorial

Dos 80 consumidores que participaram da pesquisa, 75% eram mulheres e 25% eram homens, ambos com idade média de 24 anos ($\pm 8,07$). No que se refere aos atributos sensoriais avaliados (Tabela 4), percebe-se que as amostras de gelado comestível industrial foram preferidas em relação as amostras de gelado comestível artesanal, com exceção para o atributo de aroma, que não apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) com relação a amostra artesanal.

Mesmo com a busca por alimentos mais saudáveis por parte dos consumidores (CAMPOS *et al.*, 2015; ITAL, 2020), a preferência significativa ($p < 0,05$) de produto industrial foi predominante em relação ao produto artesanal. Isso pode estar relacionado ao tipo de teste sensorial aplicado, sendo este, a cegas. Isso pois, conforme descrito no item de discussão da “Elaboração e Descrição do Fluxograma de Produção”, o gelado comestível industrial possui um ingrediente promotor da melhoria da textura da massa desse alimento, o emulsificante.

O emulsificante é um ingrediente adicionado em proporções de 0,1 a 0,3 g em 100 g do produto, que possui como finalidade, promover a desestabilização parcial da gordura durante o congelamento, devido a ação do estabilizante na redução da tensão superficial dos glóbulos de gordura, proporcionada pela existência de porções hidrofílicas e lipofílicas na mesma molécula, favorecendo assim a coalescência parcial, resultando em um produto final com uma estrutura



desejável (LOFFREDI *et al.*, 2020). De acordo com Amador, Hartel e Rankin (2017), consumidores possuem preferência por gelados comestíveis com maior concentração de emulsificantes, pois isso contribui significativamente na melhoria de parâmetros sensoriais como diminuição da percepção de cristais de gelo e da taxa de derretimento, bem como na melhoria da lubrificação durante o consumo.

Tabela 4 - Valores médios (\pm desvio padrão) das notas atribuídas, pelos participantes da análise sensorial, aos gelados comestíveis de abacaxi do tipo artesanal e industrial, comercializados na cidade de Cuiabá-MT

Gelado comestível	Aroma	Cor	Acidez	Sabor	Aparência Global	Intenção de compra
Artesanal	7,55 ^a (\pm 1,27)	7,30 ^b (\pm 1,28)	6,81 ^b (\pm 1,86)	7,41 ^b (\pm 1,46)	7,50 ^b (\pm 1,18)	3,91 ^b (\pm 0,92)
Industrial	7,35 ^a (\pm 1,39)	7,98 ^a (\pm 1,14)	7,49 ^a (\pm 1,44)	7,86 ^a (\pm 1,27)	7,95 ^a (\pm 1,14)	4,30 ^a (\pm 0,74)
<i>p-valor</i>	0,3435	0,0005	0,0111	0,0388	0,0150	0,0037

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna (comparação entre tratamentos) não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

No que se refere aos termos mais frequentes observados nas respostas dos provadores, destaca-se, para as amostras do gelado comestível artesanal, o termo “sabor natural” da fruta, como sendo o mais citado no que se refere à pergunta “o que mais gostou na amostra”. Por outro lado, o termo “acidez intensa” foi o termo mais citado no que se refere ao que menos os provadores gostaram nessa amostra. Percebe-se que esses termos estão relacionados diretamente ao principal ingrediente da formulação, o abacaxi *in natura*, por essa se tratar de uma fruta cítrica.

Para as amostras de gelado comestível produzido industrialmente, por sua vez, o “sabor da fruta” foi o termo mais citado pelos consumidores, no que se refere ao que eles mais gostaram no produto, e o termo “muito doce” foi aquele mais citado para o que se refere ao que os provadores menos gostaram no produto. Analisando a composição desse produto, verifica-se que além de açúcar (sacarose), o grau de doçura do sorvete é influenciado pelo preparado de abacaxi acrescido no fim do processo de produção.

Conclusão

Os processos de produção e custo básicos dos ingredientes, assim como a informação nutricional e os aspectos sensoriais de gelados comestíveis de abacaxi, produzidos de forma artesanal



e industrial são consideravelmente diferentes, tendo como influência disso, principalmente a lista de ingredientes dos produtos. Em contrapartida, ambos os produtos avaliados apresentaram adequada qualidade microbiológica, demonstrando a importância das Boas Práticas de Fabricação, independentemente do tipo de processo utilizado.

Agradecimentos

Os autores agradecem as empresas doadoras das amostras.

Referências

ABIS - Associação Brasileira das Indústrias de Sorvete. **Mercado**. 2021. Disponível em: <<https://abis.com.br/mercado/>>. Acesso em: 27 maio 2021.

ALLATA, S.; VALERO, A.; BENHADJA, L. Implementation of traceability and food safety systems (HACCP) under the ISO 22000:2005 standard in North Africa: The case study of an ice cream company in Algeria. **Food Control**. v. 79, p. 239-253, 2017. DOI: 10.1016/j.foodcont.2017.04.002

AMADOR, J.; HARTEL, R.; RANKIN, S. The Effects of Fat Structures and Ice Cream Mix Viscosity on Physical and Sensory Properties of Ice Cream. *Journal of Food Science*. v. 82, n. 8, p. 1851-1860, 2017. DOI: 10.1111/1750-3841.13780

BAER, R. J.; WOLKOW, M. D.; KASPERSON, K. M. Effect of emulsifiers on the body and texture of low fat ice cream. **Journal of Dairy Science**. v. 80, p. 2123-3132, 1997. DOI: 0.3168/jds.S0022-0302(97)76283-0

BIDDLE, S. J. *et al.* Tracking of sedentary behaviours of young people: a systematic review. **Preventive Medicine**. v. 51, n. 5, p. 345-351, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Listas de Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2019. Disponível em: <<https://www.cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/202004/17093620-in-anvisa-60-2019.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 266, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para gelados comestíveis. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2005. Disponível em: <http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/res0266_22_09_2005.html>. Acesso em: 05 jan. 2021.



CAMPOS, B. E. *et al.* Optimization of the Mucilage Extraction Process from Chia Seeds and Application in Ice Cream as a Stabilizer and Emulsifier, **LWT**. v. 65, p. 874-883, 2015. DOI: 10.1016/J.LWT.2015.09.021

CIMM - Centro de Informação Mental Mecânica. Indústria de sorvete investe em inovações sustentáveis e produtos diferenciados. 2020. Disponível em: <https://www.cimm.com.br/portal/noticia/exibir_noticia/19311-industria-desorvete-investe-em-inovacoes-sustentaveis-e-produtos-diferenciados>. Acesso em: 13 maio 2021.

DANIEL, D. F. *et al.* Custo de produção e análise econômica do abacaxizeiro cultivar 'Pérola' em Tangará da Serra - MT, Brasil. **Cultura Agrônômica**, v. 28, n. 4, p. 435-451, 2019. DOI: 10.32929/2446-8355.2019v28n4p435-451

GODAKANDA, I.; ABEYSENA, C.; LOKUBALASOORIYA, A. Sedentary behavior during leisure time, physical activity and dietary habits as risk factors of overweight among school children aged 14–15 years: case control study. **BMC Research Notes**. v. 11, n. 186, p. 1-6, 2018. DOI: 10.1186/s13104-018-3292-y

GOFF, H. D. Colloidal aspects of ice cream - A review. **International Dairy Journal**. v. 7, p. 363-373, 1997. DOI: 10.1016/S0958-6946(97)00040-X

GRANGER, C. *et al.* Influence of formulation on the structural networks in ice cream. **International Dairy Journal**, v.15, n. 3, p. 255-262, 2005. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.07.009

GREGORY, C. A.; COLEMAN-JENSEN, A. **Food Insecurity, Chronic Disease, and Health Among Working-Age Adults**. United States Department of Agriculture. 2017. 25p. DOI: 10.22004/ag.econ.261813

GUIMARÃES, L. A. *et al.* Economic analysis and production cost of pineapple: a case study in Tangará da Serra, State of Mato Grosso, Brazil, 2016. **Informações Econômicas**, v. 47, n. 4, p. 42-51, 2017. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/ftp/iea/ie/2017/tec4-1017.pdf>>. Acesso em 12 maio 2021.

ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos. **Indústria de Alimentos 2030: ações transformadoras em valor nutricional dos produtos, sustentabilidade da produção e transparência na comunicação com a sociedade**. 1 ed. Campinas: ITAL/ABIA, 2020. 104p. Disponível em: <<https://ital.agricultura.sp.gov.br/industria-de-alimentos-2030/4/#zoom=z>>. Acesso em: 13 maio 2021.

LIMA, D. M. *et al.* **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO**. 4 ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011. 161p. Disponível em: <<https://www.nepa.unicamp.br/taco/tabela.php?ativo=tabela>>. Acesso em: 13 jan 2021.

LIMA, G. B. L. *et al.* Yeasts isolated from tropical fruit ice creams: diversity, antifungal susceptibility and adherence to buccal epithelial cells. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 22, p. 1-10, 2019. DOI: 10.1590/1981-6723.19718

LOFFREDI, E. *et al.* Effects of different emulsifier substitutes on artisanal ice cream quality. **LWT**. v. 137, p. 110499. 2021. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110499

MARTINS, S. A. *et al.* Elaboração e análise microbiológica, sensorial e físico-química de geleia produzida com diferentes concentrações de polpa e casca de manga. **Revista Connectionline**, n. 10, p. 140-148, 2013. Disponível em: <<http://www.periodicos.univag.com.br/index.php/CONNECTIONLINE/article/view/56>>. Acesso em 01 mar 2021.

PLETSCH, L. B. H. *et al.* Gelado comestível de kefir adicionado de polpa de jaboticaba e morango. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 74, n. 1, p. 39-50. 2019. Disponível em: <<https://www.revistadoilct.com.br/riict/article/view/701>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

RIZZO-BENATO, R. T. **Qualidade microbiológica do leite e do sorvete de massa de uma indústria de pequeno porte do município de Piracicaba**. 2004. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos e água**. São Paulo: Varela, 2010. 632 p.

SILVA, V. M. **Sorvete light com fibra alimentar**: desenvolvimento, caracterização físico-química, reológica e sensoriais. 2012. 169f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

SYED, Q. A. *et al.* Effects of different ingredients on texture of ice cream. **Journal of Nutritional Health & Food Engineering**. v. 8, n. 6, p. 422-435, 2018. DOI: 10.15406/jnhfe.2018.08.00305

VAHEDPARAST, H.; MOHAMMADI, E.; AHMADI, F. From threat to gradual lifestyle changes: Iranians' experiences with chronic illnesses. **International Nursing Review**. v. 64, p. 405-412, 2016. DOI: 10.1111/inr.12319

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. **Dairy Science and Technology**. 2 ed. London: CRC Press, 2005. 808p.

WARREN, M. M.; HARTEL, R. W. Effects of emulsifier, overrun and dasher speed on ice cream microstructure and melting properties. **Journal of Food Science**. v. 0, p. 1-9, 2018. DOI: 10.1111/1750-3841.13983

WHO – World Health Organization. **World Health Organization Global Report**. 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/nmh/en/>>. Acesso em: 05 maio 2021.

YU, B. *et al.* Preparation of nanofibrillated cellulose from grapefruit peel and its application as fat substitute in ice cream. **Carbohydrate Polymers**. v. 254, p. 117415. 2021. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117415



16 Capítulo

Determinação da doçura
ideal e caracterização
físico-química de
néctar de tamarindo
(*Tamarindus indica*)

Capítulo 16

Determinação da doçura ideal e caracterização físico-química de néctar de tamarindo (*Tamarindus indica*)

Anne Caroline Mendes de Oliveira*¹; Júlia Nascimento Caldas¹; Larissa Tacimara Santos²; Talita Fernandes Ferreira²; Paulo Costa Sobrinho³; Tatiana Nunes Amaral³

Resumo

O Brasil é privilegiado ante a sua enorme biodiversidade, o que permite acesso a inúmeras espécies frutíferas com características nutricionais e sensoriais singulares, dentre as quais se encontra o tamarindo (*Tamarindus indica*), é um fruto e exótico utilizado para a preparação de concentrados, licores, néctares e sucos, e se destaca como um fruto ácido. Com o intuito de reduzir o consumo de açúcar e os seus possíveis malefícios, consumidores têm aderido aos edulcorantes intensos, os quais apresentam pouquíssimo ou nenhum valor calórico, podem promover efeitos colaterais à saúde, portanto, o uso de substâncias naturais ganhou grande interesse. Deste modo, o presente trabalho objetivou o estudo da doçura ideal de diferentes formulações de néctar de tamarindo. Além das análises sanitárias das matérias-primas, que asseguram a qualidade microbiológica das amostras, foram realizados testes sensoriais do ideal nas residências dos provadores para entendimento da percepção de consumidores em relação à doçura ideal dos néctares com a concentração de polpa de tamarindo fixa em 20% (m/m), variando as porcentagens de sacarose (0%, 7,5%, 15%, 22,5%, 30%), completando com água até 100% (m/m). O néctar também foi caracterizado quanto à cor, sólidos solúveis, acidez titulável em razão de ácido cítrico e pH. Mediante aos dados coletados concluiu-se que a formulação do néctar de tamarindo com doçura ideal apresentou a seguinte composição: 20% (m/m) de polpa de tamarindo, 13,08% (m/m) açúcar e 66,92% (m/m) água, tendo como características físico-químicas L* 40,80 ± 0,0, a* 19,41 ± 0,01, b* 47,82 ± 0,01, pH de 2,79 ± 0,02, sólidos solúveis de 13,80 ± 0,10 °Brix e acidez total titulável de 8,77 ± 0,06, disponibilizando informações para futuras pesquisas e desenvolvimentos de néctares de tamarindo com edulcorantes.

Palavras-chave: Análise sensorial em domicílio. Escala do ideal. Processamento de frutas. Qualidade de alimentos.

¹ Mestranda, Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

² Graduanda, Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

³ Docente, Programa de pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFVJM.

* E-mail para correspondência: annecaldeiramav@hotmail.com

Introdução

O tamarindo (*Tamarindus indica*), nome dado ao fruto do tamarindeiro, é uma vagem alongada com 5 a 15 cm de comprimento, casca pardo-escura, lenhosa e quebradiça, contendo de 1 a 5 sementes lisas, marrom-escuras e achatadas, envolvidas por uma polpa parda, fibrosa e de sabor ácido-adocicado (PEREIRA *et al.*, 2010). Considerado um fruto exótico, apresenta-se em forma de vagem, com polpa macia e escura quando madura. Sua disponibilidade é sazonal e no Brasil ocorre, principalmente, na época seca do ano (julho a outubro), mas pode estar no mercado durante todo o ano na forma de polpa congelada e néctar (GARCÍA *et al.*, 2012).

A polpa de tamarindo possui componentes nutricionais que contribuem para a saúde humana como vitaminas, cálcio, ferro, fósforo, potássio, manganês e fibra dietética. Suas propriedades funcionais são reportadas em diversos estudos, destacando sua propriedade antioxidante (RECUENCO *et al.*, 2016), como agente anti-inflamatório (URSZULA *et al.*, 2014) e o seu baixo índice glicêmico associado aos benefícios para os diabéticos (PASSOS, 2017). Essas características podem influenciar positivamente no consumo de seus produtos, acompanhando a tendência mundial dos consumidores que buscam alimentos que ofereçam benefícios à saúde (FERRAREZI; SANTOS; MONTEIRO, 2010).

Na medicina tradicional, o tamarindo é usado na cicatrização de feridas, contra dores abdominais, diarreia, disenteria, infestação parasitária, febre, malária e problemas respiratórios. Também é comumente usado em países tropicais por suas propriedades laxantes e afrodisíacas (KURU, 2014). Lim *et al.* (2013) relataram em seus estudos que os extratos de polpa de tamarindo apresentaram propriedades antioxidantes e de combate ao colesterol, efeitos que podem ser atribuídos à presença de compostos fitoquímicos como os fenólicos. Os antioxidantes contribuem para manter o equilíbrio entre a produção e a eliminação de espécies reativas de oxigênio e outros compostos relacionados, inibindo e reduzindo as lesões causadas pelos radicais livres nas células, atuando na prevenção de doenças como o câncer (VIEIRA *et al.*, 2011).

O néctar é definido como uma bebida não fermentada produzida pela diluição em água da parte comestível de frutas ou vegetais ou de seus extratos com adição de açúcares, destinados ao consumo direto (BRASIL, 2009). Os Padrões de Identidade e Qualidade estabelecidos para os néctares de frutas cobrem as porcentagens mínimas de polpa que devem ser usadas em cada tipo de néctar (BRASIL, 2003; BRASIL, 2013). No entanto, mesmo considerando o vasto potencial do mercado brasileiro, existem poucos estudos que abordam o comportamento e o perfil dos consumidores de sucos e néctares de frutas no Brasil. Quando aplicável esses estudos abordam apenas

um tipo de bebida aromatizada, que restringe a avaliação de todo o mercado (FERRAREZI; SANTOS; MONTEIRO, 2013).

Um dos ingredientes mais importantes na indústria de bebidas é a sacarose. Normalmente conhecida como açúcar ou açúcar de mesa, tem sido produzida em larga escala pela indústria de alimentos, tendo em vista o seu consumo crescente por parte da população mundial (MANHANI *et al.*, 2014). Segundo dados da FAO (2017), órgão responsável pela organização da agricultura e alimentação da ONU – Organização das Nações Unidas, a produção de açúcar no Brasil, em 2016, foi de 768.678,382 toneladas; enquanto no mundo todo o valor total foi de 1.890.661,751 toneladas. Embora diversas plantas sejam fonte de açúcar devido à presença do mesmo nos seus tecidos, comercialmente apenas a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e a beterraba (*Beta vulgaris*) são viáveis para a extração comercial da sacarose, o açúcar comum (RAMOS, 2007). De acordo com dados do IBGE (2021) em comparação as safras de cana de açúcar de 2020 e o mesmo período de 2021, a produção teve queda de 3,4%, enquanto o levantamento da CONAB (2021), estipula que para o período de 2021, serão produzidas 41.844,5 toneladas de açúcar, com uma variação de 40% em relação a 2020.

O açúcar pode ser encontrado na forma de cristal, refinado, refinado granulado, refinado líquido, glacê e líquido invertido (BRASIL, 2017), cuja diversidade de apresentação permite utilizá-lo em uma infinidade de produtos com aplicações específicas. Tem como principal função conferir gosto doce aos alimentos, além de possuir outras funcionalidades, tais como o auxílio na conservação pela redução da atividade de água, o aumento da viscosidade, a imobilização da água dentre outras, fato que justifica o seu grande emprego e as dificuldades encontradas para a sua substituição (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2016). Pode ser utilizado na elaboração de diversos produtos, tais como doces, geleias, caramelos, compotas, balas, sorvetes, biscoitos, bolos, glacês, bombons, refrigerantes, entre outros (OETTERER; ARCE; SPOTO, 2006).

O excesso no consumo de açúcar pode ser considerado um dos principais fatores relacionados ao aumento no número de casos de diabetes no Brasil e no mundo, sendo que de acordo com as diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS) o consumo de açúcares livres de uma pessoa normal não deve ultrapassar 10% do total de calorias diárias. (OMS, 2015; SHANKAR; AHUJA; SRIRAM, 2013). Avaliações da OMS (2015) concluíram que limitar a quantidade máxima de adição de açúcar aos alimentos industrializados e diminuir a porção de açúcar em bebidas adoçadas beneficiariam e promoveriam maior qualidade de saúde pública, principalmente no que tange a uma maior redução do risco de cáries dentárias, diabetes do tipo 2 e doenças cardiovasculares.

Para a correta definição das concentrações de edulcorantes a serem aplicados nas bebidas, é de suma importância o entendimento do dulçor ideal em relação à opinião dos consumidores tendo como referência a sacarose. Para isto existem ferramentas em análise sensorial que auxiliam na determinação, como o método do teste do ideal. A Análise Sensorial pode ser compreendida como “o exame das propriedades sensoriais de um produto através dos órgãos dos sentidos”, sendo um instrumento fundamental para apontar a percepção e as características de um produto pelo consumidor (PIANA *et al.*, 2004). A aplicação de testes sensoriais pode ser realizada em domicílio, uma possibilidade que traz vantagens como a condução do teste em ambiente real de consumo (DUTCOSKY, 2015).

Neste contexto o presente trabalho teve o objetivo de definir a doçura ideal de néctar de tamarindo com aplicação de sacarose de acordo com a opinião de consumidores. Além de avaliar características físico-químicas das bebidas.

Material e Métodos

Os materiais utilizados no presente trabalho foram adquiridos com recursos próprios, sendo os seguintes: polpas de tamarindo da Cooperativa Grande Sertão (Montes Claros – MG), açúcar cristal da marca Euroçucar e água potável.

As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório de Higiene de Alimentos do Departamento de Nutrição, as análises físico-químicas e preparação de amostras foram realizadas no laboratório de Análise Sensorial do curso de Engenharia de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia da UFVJM. Devido à pandemia da COVID-19, a análise sensorial aconteceu em domicílio, os provadores receberam um kit contendo as amostras e toda a comunicação entre pesquisador e provador foi realizada de maneira virtual.

Avaliação sanitária os ingredientes

Para segurança do experimento as matérias-primas foram analisadas microbiologicamente antes do início da condução dos testes. A qualidade sanitária da polpa de tamarindo e da água foram realizadas em novembro de 2019, conforme parâmetros descritos na RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, para *Salmonella* spp. e coliformes termotolerantes a 45 °C (BRASIL, 2001). A população de coliformes termotolerantes a 45 °C foi avaliada pelo método do Número Mais Provável (NMP),



utilizando uma série de 3 tubos (KORNACKI; GURTLER; STAWICK, 2015), contagem em placas de mesófilos aeróbios (Acumedia, Neogen, USA) utilizando ágar para contagem padrão (RYSER; SCHUMAN, 2015). A detecção de *Salmonella* spp. foi realizada seguindo a norma NBR ISO 6579-2014, com modificação em relação ao caldo Muller-Kauffmann, que foi utilizado sem o suplemento de novobiocina.

Produção dos néctares

A polpa de tamarindo foi retirada do congelador no dia anterior à preparação e alocada na geladeira para descongelar durante 24 h. No dia seguinte, os néctares sem adição de sacarose (NS0), com 7,5% (m/m) de sacarose (NS75), 15% (m/m) de sacarose (NS15), 22,5% (m/m) de sacarose (NS225) e 30% (m/m) de sacarose (NS30) foram preparados de acordo com as formulações presentes na Tabela 1.

Tabela 1 – Formulações dos néctares de tamarindo

AMOSTRA	ÁGUA	POLPA	SACAROSE
NS0	80,0%	20,0%	0,0%
NS75	72,5%	20,0%	7,5%
NS15	65,0%	20,0%	15,0%
NS225	55,5%	20,0%	22,5%
NS30	50,0%	20,0%	30,0%

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: Néctar sem adição de sacarose (NS0), néctar com 7,5% de sacarose (NS75), néctar com 15% de sacarose (NS15), néctar com 22,5% de sacarose (NS225) e néctar com 30% de sacarose (NS30).

O processo de produção dos néctares de tamarindo foi realizado de acordo com Rodrigues *et al.* (2016) com modificações. As formulações foram preparadas separadamente, cada ingrediente foi pesado e colocado no liquidificador industrial e homogeneizado por um minuto. Em seguida o néctar foi distribuído em copos plásticos descartáveis com tampa, identificados com números de três dígitos com 30 mL de néctar. Com todos os néctares preparados, os mesmos foram armazenados em geladeira e entregues no dia seguinte pela manhã no domicílio de cada provador. Durante o recebimento, todos os provadores foram orientados a colocarem os néctares na geladeira por um período de 1h antes de iniciar o teste.

Determinações físico-químicas do néctar de tamarindo

A concentração de sólidos solúveis (°Brix) das amostras foi medida em refratômetro, o pH das amostras foi medido em pHmetro digital de bancada do modelo mPA210, a acidez total titulável das amostras foi expressa em% de ácido cítrico e a análise de cor instrumental foi determinada por meio do colorímetro Konica Minolta do modelo spectrophotometer CM-5 com base no sistema CIELAB no qual a cor foi expressa em L*, a* e b*, com medição através dos parâmetros de cor: L* = luminosidade (0 = preto e 100 = branco); a* (0 a +60 = vermelho, 0 a -60 = verde) e b* (0 a +60 = amarelo, do 0 a -60 = azul) (JESUS *et al.* 2017). Todas as análises seguiram os métodos preconizados pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) e as medições foram realizadas em triplicata. Os resultados foram analisados por análise de variância e teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Estimativa da doçura ideal

Para avaliar as amostras foi utilizado o teste do ideal com o uso de formulário online, ancorado por “extremamente menos doce que o ideal” e “extremamente mais doce que o ideal” nas extremidades e “ideal” no centro (DUTCOSKY, 2015).

Foi entregue um kit para cada provador contendo as cinco amostras de néctar de tamarindo e um folder explicando como realizar o teste. As amostras foram entregues em copos plásticos brancos descartáveis, codificados com algarismos de três dígitos, cada amostra com 30 mL de néctar. Os testes foram realizados com 61 pessoas com distribuição balanceada das amostras. O estudo sensorial foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) para a autorização da sua execução, sob o registro CAAE: 89302718.7.0000.5108.

Os dados subjetivos foram transformados em valores numéricos correspondentes às categorias presentes na escala utilizada, de forma que a categoria “extremamente mais doce que o ideal” correspondia ao valor +4, “extremamente menos doce que o ideal”, ao valor -4 e a doçura “ideal” correspondia ao valor 0 (LIMA, 2020). O resultado foi analisado por meio de regressão linear entre a média dos valores atribuídos pelos provadores e a doçura de cada amostra (LIMA, 2020).

Resultados e Discussão

Avaliação sanitária da polpa de tamarindo e da água

Tanto a polpa de tamarindo como a água utilizadas na preparação estavam próprias para o consumo, não sendo detectada a presença de *Salmonella* spp. (ausência em 25 g) nem de coliformes termotolerantes (<3 NMP/g ou mL). A população de bactérias mesófilas na água foi de 240 UFC/mL, enquanto que na polpa foi <10 UFC/g. Não foram evidenciadas presenças de coliformes a 45 °C, indicando que todas as amostras estavam de acordo com a RDC N°12 (BRASIL, 2001), onde está estabelecido que refrigerantes e outros compostos líquidos prontos para o consumo, refrescos, sucos e néctares adicionados ou não de conservantes congelados ou não deveriam ter indicativo de tolerância “ausência” em todas as amostras.

Todas as matérias-primas utilizadas no presente estudo estavam conforme a legislação vigente, evidenciando assim que o processamento dos néctares foi realizado de maneira correta e eficiente, garantindo assim as condições higiênicas sanitárias dos produtos finais. Valores semelhantes foram encontrados por BRAGA *et al.* (2020) na preparação néctar misto de pitaya e maracujá.

Determinações Físico-Químicas

Determinadas as concentrações de sacarose utilizadas nas amostras, foram efetuadas determinações físico-químicas em triplicata de sólidos solúveis (°Brix), cor, pH, acidez total titulável. Os resultados encontram-se na Tabela 2.

A Tabela 2 apresenta valores de média e desvio padrão das cinco amostras que foram submetidas às análises físico-químicas. Neste estudo os valores de sólidos solúveis variaram entre 2,57 e 30,33 °Brix havendo diferença significativa entre eles, pode se observar que conforme aumentava a concentração de sacarose também aumentava o teor de sólidos solúveis, como a formulação NS0 não tinha adição de sacarose seu valor foi menor que os demais, trazendo em seu valor de sólidos apenas a quantidade de ácidos e sacarose encontrada no fruto.

Os resultados para a análise colorimétrica para os três estímulos da cor, L*, a* e b* do néctar, demonstraram que houve variação significativa ($p \leq 0,05$). No que se refere a L* os valores estiveram entre 25,33 a 51,47 caracterizando as amostras como escuras ($L^* < 50$), sendo compatível a cor do fruto, para o parâmetro a* variaram entre 15,54 a 18,80 com diferença significativa entre as médias,



trazendo uma cor mais avermelhada, enquanto o parâmetro b* variou entre 36,51 a 49,40 trazendo uma cor mais amarelada, esses dois últimos parâmetros podem estar relacionados com os carotenoides presentes na polpa do fruto.

Tabela 2 - Resultados obtidos das médias para as determinações físico-químicas das amostras de néctar de tamarindo com diferentes concentrações de sacarose e concentração fixa de 20% de néctar.

AMOSTRA	SÓLIDOS SOLÚVEIS (°BRIX)	COR			pH	ACIDEZ
		L*	a*	b*		TITULÁVEL
						(% ácido cítrico)
NS0	2,57 ± 0,06 ^a	43,85 ±	16,63 ±	46,46 ±	2,69 ±	10,84 ± 0,10 ^a
		0,02 ^a	0,01 ^a	0,03 ^a	0,01 ^a	
NS75	8,73 ± 0,15 ^b	46,82 ±	16,07 ±	46,07 ±	2,70 ±	9,10 ± 0,10 ^b
		0,01 ^b	0,01 ^b	0,02 ^a	0,01 ^a	
NS15	11,80 ± 0,10 ^c	41,11 ±	18,80 ±	49,40 ±	2,65 ±	8,29 ± 0,06 ^c
		0,04 ^c	0,01 ^c	0,34 ^b	0,01 ^b	
NS225	23,77 ± 0,06 ^d	51,47 ±	15,54 ±	48,62 ±	2,67 ±	8,19 ± 0,15 ^c
		0,05 ^d	0,01 ^d	0,04 ^b	0,01 ^b	
NS30	30,33 ± 0,12 ^e	25,33 ±	18,12 ±	36,51 ±	2,64 ±	8,0 ± 0,21 ^c
		1,45 ^e	0,05 ^e	1,60 ^c	0,02 ^b	

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna (comparação entre tratamentos) não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Legenda: Néctar sem adição de sacarose (NS0), néctar com 7,5% de sacarose (NS75), néctar com 15% de sacarose (NS15), néctar com 22,5% de sacarose (NS225) e néctar com 30% de sacarose (NS30).

As medidas de pH adquiridas entre as formulações do néctar de tamarindo variaram de 2,64 a 2,70, esses valores caracterizam a bebida como ácida ($\text{pH} \leq 4$) (Valsechi, 2006), sendo variável importante na formulação da bebida já que valores de pH inferiores a 4,5 desfavorecem o crescimento do *Clostridium botulinum* (SANTOS et al., 2013).

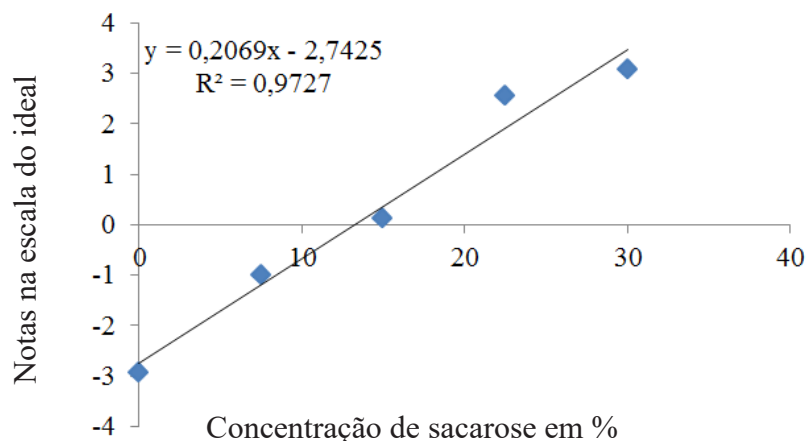
Os valores de acidez total titulável encontrados no presente estudo variaram de 8 a 10,84 nas cinco formulações elaboradas, conforme foi aumentando a concentração de sacarose menor foi o valor de acidez titulável, as amostras com 15, 22,5 e 30% de sacarose não difeririam estatisticamente entre si.

Determinação da Doçura Ideal

O teste utilizando escala do ideal permitiu verificar a opinião de 61 pessoas a respeito da doçura do produto, possibilitando determinar a doçura ideal do néctar de tamarindo adoçado com sacarose. Os dados foram submetidos a regressão de primeira ordem (Figura 1), a partir da qual foi possível determinar que a concentração ideal de sacarose a ser adicionada ao néctar de tamarindo era de 13,08% através do ponto de interseção com o eixo X.

Esta determinação foi corroborada pelos histogramas de distribuição das respostas sensoriais em função da concentração de sacarose adicionada ao néctar de tamarindo, presentes na Figura 2.

Figura 1- Doçura ideal de polpa a ser adicionada ao néctar de tamarindo, obtida no teste com Escala do Ideal



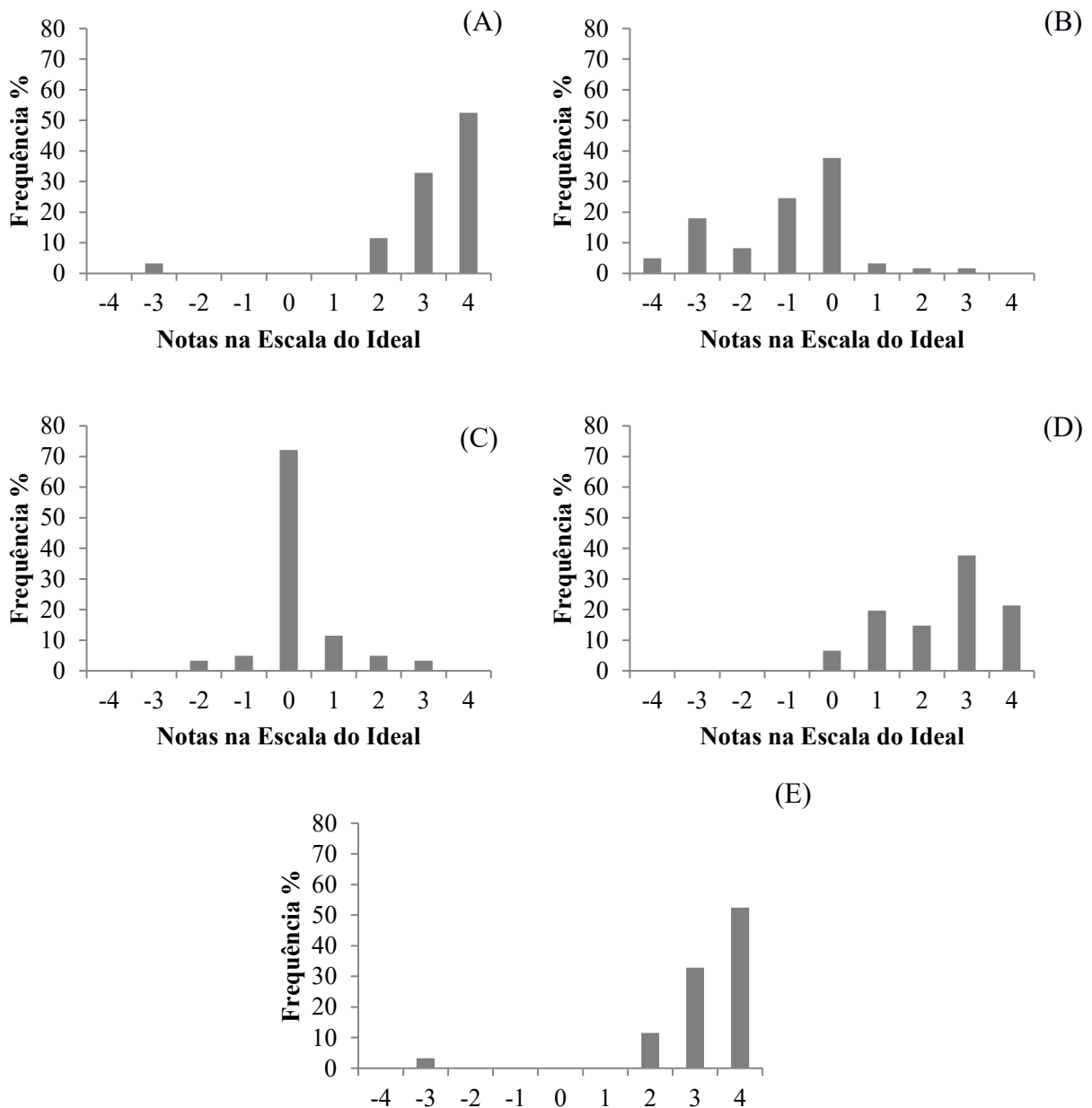
Fonte: Dos autores, 2021.

Na Figura 2A, verifica-se que a maior porcentagem de respostas, cerca de 47%, foi referente à nota -3, que corresponde à categoria “muito menos doce que o ideal”. Para o néctar de tamarindo adoçado com 7,5% (Figura 2B) 15% de açúcar (Figura 2C) consideraram que estas se encontravam ideal em relação à doçura, atribuindo-lhe nota 0, cerca de 37% e 72% respectivamente. Este fato contribuiu para que a doçura ideal do néctar adoçado com sacarose fosse determinada entre 7,5% e 15%. Para a amostra contendo 22,5% de açúcar (Figura 2D), grande parte dos provadores atribuiu nota 3, relativa à categoria “muito mais doce que o ideal”. Finalmente, para a concentração de 30% (Figura 2E), a categoria com maior porcentagem foi a relativa à nota 4, ou “extremamente mais doce que o ideal”, com cerca de 52%.

Como a concentração ideal de sacarose foi de 13,08%, foi realizada análise físico-química de cor, pH, sólidos solúveis em °Brix e acidez titulável total expressa em% de ácido cítrico. Os valores

de cor do néctar avaliado no parâmetro L* foi de $40,80 \pm 0,01$, nos parâmetros a* e b* os valores apresentados foram respectivamente, $19,41 \pm 0,01$ e $47,82 \pm 0,01$, o pH foi de $2,79 \pm 0,02$, sólidos solúveis de $13,80 \pm 0,10$ °Brix e acidez total titulável de $8,77 \pm 0,06$.

Figura 2 - Histogramas de distribuição das respostas obtidas no teste com escala do ideal para as amostras de néctar de tamarindo com 0% de sacarose (A), com 7,5% de sacarose (B), com 15% de sacarose (C), com 22,5% de sacarose (D) e 30% de sacarose (E)



Fonte: Dos autores, 2021.

Conclusão

A aplicação do teste do ideal em domicílio apresentou resultados consistentes e afirmou a possibilidade desta modalidade entre as atividades em análise sensorial. O néctar ideal foi definido com a formulação: 20,00% de polpa de tamarindo, 13,08% de sacarose e 66,92% de água, resultando em uma bebida com características físico-químicas com parâmetros de cor com valores de $L^* 40,80 \pm 0,0$, $a^* 19,41 \pm 0,01$ e $b^* 47,82 \pm 0,01$, o pH de $2,79 \pm 0,02$, sólidos solúveis de $13,80 \pm 0,10$ °Brix e acidez total titulável de $8,77 \pm 0,06$. Apesar de não encontrar na legislação padrão de identidade e qualidade para o néctar de tamarindo, as formulações podem ser consideradas néctares, atendendo o% de mínimo de polpa, além de possuir aspectos sanitários necessários segundo a legislação. A partir da disponibilização da concentração ideal de sacarose podem ser realizados testes de aplicação de edulcorantes em néctares de tamarindo com maior assertividade, já que a equivalência da sacarose com edulcorantes comerciais está disponível tanto a partir de informações das indústrias que produzem os edulcorantes quanto na literatura científica.

Agradecimentos

Agradecemos à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (UFVJM), à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

ADITIVOS & INGREDIENTES. **As múltiplas aplicações do açúcar**. p. 48-56, 2016. Disponível em:http://www.aditivosingredientes.com.br/upload_arquivos/201603/2016030052660001459189957.pdf. Acesso em: 20 mai. 2021.

BRAGA, L. A. C. *et al.* Perfil sensorial e avaliação físico-química de néctar misto de Pitaya e Maracujá. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 6, p. 38970-38987, 19 jun. 2020.

BRASIL. 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**, Brasília, 2001. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/res0012_02_01_2001.html. Acesso em: 26 maio 2021.

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 42, de 11 de setembro de 2013. Alterar o art. 3º da Instrução Normativa nº 12, de 04 de setembro de 2003, e acrescentar o art. 3º-B. **Diário Oficial da União**, Brasília, 12 de setembro de 2013. Seção 1. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-42-de-11-de-setembro-de-2013.pdf/view>. Acessado em: 26 de maio de 2021.

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 42, de 13 de novembro de 2017. Regulamento técnico do açúcar. **Diário Oficial da União**, Brasília, 17 de novembro de 2017. Seção X, página X. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=17/11/2017&jornal=515&pagina=3&totalArquivos=152>. Acessado em: 26 de maio de 2021.

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). Instrução normativa nº 47, de 1º de outubro de 2018. Estabelecer o Regulamento Técnico do Açúcar, 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, 6 de setembro de 2018. Seção 1, páginas 12-15. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/39939558/do1-2018-09-06-instrucao-normativa-n-47-de-30-de-agosto-de-2018-39939440. Acessado em: 30 de maio de 2021.

BRASIL. Presidência da República. Casa Civil, Subchefia para Assuntos Jurídicos Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 04 de junho de 2009. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/decreto/d6871.htm. Acesso em: 29 junho 2020.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Análise mensal: cana-de-açúcar janeiro / fevereiro de 2021. Disponível em: < https://www.udop.com.br/boletins-arquivos/148/2021/jan_fev21_analise_mensal_conab.pdf >. Acessado em: 28 de maio de 2021.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **FAOSTAT**. 2017. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 28 mar. 2020.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 4ª. Ed. Curitiba. Editora PucPress, 2015. 540 p.

FERRAREZI, A. C.; SANTOS, K. O.; MONTEIRO, M. Avaliação crítica da legislação brasileira de sucos de fruta, com ênfase no suco de fruta pronto para beber. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p.667-677, 2010.

FERRAREZI, A. C.; SANTOS, K. O.; MONTEIRO, M. Consumer interpretation of ready to drink orange juice and nectar labelling. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 6, p. 1296-1302, 2013.

FERREIRA, K. A.; ALCÂNTARA, R. L. C. Approaches for implementation of the postponement strategy: a multicase study in the food industry. **Gestão & Produção**, v. 20, n. 2, p. 357-372, 2013.

GARCÍA, J. C. V. *et al.* Systems management and marketing of tamarind (*Tamarindus indica* L.) in three municipalities of Veracruz. **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**, Estado do México, v. 3, n. 6, p. 1217-1230, 2012.

IBGE, Levantamento sistemático da produção agrícola - 2021, SIDRA – Banco de dados estatísticos. Disponível em <https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>. Acessado em 28 de maio de 2021.

JESUS, R. S. *et al.* Desenvolvimento e aceitabilidade de um néctar misto de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) e maracujá do mato (*Passiflora cincinnata* Mast) adoçado com mel de *Apis mellifera*. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, ano 2017, v. 14, n. 26, p. 247-256, 5 dez. 2017.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas Alimentícias não Convencionais (PANC) no Brasil**: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014. ISBN 978-85-86714-46-7.

KORNACKI, J. L., GURTLER, J. B.; STAWICK, B. Enterobacteriaceae, coliforms and *Escherichia coli* as quality and safety indicators, Capítulo 9. In, F. P. Downes and K. Ito (Eds.), **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 5th ed. American Public Health Association, Washington, D.C, 2015.

KURU, P. *Tamarindus indica* and its health related effects. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Hainan, v. 4, n.9, p. 676-681, 2014.

LIM, C. Y. *et al.* In vivo biochemical and gene expression. Analyses of the antioxidant activities and hypocholesterolaemic properties of *Tamarindus indica* fruit pulp extract. **Plos One**, California, v. 8, n. 7, e70058, 2013.

LIMA, R. S. **Perfil sensorial dinâmico e direcionadores de preferência em bebida funcional de baixa caloria à base de tamarindo – *Tamarindus indica* L.** Orientador: Profa. Dra. Helena Maria André Bolini. 2020. 109 f. Tese (Doutor em Alimentos e Nutrição) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2020.

MANHANI, T. M. *et al.* Sacarose, Suas Propriedades e os Novos Edulcorantes. **Revista Uniara**. 2014. v.17, n.1. Disponível em: http://www.uniara.com.br/legado/revistauniara/pdf/32/artigo_09.pdf. Acesso em: 04 maio 2021.

OETTERER, M., ARCE, M. A. B. R., SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 1, p. 135-195, 2006.

OMS – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Who calls on countries to reduce sugars intake among adults and children**. 2015. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/sugar-guideline/en/>. Acesso em: 09 mar. 2018.

PASSOS, T. U. **Efeito da farinha de tamarindo no controle metabólico de pacientes diabéticos: ensaio clínico randomizado duplo cego controlado por placebo**. 2017. 165f. Tese (Doutorado em Saúde Coletiva) - Universidade Estadual do Ceará, 2017.

PEREIRA, C. P. *et al.* Mudanças de tamarindeiro produzidas em diferentes níveis de matéria orgânica adicionada ao substrato. **Revista Verde**, v. 5, n. 3, p. 152-159, 2010.

PIANA, M. L. *et al.* Sensory analysis applied to honey: state of the art. **Apidologie**, v. 35, p. 26-37. 2004.

RAMOS, P. Os mercados mundiais de açúcar e a evolução da agroindústria canavieira do Brasil entre 1930 e 1980: do açúcar ao álcool para o mercado interno. **Economia Aplicada**. Ribeirão Preto, v. 11, n. 4, 2007.

RECUENCO, M.C. *et al.* Total phenolic and total flavonoid contents of selected fruits in the Philippines. **Philippine Journal of Science**, v. 145, n. 3, p. 275-281, 2016.

RODRIGUES, J. F. *et al.* Miracle fruit: Na alternative sugar substitute in sour beverages. **Appetite**, v. 107, p. 645-653, 2016.

RYSER, E. T.; SCHUMAN, J. D. August 2015: Cap. 8. **Mesophilic Aerobic Plate Count. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Disponível em: <https://doi.org/10.2105/MBEF.0222.013>.

SANTOS, M. B. *et al.* Avaliação físico-química e microbiológica de polpa de frutos de umbu-cajá, por métodos combinados. **Magistra**, Cruz das Almas, v.25, n.1, p.7-13, 2013.

SHANKAR, P.; AHUJA, S.; SRIRAM, K. Non-nutritive sweeteners: Review and update. **Nutrition**. Statesboro, EUA, v. 29, p. 1293-1299, 2013.

URSZULA, T. *et al.* Chemical, physicochemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of rich-fibre powder extract obtained from tamarind (*Tamarindus indica* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 155-162, 2014.

VALSECHI, O. A. Microbiologia dos alimentos. Universidade federal de São Carlos Centro de Ciências Agrárias, departamento de tecnologia agroindustrial e socioeconômica rural. **Araras**, São Paulo, 2006.

VIEIRA, L. M. *et al.* Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 888-897, 2011.

17 Capítulo

Avaliação dos parâmetros
de qualidade de polpas de
acerola comercializadas
em Guanambi-BA

Capítulo 17

Avaliação dos parâmetros de qualidade de polpas de acerola comercializadas em Guanambi-BA

Edivânia Ribeiro Lopes*¹; Edilene Ribeiro Lopes²; Elizângela Ribeiro Lopes³; Rômicy Dermondes Souza¹; Cristiane Patrícia de Oliveira ⁴; Elizabete Soares Cotrim Levi⁵

Resumo

Devido a busca por praticidade por parte dos consumidores, o consumo de polpas de frutas vem aumentando e assim surge a preocupação com a melhoria da qualidade físico-química e microbiológica destas. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo verificar o padrão de identidade e qualidade de polpa de acerola congelada comercializadas em Guanambi- Bahia. Foram analisadas 12 polpas de acerola congelada, sendo 4 marcas diferentes adquiridas em 3 dias distintos, obtidas em supermercado local de Guanambi-Bahia. Foram realizadas análises físico-química (pH, acidez titulável em ácido cítrico, ácido ascórbico, sólidos solúveis totais, umidade e cinzas) e análise microbiológicas (coliformes termotolerantes, fungos filamentosos e leveduras, *salmonella e staphylococcus*). Os resultados foram comparados com a Instrução Normativa nº 1, de 07 de janeiro de 2000 revogada pela Instrução Normativa nº 49, de 26 de setembro de 2018. Verificou-se conformidade em todos os parâmetros, exceto para o parâmetro de sólidos totais o qual somente a marca A apresentou dentro do padrão estabelecido pela legislação. Na análise microbiológica verificou-se que nenhuma das amostras apresentou contaminação indicando que as polpas de frutas passaram pelo processo de produção, manipulação e armazenamento adequado. As polpas apresentaram os padrões de identidade e qualidade exigidos, exceto para o parâmetro de sólidos totais que nem todas marcas estavam em conformidade.

Palavras-chave: Físico-química. Legislação. Microbiologia.

¹Discente do mestrado em Ciência e Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus Itapetinga*.

²Graduada em Tecnologia em Agroindústria, Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia Baiano- *Campus Guanambi*.

³Discente de graduação em Farmácia, Centro Universitário Faculdade de Guanambi, Guanambi.

⁴Professora titular, Departamento de Tecnologia Rural e Animal, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus Itapetinga*.

⁵Discente do doutorado em Ciência e Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia- *Campus Itapetinga*.

*E-mail para correspondência: edivania-ribeiro@hotmail.com

Introdução

O Brasil é o terceiro país com produção mundial de frutas, sendo responsável por 4,6% do volume colhido com uma produção de 39,9 milhões de toneladas de frutas (SOUZA, 2020). Entretanto, as frutas são altamente perecíveis, causando grandes perdas e desperdícios dessas (BAUER; WALLY; PETER, 2014). Uma tecnologia utilizada para evitar o desperdícios das frutas, preservar as qualidades nutricionais (CASTRO *et al.*, 2015) e ter maior praticidade para preparo é a polpa de fruta (ORQUEDA *et al.*, 2021). A polpa de fruta é o produto não fermentado, não concentrado, não diluído, obtido de frutos polposos, por meio de processo tecnológico adequado, com teor mínimo de sólidos totais, derivada da parte comestível do fruto (BRASIL, 2018).

O fruto que tem como destinação principal a produção de polpa é a acerola (SEBRAE, 2013). A acerola (*Malpighia emarginata* DC.) é uma fruta nativa da América Central e do norte da América do Sul (MALEGORI *et al.*, 2017). Possui grande importância por ser rica em vitamina C (COELHO *et al.*, 2007), antioxidante (PRAKASH; BASKARAN, 2018), antocianinas, carotenoides, ferro e cálcio (MERCALI *et al.*, 2014). Porém, essa composição pode variar conforme condições ambientais e de maturação, por exemplo, diminuição da vitamina C conforme avanço da maturação (ADRIANO; LEONEL; EVANGELISTA, 2011). A fruta acerola possui perecibilidade muito rápida, dificultando a comercialização da fruta in natura (MALEGORI *et al.*, 2017), por esse motivo, essa fruta é processada para produzir polpas congeladas (CAETANO; DAIUTO; VIEITES, 2012).

As polpas congeladas devem estar de acordo com a legislação vigente, garantindo a qualidade do produto (SOUSA *et al.*, 2020) e a comercialização dessas sem alterações químicas, nutricionais, sensoriais e com ausência de materiais estranhos (FREITAS *et al.*, 2020). Os parâmetros de qualidade exigidos pela legislação são as físico-químicos e microbiológicas. As físico-químicas estão o potencial hidrogeniônico (pH), acidez total titulável, teor de ácido ascórbico (Vitamina C), sólidos solúveis totais. E as análises microbiológicas das polpas são fungos e leveduras, coliformes e *salmonella* (BRASIL, 2018).

Para obter os parâmetros exigidos pela legislação as polpas passam por processamento tecnológico adequado, inicialmente as frutas são selecionadas e higienizadas, em seguida são despulpadas, pasteurizadas, envasadas e armazenadas/congeladas (FURTADO *et al.*, 2009). A seleção consiste em eliminar as frutas estragadas e matérias estranhas; a higienização é a etapa da lavagem (retirada de toda sujidade visível com água corrente), sanitização (imersão em uma solução contendo geralmente água clorada) e enxágue (enxágue retirada do excesso de cloro); o despulpamento é utilizado para extrair a polpa das sementes, cascas e material fibroso (MATTA *et*

al., 2005); pasteurização é um tratamento térmico utilizado para reduzir a carga microbiana presente na fruta (FURTADO *et al.*, 2009) e inativar enzimas; envase é a etapa de colocar as polpas em embalagens adequadas para comercialização; o congelamento preserva as características originais da fruta e evita o crescimento de microrganismos, proporcionando qualidade e segurança ao produto final (MATTA *et al.*, 2005).

Mediante a ausência de fiscalização para polpas de frutas, viu-se a necessidade de estudos para tal produto congelado de forma a fornecer resultados relativos a este alimento. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo verificar o padrão de identidade e qualidade de polpa de acerola congelada comercializadas em Guanambi- Bahia.

Material e métodos

Foram analisadas 12 polpas de acerola congeladas, sendo 4 marcas (A, B, C e D) diferentes adquiridas em 3 dias distintos (4x3). Essas polpas foram obtidas em supermercado local de Guanambi-Bahia, estavam de forma expostas ao consumidor congeladas em freezer. As amostras foram transportadas em suas embalagens originais (100 mL), não violadas, em recipiente termicamente isolado.

Análise físico-química e centesimal

Para a realização das análises físico-químicas e centesimal, seguiu-se a metodologia descritas nas normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz - IAL (2008). As amostras foram descongeladas até à temperatura ambiente e posteriormente realizada as análises em triplicata.

pH: a determinação do pH foi realizada utilizando pHmetro de bancada devidamente calibrado

Acidez total titulável (ATT): determinação por volumetria com indicador e calculada% de acidez em ácido cítrico.

Ácido ascórbico (AA): obtido por titulometria com solução de iodato de potássio.

Sólidos Solúveis Totais (SST): determinou-se com refratômetro digital

Umidade: quantificação de umidade foi realizada em estufa a 105 °C até peso constante.

Sólidos totais: os sólidos totais foram determinados por diferença da umidade encontrada.

Cinzas: o teor de cinzas foi obtido pela incineração do resíduo seco em mufla a 550 °C.



Análise microbiológica

As análises microbiológicas seguiu a metodologia descrito por Silva, Junqueira e Silveira (2001).

Coliformes a 35 °C e a 45 °C: as amostras foram inoculadas em três tubos contendo caldo Lactosado (CL), com tubo de Duhran invertido (teste presuntivo). Os tubos foram incubados a 35 °C por 24-48 horas.

Salmonella sp: as amostras foram inoculadas em frascos contendo caldo Lactosado e incubadas a 35 °C, por 24 horas.

Fungos Filamentosos e Leveduras: foi utilizado o método de plaqueamento direto, diluições foram semeadas e as placas foram incubadas a 22 °C por 3 a 5 dias.

Staphylococcus aureus: realizada através da diluição em água peptonada (H₂O_p) e inoculada em placas de Agar Baird-Parker (BP). Foram incubadas a 35- 37 °C/ 45- 48 horas.

Análise estatística

Os dados gerados na análise físico-química foram submetidos ao delineamento inteiramente casualizado (DIC) e submetidos a análise de variância (ANOVA), posteriormente realizado o teste de Tukey a nível de 5%.

Resultados e discussão

Análise físico-química e centesimal

Os resultados das análises físico-química foram comparados com o padrão da Instrução Normativa nº 1, de 07 de janeiro de 2000 N° 01/2000 (IN 01/2000) revogada pela Instrução Normativa nº 49, de 26 de setembro de 2018 (IN 37/2018), com alteração mínima dos padrões estabelecidos. Os resultados das análise físico-químicas estão apresentados na Tabela 1.

Todos os valores de pH encontrados nas polpas de acerola (Tabela 1) estavam dentro do estabelecido pela IN 37/2018, e apresentaram diferença significativa entre as marcas ($p > 0,05$). O pH é um atributo de qualidade importante, pois dependendo do seu pH irá inibir o crescimento de microrganismos, a maior parte das frutas se enquadram em muito ácidos, ou seja, $pH < 4,0$ (BASTOS,

2007). No presente trabalho todos os resultados se enquadraram em polpas de alta acidez, resultados estes que irão evitar o crescimento de microrganismos que não se desenvolvem em pH ácido.

Sousa *et al.* (2020) avaliando três marcas de polpas de acerola congeladas comercializadas em Santarém-PA encontraram valor de pH de 3,60, 3,36 e 3,29. Nascimento *et al.* (2018) analisaram polpas de acerola artesanais e industriais congeladas e obtiveram valores de pH de 3,35 para polpas industriais e 3,63 para polpas artesanais. Oliveira *et al.* (2014) avaliaram sete marcas de polpas de frutas congeladas na cidade de Mossoró-RN e encontraram pH mínimo de 3,13 e máximo de 3,51. Valores bem semelhantes aos do presente trabalho.

Na análise de acidez todas as marcas das polpas estavam de acordo com o estabelecido pela IN 37/2018 (Tabela 1), apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) entre as marcas. A partir da acidez pode avaliar o estado de conservação de polpas, pois quando a fruta está no estado de maturação e passa para a senescência a acidez do fruto geralmente é diminuída (MACIEL *et al.*, 2010; PEREIRA *et al.*, 2006). Também é alterada a acidez quando ocorre o processo de alteração do alimento, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação (IAL, 2008). Todos as polpas de acerola estavam com valores adequados, portanto as frutas utilizadas para o processamento da polpa estavam em bom estado de maturação e ausente de qualquer alteração.

Sousa *et al.* (2020) avaliando três marcas de polpas de acerola congeladas comercializadas em Santarém-PA encontraram valor de acidez total titulável de 0,22; 0,25 e 0,25 resultados fora da legislação e diferente desse trabalho. Já Brasil *et al.* (2016) avaliaram cinco marcas de diferentes polpas de fruta congeladas comercializadas na cidade de Cuiabá-MT, encontraram valores fora da legislação com mínimo de 0,71 em apenas uma marca e o valor máximo de 1,25.

Tabela 1 - Resultados das análises físico-química de polpa de frutas congelada de quatro diferentes marcas (A, B, C e D) comercializadas em Guanambi- BA, 2018

Marcas	pH	ATT (%)	AA (mg/100 g)	SST (° brix)
A	3,33 ± 0,01 ^b	1,20 ± 0,05 ^a	1778,18 ± 0,44 ^a	7,56 ± 1,48 ^a
B	3,35 ± 0,03 ^{ab}	0,99 ± 0,06 ^b	1234,10 ± 0,14 ^a	5,76 ± 0,57 ^a
C	3,39 ± 0,01 ^a	0,94 ± 0,05 ^b	1569,24 ± 0,03 ^a	5,96 ± 0,06 ^a
D	3,17 ± 0,02 ^c	1,16 ± 0,03 ^a	1254,93 ± 0,13 ^a	6,10 ± 0,37 ^a
IN 49/2018 (mín)	2,80	0,80	800,00	5,50

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: Instrução Normativa nº 49, de 26 de setembro de 2018 (IN 37/2018). mín- mínimo que a legislação estabelece. ATT- Acidez total titulável em% de ácido cítrico; AA- Ácido ascórbico; SST- sólidos solúveis totais.

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Na análise de ácido ascórbico todas as marcas das polpas de fruta de acerola apresentaram uma grande quantidade (Tabela 1), todas estavam de acordo com a IN 37/2018, e não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre as marcas. Todas as amostras apresentaram grande concentração de ácido ascórbico, isso pode ser explicado devido a fruta acerola conter grande quantidade de ácido ascórbico antes do processamento, e se houve perdas no momento do processamento da fruta ou armazenamento da polpa, não foi o suficiente para estar abaixo da legislação. A preservação do ácido ascórbico também pode ser explicada devido as polpas de acerola apresentarem pH de alta acidez, já que o ácido ascórbico é estável em condições ácidas e instável em condições de oxigênio, luz e calor (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Nascimento *et al.* (2018) analisaram polpas de acerola artesanais e industriais congeladas e perceberam que a produção industrial obteve maior quantidade de ácido ascórbico (vitamina C) com média de 1080,11 mg/100 g e dentro do padrão exigido pela legislação, já as polpas artesanais que obteve valor de 633,04 mg/100 g estavam abaixo do permitido pela legislação. Os autores discutiram que o baixo teor na vitamina C nas polpas artesanais pode estar associado a deficiências no processo produtivo. Brasil *et al.* (2016) avaliaram cinco marcas de diferentes polpas de acerola congeladas comercializadas na cidade de Cuiabá-MT, e apenas uma marca estava dentro do padrão exigido pela legislação com média de 888,4 mg/100 g, resultados diferentes do presente trabalho onde as polpas apresentaram grande concentração de ácido ascórbico.

Os sólidos solúveis totais (SST) estavam de acordo com a IN 37/2018 (Tabela 1), e não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre as marcas. O teor de sólidos solúveis totais indica índice de maturidade de algumas frutas (MERCALI *et al.*, 2011) e compostos dissolvidos como os açúcares (LUZ *et al.*, 2012). Os teores de sólidos solúveis totais podem diminuir com alguns fatores como clima e solo (PEREIRA *et al.*, 2006). Sendo assim, as polpas estavam com índice de maturidade e açúcares adequados.

Oliveira *et al.* (2014) avaliaram sete marcas de polpas de frutas congeladas na cidade de Mossoró-RN e obteve resultados satisfatório para sólidos solúveis de acordo com o padrão estabelecido. O resultado mínimo encontrado foi de 5,57 °brix e máximo de 8,27 °brix, resultados próximos desse trabalho.

Os resultados para sólidos totais (Tabela 2) mostram que todas as polpas estavam fora da IN 49/2018, exceto a marca A que estava de acordo. Apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre as marcas. Os sólidos totais são matérias suspensas ou diluídas existente em uma amostra, em alta temperatura essa água é evaporada e o resíduo deixado no recipiente após a evaporação são os sólidos totais (IAL, 2008). Essa análise em polpas de frutas tem como intenção avaliar se houve acréscimo

de água (GADELHA, 2009). Esses valores baixos de sólidos totais podem indicar adição de água no momento do processamento ou por fatores que interferem nas características das frutas tais como fatores naturais/ambientais no momento do plantio.

A IN 37/2018 não estabelece padrão para os parâmetros de umidade e cinzas. Mesmo sem apresentar padrões, foi realizado a análise de umidade e cinzas nas polpas de acerola, visto que são parâmetros importantes na determinação de alimentos.

As marcas das polpas de acerola apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) para os parâmetros de umidade e cinzas. Conforme mostra a Tabela 2, a marca A apresentou menor umidade, conseqüentemente maior teor de sólidos totais e cinzas, isso quer dizer que essas polpas continham menor quantidade de água e maior quantidade de sólidos totais e minerais. Segundo a tabela TACO (2011), a polpa de acerola congelada tem valor de umidade de 93,6% e cinzas de 0,3%, valores próximos encontrados no presente trabalho. Canuto *et al.* (2010) caracterizaram polpas de acerola da Amazônia e obtiveram valores de 97,5% de umidade, conseqüentemente valores baixos de sólidos totais. Nascimento *et al.* (2018) obtiveram média de 95,67% para polpa de acerola artesanal e 93,61% para polpa de acerola industrial congeladas.

A análise de umidade corresponde à perda em peso tolerada pelo produto quando aquecido em condições nas quais a água é retirada. No momento da análise não é somente a água a ser retirada, assim como outras substâncias que se volatilizam nessas condições (IAL, 2008). Já o teor de cinzas determina o resíduo inorgânico restante da queima da matéria orgânica. A composição das cinzas são substâncias minerais presentes no alimento (GADELHA *et al.*, 2009).

Tabela 2 - Resultados das análises centesimal de polpa de frutas congelada de quatro diferentes marcas (A, B, C e D) comercializadas em Guanambi- BA, 2018

Marcas	ST (%)	Umidade (%)	Cinzas (%)
A	6,32 ± 0,16 ^a	93,57 ± 0,05 ^b	0,41 ± 0,06 ^a
B	5,76 ± 0,63 ^{ab}	94,24 ± 0,63 ^a	0,34 ± 0,05 ^{ab}
C	5,22 ± 0,07 ^b	94,78 ± 0,07 ^a	0,28 ± 0,01 ^b
D	5,44 ± 0,22 ^{ab}	94,56 ± 0,22 ^a	0,29 ± 0,04 ^b
IN 49/2018 (mín)	6,00	--	--

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: Instrução Normativa nº 49, de 26 de setembro de 2018 (IN 37/2018). mín- mínimo que a legislação estabelece. ST- Sólidos totais

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Análise microbiológica

Os dados da análise microbiológica foram comparados com a Instrução Normativa MAPA nº 1, de 07 de janeiro de 2000 revogada pela Instrução Normativa nº 49, de 26 de setembro de 2018 (IN 49/2018), com alteração mínima dos padrões estabelecidos. Os resultados da análise microbiológica estão apresentados na Tabela 3.

Todos os resultados (Tabela 3) de coliformes totais e termotolerantes foram negativos, ou seja, estavam de acordo com a IN 49/2018. Esses microrganismos são indicadores de condições de higiene sanitária inadequada durante o processamento, sendo assim podemos perceber que no momento do processamento das polpas foram realizados todos os procedimentos adequados para evitar contaminação por esse microrganismo.

Os fungos filamentosos e leveduras estavam ausentes nas polpas (Tabela 3), estando de acordo com a IN 49/2018 que permite 5×10^3 desses em polpas. Quando determina quantidades elevadas desse microrganismo em polpas de frutas indica falhas nas condições higiênicas sanitária no processamento (SILVA, 2002). Essa análise é importante, pois os fungos produzem micotoxinas e traz riscos à saúde humana quando consumidos (IAMANAKA *et al.*, 2010). Santos e Nascimento (2014) avaliaram características higiênicas sanitárias de polpas de frutas de acerola e apresentaram valores de fungos filamentosos e leveduras em desacordo com a legislação, com valores que variam de 4×10^4 a $1,28 \times 10^7$ UFC/g. Resultados este que indica condições higiênicas sanitárias precárias no processamento, resultado diferente do presente trabalho que estava ausente.

Tabela 3 - Resultado das análises microbiológicas de polpa de fruta de acerola comercializadas em Guanambi- Bahia, 2018.

Marcas	Coliformes termotolerantes (NMP/g)	Coliforme totais (NMP/g)	Fungos e leveduras (UFC/g)	<i>Salmonella</i> (UFC/g)	<i>Staphylococcus</i> (UFC/g)
A	< 3	< 3	< 10	Ausente	< 10
B	< 3	< 3	< 10	Ausente	< 10
C	< 3	< 3	< 10	Ausente	< 10
D	< 3	< 3	< 10	Ausente	< 10
IN 49/2018	< 10^2	--	5×10^3	Ausente	--

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: Instrução Normativa nº 49, de 26 de setembro de 2018 (IN 49/2018). NMP: Número mais provável; UFC: Unidades formadoras de colônias.

Como mostrado na Tabela 3, os resultados obtidos na determinação de *Salmonella* mostraram que todas as amostras estavam dentro da IN 49/2018 que deve ser ausente/ 25 g. A *Salmonella* é uma bactéria que está presente no solo, alimentos, água e fezes; o seu habitat natural é o intestino de humanos e animais (SHINOHARA *et al.*, 2008).

A legislação não estabelece o padrão para *Staphylococcus*, entretanto dada a importância deste microrganismo realizou-se a análise do mesmo, os resultados obtidos nesse trabalho demonstraram que as polpas de frutas estudadas estavam ausentes deste microrganismo. A presença do *Staphylococcus* indica hábitos de higiene incorretos dos manipuladores de alimentos, devido a bactéria ser encontrados na pele, orofaringe e nasofaringe do ser humano e ser facilmente contaminados os alimentos (XAVIER *et al.*, 2007).

Conclusão

Com a realização das análises físico química, verificou-se que todas as marcas apresentaram os padrões de identidade e qualidade exigidos, exceto para o parâmetro de sólidos totais em que apenas a marca A apresentou conformidade com a legislação vigente. Na análise microbiológica, nenhuma das amostras apresentaram contaminação.

Agradecimentos

Ao Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia Baiano – *Campus* Guanambi, pela realização das análises físico-químicas, centesimal e microbiológicas.

A FAPESB pela bolsa de mestrado e CNPQ pela bolsa de doutorado concedida.

Referências

- ADRIANO, E.; LEONEL, S.; EVANGELISTA, R. M. Qualidade de fruto da aceroleira cv. Olivier em dois estádios de maturação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 541–545, 2011.
- BASTOS, M. S. R. **Frutas minimamente processadas: aspectos de qualidade e segurança**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. 2007.
- BAUER, V. R. P.; WALLY, A. P.; PETER, M. Z. **Tecnologia de frutas e hortaliças**: Programa Rede e-Tec Brasil. Pelotas: IFSUL/UFRN, 2014.
- BRASIL, A. S. *et al.* Evaluation of physicochemical quality of frozen fruit pulp marketed in the city of Cuiabá-MT. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 1, p. 167–175, 2016.



BRASIL. Instrução Normativa nº 1, de 7 janeiro de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpas e sucos de frutas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 07 jan. 2000. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/in-no-1-de-7-de-janeiro-de-2000.doc/view>. Acesso em 17 de mar, 2021.

BRASIL. Instrução Normativa de Nº 49, de 26 de setembro de 2018. Complementação dos Padrões de Identidade e Qualidade de Suco e Polpa de Fruta, na forma desta Instrução Normativa. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 27 set. 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/bebidas>. Acesso em 17 de mar, 2021.

BRASIL. Instrução Normativa de Nº 37 de 01 de outubro de 2018. Parâmetros analíticos de suco e de polpa de frutas e a listagem das frutas e demais quesitos complementares aos padrões de identidade e qualidade. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 08 out. 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/bebidas>. Acesso em 17 de mar, 2021.

CAETANO, P. K.; DAIUTO, É. R.; VIEITES, R. L. Característica físico-química e sensorial de geleia elaborada com polpa e suco de acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 3, p. 191–197, 2012.

CANUTO, G. A. B. *et al.* Caracterização físico-química de polpas de frutos da amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196–1205, 2010.

CASTRO, T. M, N. *et al.* Parâmetros de qualidade de polpas de frutas congeladas. **Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 74, n. 4. p. 426-36, 2015.

COELHO, C. M. M. *et al.* Effect of phytate and storage conditions on the development of the “hard-to-cook”. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 1243, p. 1237–1243, 2007.

FREITAS, R. V. DA S. *et al.* Quality profile of fruit pulps commercialized in the municipality of Limoeiro do Norte, Ceará State, Brazil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. 1–19, 2020.

FURTADO, A. A. L. *et al.* **Pasteurização da Polpa de Acerola Cultivada sob Sistema Orgânico**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 2009. (EMBRAPA. Comunicado Técnico, 149).

GADELHA, A.J.F *et al.* Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de abacaxi, acerola, cajá e caju. **Revista Caatinga**, v.22, n.1, p.115-118, 2009.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. 4ª ed. São Paulo, 1º Ed. digital, 2008.

IAMANAKA, B. T; OLIVEIRA, I. S; TANIWAKI, M. H. Micotoxinas em Alimentos. *In*: ACADEMIA PERNAMBUCANA DE CIÊNCIA AGRONÔMICA, 7., 2010, Recife. **Anais [...]**, Recife, 2010. p.138-161.

LUZ, B. *et al.* Avaliação do teor de sólidos solúveis totais (°Brix) em polpas de acerola, cajá e graviola in natura e processada. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA*, 52., 2012, Recife. **Anais [...]**, Recife, 2012.

MACIEL, M. I. S. *et al.* Caracterização físico-química de frutos de genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 865–869, 2010.

MALEGORI, C. *et al.* Talanta Comparing the analytical performances of Micro-NIR and FT-NIR spectrometers in the evaluation of acerola fruit quality , using PLS and SVM regression algorithms. **Talanta**, v. 165, n. December 2016, p. 112–116, 2017.

MATTA, V. M. DA *et al.* **Polpa de fruta congelada**. Brasília : Embrapa Informação Tecnológica, 2005.

MERCALI, G. D. *et al.* Ascorbic acid degradation and color changes in acerola pulp during ohmic heating: Effect of electric field frequency. **Journal of Food Engineering**, v. 123, n. 2014, p. 1–7, 2014.

MERCALI, G. D. *et al.* Physical properties of acerola and blueberry pulps. **Journal of Food Engineering**, v. 106, n. 4, p. 283–289, 2011.

NASCIMENTO, J. F. DO *et al.* Análise físico-química de polpas de acerola (*Malpighia glabra* L.) artesanais e industriais congeladas. **Pubvet**, v. 12, n. 6, p. 1–6, 2018.

OLIVEIRA, T. A. *et al.* Avaliação da qualidade físico-química de polpas de frutas congeladas na cidade de Mossoró-RN Quality assessment physical-chemistry pulps fruits frozen in city of Mossoró-RN. **Revista Verde**, v. 9, n. 2, p. 248–255, 2014.

ORQUEDA, M. E. *et al.* Physicochemical, microbiological, functional and sensory properties of frozen pulp of orange and orange-red chilito (*Solanum betaceum* Cav.) fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 276, n. Set 2020, 2021.

PEREIRA, J. M. A. T. K. *et al.* Avaliação da qualidade físico-química, microbiológica e microscópica de polpas de frutas congeladas comercializadas na cidade de Viçosa-MG. **Alimentos e Nutrição**. v.17, n.4, p.437-42, 2006.

PRAKASH, A.; BASKARAN, R. Acerola, an untapped functional superfruit: a review on latest frontiers. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 9, p. 3373–3384, 2018.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. 2º ed. São Paulo: Blucher, 2007.

SANTOS, W. C; NASCIMENTO, A. R. Caracterização Microbiológica de Polpas de Quatro Frutas Regionais Comercializadas nas Feiras de São Luís / MA. **Caderno de Pesquisa**, v. 21, n. especial, p. 7, 2014.

SEBRAE. **O cultivo e o mercado da acerola**. Virtual Books, 2013. Disponível em: <https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-da-acerola>. Acesso em 28 mai. 2020.



SHINOHARA, N. K. S *et al.* *Salmonella spp.*, importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & saúde coletiva**. v.13, n.5, p.1675-1683, 2008.

SILVA, M. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate**. 2002. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2002.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. de A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001.

SOUSA, Y. A. *et al.* Physicochemical and microbiological assessment of frozen fruit pulps marketed in Santarém-PA. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, p. 1–10, 2020.

SOUZA, P. F. PROGNÓSTICO 2020. **Departamento de Economia Rural – DERAL**, 2020.

TACO - **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4. ed. Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011.

XAVIER, C. A. C. *et al.* Prevalência de *Staphylococcus aureus* em manipuladores de alimentos das creches municipais da cidade do Natal/RN. **Revista brasileira de análises clínicas**, v. 9, n. 3, p. 165–168, 2007.

18 Capítulo

Caracterização
de polpa e resíduo
do despolpamento
de jamelão
(*Syzygium cumini*)

Capítulo 18

Caracterização de polpa e resíduo do despulpamento de jamelão (*Syzygium cumini*)

Victor Augusto Dias de Carvalho¹; Jeferson dos Santos Silva²; Amanda Maria da Silva¹; Gerson de Freitas Silva Valente³; Gilma Auxiliadora Santos Gonçalves³; Patrícia Érica Fernandes*⁴

Resumo

O Jamelão (*Syzygium cumini*) é uma fruta de coloração roxa escura que apresenta elevada atividade antioxidante em função dos altos teores de compostos fenólicos como a antocianina. O objetivo deste trabalho foi determinar as características físico-químicas e composição centesimal da polpa de jamelão como pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis totais (SST), cor, teor de umidade, proteínas, lipídeos, cinzas e minerais, além de determinar o teor de compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante da polpa de jamelão e resíduo do despulpamento. A polpa de jamelão apresentou pH de 3,56, acidez titulável de 0,69%, teor de SST de 12,4 °Brix, 83,5% de umidade, 0,68% de proteína, 0,61% de lipídeos, 0,33% de cinzas e 14,86% de carboidratos. O mineral mais abundante na polpa de jamelão foi o potássio, seguido do enxofre, cálcio, magnésio, fósforo, ferro, manganês, zinco, cobre e boro. O teor de compostos fenólicos totais foi maior ($p < 0,05$) no resíduo do despulpamento ($138,5 \pm 4,5$ mg EAG/100 g) do que na polpa ($50,9 \pm 6,6$ mg EAG/100 g). A atividade antioxidante também foi superior ($p < 0,05$) no resíduo do despulpamento do que na polpa pelos métodos DPPH e ABTS. Já o teor de antocianina foi maior na polpa ($148,5 \pm 27,0$ mg/100 g) em relação ao resíduo do despulpamento ($85,4 \pm 9,9$ mg/100 g). Com base nos resultados, esforços devem ser feitos para melhor aproveitamento do fruto do jamelão e resíduo do despulpamento com propriedades bioativas.

Palavras-chave: Aproveitamento integral. Compostos bioativos. Fitoquímicos.

¹ Estudante de graduação, Núcleo de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, *Campus* Barbacena, Barbacena, MG.

² Doutorando em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

³ Docente, Núcleo de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, *Campus* Barbacena, Barbacena, MG.

⁴ Docente, Departamento Acadêmico, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas, *Campus* Batalha, Batalha, AL.

*E-mail para correspondência: patricia.fernandes@ifal.edu.br

Introdução

O jamelão ou jambolão (*Syzygium cumini*) é um fruto tropical pertencente à família *Myrtaceae*, sendo também conhecido popularmente por outros nomes como cereja, jalão, kambol, jambu, jambul, azeitona-do-nordeste, ameixa-roxa, azeitona, baga-de-freira, guapê, jambuí e azeitona-da-terra (VIZZOTTO; PEREIRA, 2008). É amplamente encontrado no subcontinente da Ásia e em outros países tropicais (AHMED *et al.*, 2020), como o Brasil.

O jamelão é uma fonte rica em antioxidantes naturais, vitaminas e minerais com propriedades nutracêuticas e medicinais (JAISWAL; PATEL; NAIK, 2015). Encontra-se no jamelão algumas substâncias químicas denominadas fitoquímicos, que são substâncias naturalmente produzidas pelas plantas, com o objetivo de protegê-las de doenças e pragas e na adaptação ao ambiente (VIZZOTTO; FETTER, 2009). Essas substâncias podem contribuir para o tratamento eficaz de várias doenças, considerando seu elevado potencial farmacológico (SENTHILKUMAR; GOWRI; VADIVEL, 2017). Além disso, as diferentes partes do jamelão são ricas em compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas, atividade antioxidante e composição mineral, com abundância de K, P e Ca, seguidos de Mg, Na e Fe, respectivamente, indicando que a fruta é uma junção de fitoquímicos promotores de saúde e os principais elementos minerais (SARTAJ *et al.*, 2013).

Existe um interesse crescente por fontes alternativas de matéria-prima com atributos funcionais e propriedades bioativas, o que justifica estudar o potencial do uso de frutas regionais como o jamelão (LAGO; GOMES; SILVA, 2006) e suas sementes, que são uma boa fonte de compostos bioativos e antioxidantes, as quais normalmente são descartadas (AHMED *et al.*, 2020). De acordo com Deng *et al.* (2012), o elevado consumo e a industrialização das partes comestíveis de frutas geram grandes quantidades de resíduos, principalmente cascas e sementes, causando sérios problemas ambientais. Os resíduos de frutas apresentam normalmente elevado valor nutritivo e seu aproveitamento é fundamental do ponto de vista nutricional, econômico, social e ambiental.

A caracterização do jamelão e seus resíduos pode elevar o interesse comercial desses produtos por demonstrar seu conteúdo de bioativos e efeitos benéficos (OLIVEIRA *et al.*, 2021). Deste modo, o objetivo deste trabalho foi determinar as características físico-químicas, composição centesimal e teor de minerais da polpa de jamelão, além de determinar o teor compostos fenólicos totais, antocianinas e a capacidade antioxidante da polpa e resíduo do despulpamento.

Material e Métodos

Os frutos de Jamelão (*Syzygium cumini*), foram colhidos manualmente na zona rural de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, em fevereiro de 2017. Após seleção, os frutos foram lavados em água corrente para remoção de sujidades grosseiras e em seguida sanitizados com 200 mg/L de solução de hipoclorito de sódio por 10 min. Em seguida, os frutos foram acondicionados em sacos plásticos protegidos da luz e congelados a -18 °C. Os frutos foram transportados para o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais (IF Sudeste MG), *Campus* Barbacena, em caixa térmica com gelo e mantidos congelados até o momento do despulpamento. A polpa (casca + porção carnosa) de jamelão foi obtida no setor de Processamento de Vegetais, do IF Sudeste MG, *Campus* Barbacena. Antes do despulpamento, os frutos foram branqueados pela exposição ao vapor por 1 min, para inativação de enzimas, em seguida, foram despulpados utilizando despulpadeira (LINHA NOBRE DES-60). A polpa e o resíduo obtido do despulpamento foram acondicionados, separadamente, em sacos plásticos, sob abrigo da luz e congelados a -18 °C até o momento das análises.

Para a determinação do pH e acidez titulável foram pesados 5,0 g da amostra e diluídas em 45 mL de água destilada. Após homogeneização e filtração da amostra, o pH foi determinado utilizando pHmetro (TEKNA T-1000). Em seguida, a acidez titulável foi determinada por titulação potenciométrica com NaOH 0,1 mol/L, até que a amostra apresentasse pH de 8,4, utilizando pHmetro (TEKNA T-1000). O teor de sólidos solúveis totais (SST) foi determinado com o auxílio de um refratômetro digital Instruterm, com escala 0-45 °Brix.

A cor da polpa de jamelão foi determinada utilizando o colorímetro Konica Minolta, modelo CR-400, sistema de cor CIELAB, em triplicata, onde L* indica a luminosidade do branco ao preto, o a* indica o eixo de cromaticidade do verde (-) ao vermelho (+) e o b* indica o eixo de cromaticidade do azul (-) ao amarelo (+).

O teor de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas foram determinados de acordo com a metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). O teor de umidade foi determinado utilizando o método gravimétrico de secagem em estufa a 105 °C até obtenção de peso constante. O teor de proteínas foi determinado pelo método de Kjeldahl. A conversão do teor de nitrogênio em proteínas foi feita utilizando o fator de conversão de 6,25. O teor de lipídeos foi determinado pelo método de Soxhlet, utilizando éter de petróleo como solvente e o teor de cinzas por incineração em mufla a 550 °C até a obtenção de cinzas claras. O teor de carboidratos totais foi determinado pela

diferença do valor obtido pela soma de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas, conforme a Equação 1.

$$\text{Carboidratos} = 100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ proteínas} + \% \text{ lipídeos} + \% \text{ cinzas}) \quad (\text{Eq. 1})$$

A determinação de minerais foi realizada no Laboratório de Solos do IF Sudeste MG, *Campus Barbacena*. As análises foram realizadas de acordo com os métodos analíticos padrões do Programa Interlaboratorial de Análises em Tecidos Vegetais (PIATV) (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997; RAIJ *et al.*, 1997). Para análise de minerais a polpa foi previamente seca em estufa com circulação forçada de ar a uma temperatura entre 65 a 70 °C por 5 dias. Após secagem, as amostras foram moídas e realizada a digestão nítrico-perclórica das amostras utilizando uma mistura de ácido nítrico (HNO₃) e ácido perclórico (HClO₄) na proporção de 4:1, em bloco digestor com aumentos gradativos da temperatura. Para análise de Fe, Mn, Cu e Zn foi feita a leitura por meio de absorção atômica utilizando o equipamento ThermoScientific, modelo iCE 3000 Series. Para análise de Ca e Mg, foram misturados 0,5 mL de amostra e 9,5 mL de SrCl₂ a 1600 ppm, e realizou a leitura por meio de absorção atômica pelo mesmo equipamento. Para análise de P pipetou 4 mL do extrato nítrico-perclórico, 6,0 mL de água deionizada e 4,0 mL de metavanadim. Após 30 min, foi feita a leitura no espectrofotômetro UV-vis a 420 nm. Para análise de K, pipetou-se 1,0 mL do extrato nítrico-perclórico, 9,0 mL de água deionizada, e foi feita a leitura em espectrofotômetro de chama. Para análise de S, juntou-se 10 mL do extrato nítrico-perclórico, 1,0 mL da solução de HCl 6,0 mol/L e 0,5 g de cristais de BaCl₂.2H₂O, agitou-se por cerca de 30 s e foi feita a leitura em espectrofotômetro UV-vis a 420 nm. Para análise de boro (B) a amostra foi incinerada em mufla a 550 °C, adicionada de 10 mL de HCl 0,1 mol/L, e após 1 h de repouso, 1,0 mL do sobrenadante foi retirado, adicionado de 1,0 mL de tampão buffer e Azometina H, após 30 min foi feita a leitura em espectrofotômetro UV-vis em 420 nm. A partir dos resultados obtidos, foi possível calcular as contribuições percentuais (% IDR) dos minerais em relação à Ingestão Diária Recomendada (IDR) para um adulto (BRASIL, 2005).

As análises para determinação de compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante foram realizadas no Laboratório de Pigmentos e Compostos Bioativos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa. Primeiramente, foram preparados os extratos pela homogeneização da polpa de jamelão ou resíduo do despulpamento com solução de etanol 70% (v/v), na proporção de 1:3 (massa/solvente) utilizando mix. Em seguida foi realizada a acidificação com HCl 0,1 mol/L até pH em torno de 2,0. Após esta etapa, a amostra foi deixada em

repouso por um período de 24 h, em ausência de luz e sob refrigeração ($4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$). Por fim, a mistura foi filtrada em papel Whatman n^o 1 à vácuo, em funil de Buchner e concentrada em rotavapor.

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado seguindo a metodologia citada por Singleton e Rossi (1965). Para tanto, 0,6 mL dos extratos previamente diluídos reagiram com 3,0 mL de Folin-Ciocalteu, previamente diluído em água destilada (1:10 v/v), após 3 min de repouso ao abrigo da luz, foi adicionado 2,4 mL de solução saturada de carbonato de sódio (7,5% (m/v)). Após repouso de 60 min ao abrigo da luz, foram determinadas as absorvâncias a 760 nm em espectrofotômetro (Kazuaki IL227). Previamente à análise das amostras, foi elaborada uma curva analítica com padrão de ácido gálico em concentrações graduais de 0 a 200 mg/L. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 g de amostra (mg EAG/100 g).

O teor de antocianinas totais foi determinado por absorção molecular na região do visível de acordo com Lee e Francis (1972). Alíquotas do extrato foram diluídas em etanol:HCl 1,5 mol/L (85:15 v/v) e a absorvância determinada no comprimento de onda de 535 nm utilizando espectrofotômetro (Kazuaki IL227). As diluições foram realizadas de modo que a absorvância ficasse entre 0,2 a 0,8, respeitando a lei de Lambert-Beer. O teor de antocianinas foi determinado utilizando a Equação 2.

$$C' = \frac{(A \times FD)}{(\epsilon_{lcm} \times b)} \quad (\text{Eq. 2})$$

Em que: A = absorvância em 535 nm; ϵ_{lcm} = coeficiente de absorvância (98,2 L/cm/g); b = espessura da cubeta (1 cm); C' = concentração da amostra (g/L); FD = Fator de diluição do extrato para leitura.

A atividade antioxidante foi determinada pelo método fotocolorimétrico do radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil). Este método se baseia no sequestro de radicais de DPPH pelos antioxidantes presentes nas amostras que produzem uma diminuição da absorção do radical DPPH medida a 515 nm (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995). Em um tubo de ensaio foram adicionadas alíquotas de 0,5 mL dos extratos previamente diluídos e adicionados de 3,5 mL da solução de radical de DPPH. Após repouso por 60 min ao abrigo da luz foram determinadas as absorvâncias a 517 nm utilizando espectrofotômetro (Kazuaki IL227). Previamente à leitura das amostras, foi elaborada uma curva analítica de Trolox (25 a 250 $\mu\text{mol/L}$) nas mesmas condições das amostras e os resultados foram expressos em μmol de trolox/100 g de amostra (TEAC – Capacidade antioxidante equivalente a Trolox).

A atividade antioxidante também foi determinada pelo ensaio do cátion radical ABTS, segundo metodologia descrita por Re *et al.* (1999), com modificações. O radical foi obtido por meio da reação de solução de ABTS (7 mmol/L) e persulfato de potássio (2,45 mmol/L). Em um tubo de ensaio, foram adicionados 0,5 mL dos extratos previamente diluídos e 3,5 mL de solução de radical ABTS e a absorbância foi determinada a 734 nm após 6 min de repouso ao abrigo da luz. Previamente à determinação das amostras foi elaborada uma curva analítica de Trolox (0 a 0,15 $\mu\text{mol/L}$) nas mesmas condições das amostras e os resultados foram expressos em μmol de trolox /100 g de amostra (TEAC – Capacidade antioxidante equivalente a Trolox).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os dados obtidos nas análises físico-químicas e composição centesimal foram submetidos à análise estatística descritiva, calculando-se os valores médios e desvio padrão de cada parâmetro estudado. Os experimentos foram realizados em triplicata e duas repetições. Já os dados referentes ao teor de compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante foram submetidos à análise de variância e uma vez verificada a significância da interação F da ANOVA, foi realizado o teste Tukey com 5% de probabilidade para comparação de médias utilizando-se o programa SISVAR versão 5.6.

Resultados e Discussão

Os resultados das análises físico-químicas e composição centesimal da polpa de jamelão se encontram na Tabela 1.

O valor médio do pH encontrado foi de 3,56, indicando que o jamelão é uma fruta ácida. Este valor foi ligeiramente inferior aos encontrados por Soares (2015), em que o pH dos frutos colhidos em diferentes localidades de Goiânia-GO variou de 3,72 a 3,85. O pH obtido também foi inferior aos valores encontrados por Santos *et al.* (2020) e por Seraglio *et al.* (2018) que encontraram pH de 4,12 e 4,26, respectivamente. A medida de pH em alimentos é importante para determinar a deterioração do alimento, atividades enzimáticas e estado de maturação das frutas.

O percentual encontrado para acidez titulável no jamelão foi de 0,69%, como mostrado na Tabela 1. O valor obtido está próximo ao encontrado por Santos *et al.* (2020), que foi de 0,65%, em frutos colhidos em Viçosa-MG, mesma cidade do presente estudo. Este valor está próximo ao encontrado por Soares (2015), em que a acidez dos frutos provenientes de diferentes regiões de Goiânia-GO variou de 0,49% a 0,69%.



Tabela 1 - Características físico-química e composição centesimal de polpa de jamelão

Análises	Valor médio e desvio padrão
pH	3,56 ± 0,28
AT (% m/m de ácido cítrico)	0,69 ± 0,01
SST (°Brix)	12,4 ± 0,14
SST/AT	17,98 ± 0,05
Umidade (% m/m)	83,5 ± 0,54
Proteína (% m/m)	0,68 ± 0,03
Lipídeos (% m/m)	0,61 ± 0,22
Cinzas (% m/m)	0,33 ± 0,02
Carboidratos (% m/m)	14,86 ± 0,77

Fonte: Dos autores, 2017.

Legenda: AT = acidez titulável. SST = sólidos solúveis totais e SST/AT = Relação sólidos totais/acidez titulável.

Nota: As análises foram realizadas em triplicatas e em duas repetições.

O teor de sólidos solúveis, expresso em °Brix, é usado como índice dos açúcares em frutos, dando um indicativo do seu grau de maturação (PAGANINI *et al.*, 2004) e pode ser utilizado para determinar o ponto ideal de colheita. Como pode ser visto na Tabela 1, o teor de SST encontrado na polpa de Jamelão foi de 12,4 °Brix, estando dentro da faixa encontrada por Soares (2015), que variou de 10,81 a 14,12 °Brix nas polpas de jamelão de diferentes localidades de Goiânia-GO. O teor de SST encontrado foi semelhante ao reportado por Santos *et al.* (2020), que foi de 12,93 °Brix e superior ao encontrado por Seraglio *et al.* (2018), que determinaram 10,50 °Brix em frutos maduros de jamelão.

Entre as características físicas e químicas do fruto e polpa importantes para as indústrias, destacam-se os teores de SST, a AT e a relação entre SST/AT (SOARES, 2015). A relação SST/AT foi de 17,9, corroborando com os resultados encontrados por Soares (2015) em polpas de jamelão de diferentes regiões de Goiânia, em que a relação SST/AT variou de 16,20 a 26,71. Já em trabalho realizado por Sá (2008), a relação SST/AT foi de 13,35, estando abaixo do valor encontrado neste trabalho. A relação SST/AT é útil na determinação de estádios de maturação de frutas, pois esta relação tende a aumentar com o avanço do estágio de maturação do fruto (ABREU *et al.*, 2009). De acordo com Pinto (2003), a relação SST/AT propicia uma boa avaliação do sabor dos frutos, sendo mais representativa do que a medição isolada de açúcares e de acidez.

A polpa de jamelão apresentou alto teor de umidade e baixo teor de proteínas e lipídeos (Tabela 1). O teor de umidade encontrado (83,5%) corrobora com o valor obtido por Santos *et al.* (2020), que foi de 83,51% e com o encontrado por Wasswa, Tumuhimbise e Acham (2019), em polpa

de jamelão obtido em Kampala, Uganda, que foi de 83,3%. Em pesquisa realizada por Barcia *et al.* (2012), em frutas *in natura* de jamelão provenientes de diferentes cidades do Rio Grande do Sul, a umidade variou de 81,7% a 83,9%. De acordo com Sá (2008), devido ao elevado teor de umidade, o jamelão pode ser uma interessante matéria-prima para fabricação de sucos e/ou néctares.

O teor de proteínas encontrado foi de 0,68%, corroborando com o valor obtido por Lago, Gomes e Silva (2006), que foi de 0,67%. Em experimento realizado por Barcia *et al.* (2012), o teor de proteínas na polpa de jamelão variou de 0,73 a 0,91%. Entretanto, os valores encontrados por Santos *et al.* (2020) e por Wasswa, Tumuhimbise e Acham (2019) foram de 5,62% e 1,81%, respectivamente, sendo superiores ao encontrado neste trabalho. O teor de proteína encontrado na polpa de jamelão está dentro da faixa encontrada por Bramont *et al.* (2018), em que teor de proteína variou de 0,47% na seriguela a 1,41% na atemoia, ao analisarem a composição centesimal de dez diferentes frutas. O teor de lipídeos encontrado foi de 0,68% (Tabela 1), sendo inferior ao encontrado por Santos *et al.* (2020), que foi de 0,97% e superior ao determinado por Wasswa, Tumuhimbise e Acham (2019), que foi de 0,53%.

O teor de cinzas encontrado foi de 0,33% (Tabela 1), sendo muito próximo do valor obtido por Vizzotto e Fetter (2009) que foi de 0,34%. Em trabalho realizado por Barcia *et al.* (2012), em diferentes cidades do Rio Grande do Sul, o conteúdo de cinzas variou de 0,35 a 0,42%. Já os teores de cinzas encontrados por Wasswa, Tumuhimbise e Acham (2019) e por Santos *et al.* (2020), foram superiores, 2,03% e 1,38%, respectivamente.

A cor é um importante atributo de qualidade, e a sua determinação é muito útil para correlacionar com a concentração de pigmentos presentes nas frutas (CHIM, 2008). A coordenada L* representa quanto mais clara ou mais escura é a amostra, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca). A coordenada a* pode assumir valores de -80 a +100, em que os extremos correspondem ao verde e ao vermelho, respectivamente. Valores positivos desta coordenada indicam coloração mais avermelhada, enquanto valores negativos indicam uma coloração mais esverdeada. A coordenada b*, indica a intensidade do azul ao amarelo e pode variar de -50 (totalmente azul) a +70 (totalmente amarelo).

O parâmetro L* encontrado foi de $21,48 \pm 0,12$, indicando que a polpa de jamelão utilizada neste experimento foi ligeiramente mais escura em relação às polpas analisadas por Barcia *et al.* (2012) em que o valor médio de L* variou de 23,11 a 25,46. Também foi mais escura do que as polpas de jamelão de diferentes regiões de Goiânia-GO, em que o valor de L* variou de 31,46 a 34,59 (SOARES, 2015). O parâmetro a* foi de $16,27 \pm 2,29$ indicando a predominância da coloração

vermelha. Este valor foi superior ao encontrado por Barcia *et al.* (2012), em que a* variou de 8,41 a 12,29 e por Soares (2015), que encontrou valores entre 7,86 a 10,49. Já o parâmetro b*, apresentou valor médio de $-1,54 \pm 0,30$ que tende a uma cor azulada, característica de frutos que contém pigmentos antociânicos (SOARES, 2015). Esse valor foi superior ao encontrado por Barcia *et al.* (2012), em que b* variou de - 7,22 a - 6,57 e por Soares (2015), em que b* variou de - 5,36 a - 3,36, apresentando-se mais azuladas em relação à polpa utilizada neste experimento.

Os teores de minerais encontrados na polpa de jamelão estão descritos na Tabela 2, assim como as contribuições percentuais em relação à IDR.

Tabela 2 - Teor de macrominerais (K, Ca, Mg, P e S) e microminerais (Fe, Mn, Zn, Cu e B) presentes na polpa de jamelão em base seca e em base úmida

Minerais	IDR*	Polpa (mg/100 g de amostra seca)	% IDR	Polpa (mg/100 g de amostra úmida)	% IDR
Macrominerais					
K	2500**	881,3 ± 2,31	35,3	145,42 ± 0,38	5,82
Ca	1000	108,0 ± 3,61	10,8	17,82 ± 0,59	1,78
Mg	260	101,7 ± 1,53	39,1	16,78 ± 0,25	6,45
P	700	90,0 ± 0,00	12,9	14,85 ± 0,00	2,12
S	500**	670,0 ± 62,45	134,0	110,6 ± 10,30	22,1
Microminerais					
Fe	14	3,3 ± 0,08	23,4	0,54 ± 0,01	3,85
Mn	2,3	1,1 ± 0,49	47,8	0,18 ± 0,08	7,87
Zn	7	1,0 ± 0,08	14,4	0,17 ± 0,01	2,37
Cu	0,9	0,52 ± 0,01	57,8	0,09 ± 0,00	9,63
B	1,8**	0,20 ± 0,08	11,1	0,03 ± 0,01	1,83

Fonte: Dos autores, 2017.

Legenda: IDR = Ingestão Diária Recomendada (mg/dia) e % IDR = contribuições percentuais em relação a IDR.

Nota: * valor estabelecido pela RDC nº 269 de 2005. ** valor citado por Viana, Rufini e Guedes (2015).

Necessários em pequenas quantidades, os minerais são categorizados como macronutrientes quando necessários em quantidades maiores do que 100 mg/dia e micronutrientes, quando necessários em menores quantidades (< 100 mg/dia) (SAEED; KAUSER; IQBAL, 2018). De acordo com a portaria nº 27 de 1998 da Anvisa, o alimento sólido é considerado fonte de mineral quando o consumo de 100 g supre, no mínimo, 15% da IDR e de alto teor quando supre, pelo menos, 30% da IDR. Como

pode ser observado na Tabela 2, a polpa de jamelão em base seca (desidratada) pode ser considerada fonte de Fe, além de apresentar alto teor de K, Mg, S, Mn e Cu, suprimindo acima de 30% da IDR destes minerais. Embora não seja considerada fonte de Ca, P, Zn e B, supriu, pelo menos, 10% da IDR desses minerais.

O macromineral presente em maior quantidade na polpa de Jamelão foi o K (Tabela 2). Este mineral também foi majoritário na polpa de jamelão em outros estudos (SAEED; KAUSER; IQBAL, 2018; SARTAJ *et al.*, 2013; SERAGLIO *et al.*, 2018; SÁ, 2008). O S foi o segundo macromineral mais abundante na polpa de jamelão, seguido do Ca, Mg e P. O Fe foi o micromineral mais abundante na polpa, seguido do Mn, Zn, Cu e B.

Os teores de minerais também foram discutidos em base úmida para facilitar a comparação com outros trabalhos que expressaram seus resultados na mesma base. Assim, a polpa de jamelão em base úmida pode ser considerada fonte apenas do S, suprimindo 22,1% da IDR (Tabela 2). São escassos na literatura os relatos sobre o teor de S e B em frutas, especialmente em frutos do jamelão. O teor de S encontrado na polpa de jamelão foi 2,2 vezes superior ao quantificado em frutos da cagaiteira (50,51 mg/100 g da fruta). Já o teor de B nos frutos da cagaiteira foi bem mais elevado (0,97 mg/100 g) (VIANA; RUFINI; GUEDES, 2015). Vale ressaltar que os teores de Fe, Mn, Zn e Cu na polpa de jamelão em base úmida estão dentro da faixa encontrada por Almeida *et al.* (2009), em onze diferentes frutas tropicais cultivadas no Nordeste brasileiro, em que o teor de Fe variou de 0,25 a 1,69 mg/100g, o teor de Mn variou de 0,03 a 1,35 mg/100 g, o teor de Zn de 0,03 a 0,46 mg/100 g e o teor de Cu variou de 0,02 a 0,29 mg/100 g.

Os teores de compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante da polpa de jamelão e do resíduo do despulpamento se encontram na Tabela 3. O teor de compostos fenólicos totais foi maior ($p < 0,05$) no resíduo do despulpamento ($138,5 \pm 4,5$ mg EAG/100 g) do que na polpa ($50,9 \pm 6,6$ mg EAG/100 g), sendo 172,1% maior. A atividade antioxidante também foi expressivamente maior ($p < 0,05$) no resíduo do despulpamento pelos dois métodos utilizados (DPPH e ABTS), em comparação com a polpa de jamelão. Esses resultados estão de acordo com os relatados por Santos *et al.* (2020) e Romero *et al.* (2016), que também encontraram maior quantidade de compostos fenólicos totais e maior atividade antioxidante nas sementes em relação à polpa de jamelão. Em trabalho realizado por Vizzotto e Pereira (2008), as sementes de jamelão apresentaram maiores concentrações de compostos fenólicos totais, carotenóides totais e atividade antioxidante em relação aos frutos, sendo que a concentração de compostos fenólicos e a atividade antioxidante foram, respectivamente, 29,47% e 58,14% maiores na semente quando comparadas aos frutos de jamelão.

Tabela 3 - Valores médios e desvio padrão do teor de fenólicos totais (mg EAG/100 g de extrato), antocianinas totais (mg de antocianinas/100 g de extrato) e atividade antioxidante (μmol de Trolox/g de extrato) da polpa de jamelão e do resíduo do despulpamento, pelos métodos DPPH e ABTS

	Amostras	
	Polpa de jamelão	Resíduo do despulpamento
Fenólicos Totais (mg EAG/100 g)	50,9 \pm 6,6 ^b	138,5 \pm 4,5 ^a
Antocianinas (mg antocianina/100 g)	148,5 \pm 27,0 ^a	85,4 \pm 9,9 ^b
DPPH (μmol de Trolox/g de extrato)	17,4 \pm 2,1 ^b	256,3 \pm 52,9 ^a
ABTS (μmol de Trolox/g de extrato)	108,4 \pm 15,8 ^b	630,4 \pm 78,2 ^a

Fonte: Dos autores, 2017.

Legenda: EAG = equivalente de ácido gálico.

Nota: Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

O teor de antocianinas foi maior ($p < 0,05$) na polpa do que no resíduo do despulpamento, com incremento de 73,88%. Esse resultado corrobora com os achados de Romero *et al.* (2016), que também encontraram maior quantidade de antocianinas na polpa de jamelão do que nas sementes. De acordo com Tavares *et al.* (2016), as antocianinas são compostos fenólicos importantes encontrados na fruta do jamelão e localizam-se principalmente na casca do fruto, sendo encontrada em menores quantidades na polpa. Deve-se ressaltar que no presente trabalho, a polpa foi constituída da casca mais a porção carnosa, justificando os elevados teores de antocianinas.

Conclusão

De modo geral, a polpa de jamelão do presente estudo, apresentou características físico-químicas e composição centesimal próximos aos valores relatados na literatura. A polpa em base úmida não apresentou teores consideráveis de minerais, sendo considerada fonte apenas de S. Já a polpa em base seca foi considerada fonte de vários minerais como K, Mg, S, Fe, Mn e Cu, sendo assim, produtos desidratados e concentrados devem ser considerados. Tanto a polpa quanto o resíduo do despulpamento são potenciais fontes de compostos bioativos e esforços devem ser feitos para o aproveitamento integral do fruto de jamelão e desenvolvimento de novos produtos para a indústria

alimentícia. O resíduo do despulpamento com propriedades bioativas pode ser explorado para obtenção de extratos com características funcionais e obtenção de farinhas de alta qualidade nutricional com aplicações na área de panificação, por exemplo.

Referências

ABREU, S. P. M. *et al.* Physical chemical characteristics of five genotypes of yellow passion fruit cultivated in Brasília. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 487-491, 2009. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/262497944>. Acesso em: 11 jun. 2021.

AHMED, S. *et al.* Proximate composition and antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit grown at different regions in Bangladesh, **Food Research**, v. 4, n. 5, p. 1693-1699, 2020. Disponível em: https://www.myfoodresearch.com/uploads/8/4/8/5/84855864/_39__fr-2020-162_ahmed.pdf. Acesso em: 11 jun. 2021.

ALMEIDA, M. M. B. *et al.* Avaliação de macro e microminerais em frutas tropicais cultivadas no nordeste brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 581-586, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/gVc7jDKBnQGVjFJsJ5Dn83x/?lang=pt>. Acesso em: 11 jun. 2021.

BARCIA, M. T. *et al.* Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Percent Composition of Jambolão Fruits (*Syzygium cumini*). **The Natural Products Journal**, v. 2, p. 129-138, 2012. Disponível em: <https://www.ingentaconnect.com/contentone/ben/npj/2012/00000002/00000002/art00012?crawler=true>. Acesso em: 11 jun. 2021.

BRAMONT, W. B. *et al.* Comparação da Composição Centesimal, Mineral e Fitoquímica de Polpas e Cascas de Dez Diferentes Frutas. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 4, p. 811-823, 2018. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/BramontNoPrelo.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2021.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie -LWT**, v. 28, p. 25-30, 1995. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643895800085>. Acesso em: 11 jun. 2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Ministério da Saúde. Portaria nº 27 de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. Disponível em: http://189.28.128.100/nutricao/docs/legislacao/portaria27_13_01_1998.pdf. Acesso em: 11 jun. 2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Ministério da Saúde. RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 de setembro de 2005. Disponível em: <https://coffito.gov.br/nsite/wp-content/uploads/2016/08/resolucao-rdc-n-269-2005-ingesto-diria-recomendada-idr-de-protenas-vitaminas-e-minerais.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2021.



CHIM, J. F. **Caracterização de compostos bioativos em amora-preta (*Rubus* sp.) e sua estabilidade no processo e armazenamento de geleias convencional e light.** 2008. 87f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, 2008.

DENG, G. F. *et al.* Potential of fruit wastes as natural resources of bioactive compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 7, p. 8308-8323, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22942704/>. Acesso em: 18 jul. 2021.

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

JAISWAL, S. G.; PATEL, M.; NAIK, S. N. Physico-chemical properties of *Syzygium cuminii* (L) Skeels jam and comparative antioxidant study with other fruit jams. **Indian Journal of Natural Products and Resources**, v. 6, n. 1, p. 9-15, 2015. Disponível em: [http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/31453/1/IJNPR%206\(1\)%209-15.pdf](http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/31453/1/IJNPR%206(1)%209-15.pdf). Acesso em 21 jun. 2021.

LAGO, E. S.; GOMES, E.; SILVA, R. Produção de geleia de jabolão (*Syzygium cumini* Lamarck): processamento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. **Revista Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 847-852, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/bjD9CmHGSH6rVZFbzm6pVD/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 11 jun. 2021.

LEE, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analysis in Cranberries. **Hortiscience**, v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas.** 2 ed. Piracicaba: Ed. Potafos, 1997.

OLIVEIRA, G. A. R. O. *et al.* Desenvolvimento de Farinha do Caroco de Jamelão (*Syzygium Cumini* L. Skeels): Capacidade Antioxidante, Compostos Fenólicos e Antocianinas. In: ANAIS DO SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DOS ALIMENTOS, 2017, Campinas. Anais eletrônicos [...] Campinas, Galoá, 2017. Disponível em: <https://proceedings.science/slaca/slaca-2017/papers/desenvolvimento-de-farinha-do-caroco-de-jamelao--syzygium-cumini-l--skeels---capacidade-antioxidante--compostos-fenolico#>. Acesso em: 18 jul. 2021.

PAGANINI, C. *et al.* Industrial fitness analysis of six apple cultivars, considering their physico-chemical evaluation. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 6, p. 1336-1343, 2004. Disponível em: http://ri.uepg.br:8080/riuepg/bitstream/handle/123456789/563/ARTIGO_An%C3%A1liseAptid%C3%A3oIndustrial.pdf?sequence=1. Acesso em: 11 jun. 2021.

PINTO W. S. *et al.* Caracterização física, físico-química e química de frutos de genótipos de cajazeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1059-1066, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pab/a/YXQgBfvcRyrxZgvPLYM7nTN/?lang=pt>. Acesso em: 11 jun. 2021.

RAIJ, B. *et al.* **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo.** 2 ed. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 1997.

RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0891584998003153>. Acesso em: 11 jun. 2021.

ROMERO, O. C. *et al.* Phenol and anthocyanin content and correlation with the antioxidant capacity of *Syzygium cumini* (L.) Skeels, (jambolan). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 21, n. 1, p. 63-70, 2016. Disponível em: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=65374>. Acesso em: 11 jun. 2021.

SÁ, A. P. C. S. **Potencial antioxidante e aspectos químicos e físicos das frações comestíveis (polpa e cascas) e sementes de Jamelão (*Syzygium cumini*, L. Skeels)**. 2008. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008. Disponível em: <https://tede.ufrrj.br/bitstream/tede/398/1/2008%20-%20Ana%20Patr%C3%ADcia%20Correia%20da%20Silva%20e%20S%C3%A1.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2021.

SAEED, A; KAUSER, S; IQBAL, M. Nutrient, mineral, antioxidant, and anthocyanin profiles of different cultivars of *syzygium cumini* (jamun) at different stages of fruit maturation. **Pakistan Journal of Botany**, v. 50, n 5, p. 1791-1804, 2018. Disponível em: <https://www.pakbs.org/pjbot/papers/1527615803.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2021.

SANTOS, C. A. *et al.* Bioactive Properties of *Syzygium cumini* (L.) Skeels Pulp and Seed Phenolic Extracts. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.00990/full>. Acesso em: 11 jun. 2021.

SARTAJ, A. *et al.* Some compositional and biochemical attributes of jaman fruit (*Syzygium cumini* L.) from Potowar region of Pakistan. **Research in Pharmacy**, v. 3, n. 5, p. 01-09, 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/258960001>. Acesso em: 11 jun. 2021.

SENTHILKUMAR M.; GOWRI, M.; VADIVEL, V. Phytochemical analysis of bioactive compounds of *syzygium cumini* (L.) Skeels. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 7, p. 1361-1379, 2017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/318293252>. Acesso em: 11 jun. 2021.

SERAGLIO, S. K. T. *et al.* Nutritional and bioactive potential of Myrtaceae fruits during ripening. **Food Chemistry**, v. 239, p. 649–656, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617311007>. Acesso em: 11 jun. 2021.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolic with PhosphomolybdicPhosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965. Disponível em: <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>. Acesso em: 11 jun. 2021.

SOARES, J. C. **Aproveitamento alimentar de jambolão**. 2015. 206f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/4511/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Jackeline%20Cintra%20Soares%20-%202015.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2021.

TAVARES, I. M. C. *et al.* Comprehensive study of the phenolic composition of the edible parts of jambolan fruit (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). **Food Research International**, v. 82, p. 1-13, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996916300187>. Acesso em: 11 jun. 2021.

VEBER, J. *et al.* Determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos de Jambolão (*Syzygium cumini* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 2, p. 267-273, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/9ywmkQS8736hD79rjxxdNbc/?lang=pt>. Acesso em: 11 jun. 2021.

VIANA, I. T. S.; RUFINI, J. C. M; GUEDES, M. N. S. Determinação de minerais em frutas de cagaiteira. In: 5º SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR: ALIMENTAÇÃO E SAÚDE. 2015. Bento Gonçalves. **Anais** [...], Bento Gonçalves, 2015. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/gerenciador/painel/trabalhosversaofinal/SHO157.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2021.

VIZZOTTO, M.; FETTER, M. R. Jambolão: o poderoso antioxidante. Embrapa Clima Temperado, 2009.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. Caracterização das propriedades funcionais do jambolão. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 79, 26 p, 2008.

WASSWA, M.; TUMUHIMBISE, G. A.; ACHAM, H. Chemical characterisation of pulp, seed powder and a ready-to- drink juice produced from *Syzygium cumini* fruit. **Makerere University Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 8, p. 44-57, 2019. Disponível em: <https://mujaes.mak.ac.ug/wp-content/uploads/2020/01/Wasswa.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2021.



19 Capítulo

Efeito de diferentes
copigmentos sobre a
estabilidade de antocianinas
extraídas de berinjela
(*Solanum melogena L.*)

Capítulo 19

Efeito de diferentes copigmentos sobre a estabilidade de antocianinas extraídas de berinjela (*Solanum melogena* L.)

Juliano Daniel Perin¹; Patrícia Beltrão Lessa Constant^{*2}; Andréa Gomes da Silva³;
Paulo César Stringheta⁴

Resumo

O uso de antocianinas como corante natural em alimentos apresenta algumas dificuldades principalmente devido a problemas relativos à estabilidade, o que levou a propor o estudo da cinética de degradação das antocianinas de extrato da casca de berinjela sob a ação dos fatores luz e pH, usando como agentes de preservação da cor vários copigmentos, os quais foram utilizados em frações molares 1:1, 5:1 e 15:1, sendo eles: o ácido gálico, a β -ciclodextrina, o ácido tânico e a rutina. Para obtenção do extrato utilizou-se como solvente etanol:água (70:30) acidificado em pH 2,0 com HCl, efetuando-se a remoção da clorofila com solução de éter de petróleo:éter etílico (1:1), em funil de separação. O pigmento purificado foi obtido mediante cromatografia de papel a partir do extrato, utilizando BAW como fase móvel. A maior fração foi eluída em metanol: ácido clorídrico 1,5 N (99,5:0,5) e concentrada a vácuo a temperatura de 38 °C para posterior utilização. A estabilidade dos extratos antociânicos na presença de copigmentos foi estimada determinando-se os valores de absorvância a 520 nm (comprimento de máxima absorção) em função do tempo. Foram determinadas a velocidade de degradação de primeira ordem (K_d) e o tempo de meia vida nos diferentes pH e em presença e ausência de luz. Na presença de luz, o copigmento que apresentou melhores resultados foi a rutina, e em condições de estocagem ao abrigo de luz, não foi observada ação protetora dos copigmentos. O extrato bruto foi mais estável que o pigmento purificado.

Palavras-chave: Cinética. Copigmentação. Corantes.

¹ Enólogo e Mestre, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, MG.

² Professora, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe, SE.

³ Professora, Departamento de Tecnologia Rural e Animal, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, BA.

⁴ Professor, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, MG.

* E-mail para correspondência: pblconstan@academico.ufs.br

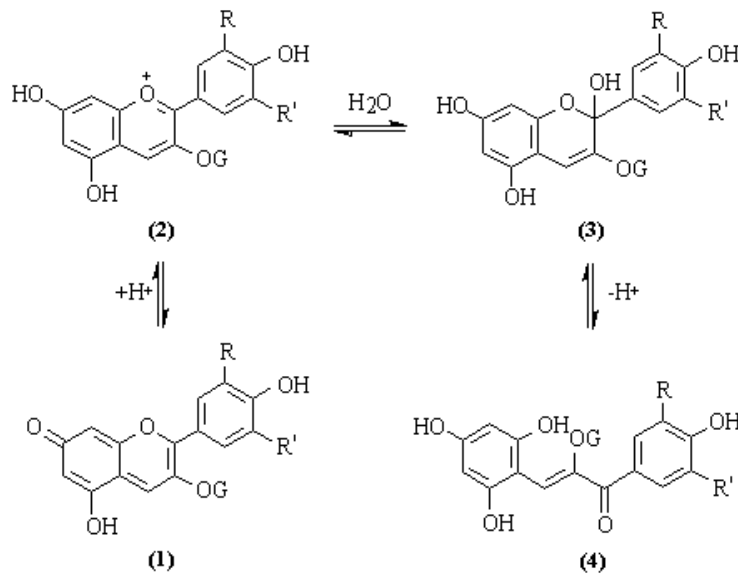
Introdução

Antocianinas são pigmentos bastante conhecidos que determinam a coloração característica de uma grande variedade de vegetais (HOSSEINIAN *et al.*, 2007; STRINGHETA, 1991; FRANCIS, 1992; CAI *et al.*, 2016).

Vários estudos mostram que as antocianinas, além de não serem tóxicas nem mutagênicas, apresentam propriedades terapêuticas benéficas o que incentiva pesquisas para viabilizarem seu uso como corante alimentício (PRIOR; WU, 2006; MANACH *et al.*, 2005; KOBUS-CISOWSKA *et al.*, 2020; NEMETZ; SCHIEBER; WEBER, 2021). A dificuldade do emprego deste composto se deve a sua baixa estabilidade uma vez extraída da fonte original (ARRUDA *et al.*, 2021; BARRETO *et. el.*, 2020)

Em soluções ácidas podem coexistir quatro espécies de antocianinas em equilíbrio: a base quinoidal 1, o cátion *flavilium* 2, a pseudobase ou carbinol 3 e a chalcona 4 (Figura 1).

Figura 1 - Transformações estruturais das antocianinas em água



Fonte: Francis, 1992.

O abaixamento do pH favorece a formação de cátion flavilium e sob essa forma a antocianina se apresenta mais estável e com coloração característica mais intensa (LIMÓN; GAVARA; PINA, 2013; ZHAO *et al.*, 2020). Diversas investigações, no entanto, revelaram que a variação na estabilidade da cor das antocianinas em soluções aquosas poderia ter outras causas, que não o pH, como a auto associação, a copigmentação e o empilhamento tipo sanduíche intramolecular (CHANDRA; NAIR; IEZZONI, 1993).

Se considerarmos a coloração das antocianinas apenas em função de pH, somos levados a crer que as plantas não deveriam ser coloridas, uma vez que na maioria dos casos, o pH natural dos vegetais se encontra na faixa ligeiramente ácida para neutra. Nesta região de pH, a maioria das antocianinas se encontra na forma não colorida. Uma vez que as antocianinas apresentam cor nas condições naturais supõe-se que elas se encontrem estabilizadas por fatores físico-químicos (OSAWA, 1982). A presença de compostos chamados copigmentos pode ser um destes fatores. Os flavonóides não antociânicos, alcalóides, aminoácidos e nucleosídeos, entre outros, podem atuar como copigmentos, além da própria antocianina (STRINGHETA; BOBBIO, 2000; CRUZ *et al.*, 2010; CORTEZ *et al.*, 2017; PANGESTU; MIYAGUSUKU-CRUZADO; GIUSTI, 2020).

Segundo Osawa (1982), a copigmentação pode ser definida como um fenômeno, através do qual a cor das antocianinas se torna mais azulada, mais brilhante e mais estável, graças à interação entre substâncias orgânicas e antocianinas, mesmo em pH dos tecidos das plantas.

A copigmentação de antocianinas ocorre naturalmente em vegetais, possibilitando a manutenção da cor, por meio da inibição das reações de hidratação que provocam o surgimento de formas não-coloridas. Assim a copigmentação pode facilmente se tornar uma ferramenta muito útil quando for utilizada em alimentos contendo antocianinas.

Existem quatro mecanismos básicos de estabilização: copigmentação intramolecular, copigmentação intermolecular, auto-associação e complexação com metais (ZHU *et al.*, 2020). Quando a concentração de antocianinas é elevada, as antocianinas podem atuar como copigmentos de si mesmo. A copigmentação intramolecular ocorre quando o pigmento e o copigmento são partes de uma única molécula, por exemplo, o cromóforo da antocianina e um resíduo de ácido cinâmico estão covalentemente ligados ao mesmo resíduo de açúcar (FERNANDES *et al.*, 2016). A copigmentação intermolecular ocorre quando há interação da antocianina com um copigmento que não faz parte da molécula antociânica. A complexação é provavelmente movida por forças de Van der Waals e efeitos hidrofóbicos em meio aquoso e depende de uma série de fatores tais como pH do meio, concentração da antocianina e relação copigmento:pigmento (STRINGHETA; BOBBIO, 2000; TEIXEIRA *et al.*, 2013).

As substâncias que atuam como copigmentos podem se encontrar naturalmente presentes na fonte antociânica, ou no produto onde o pigmento irá ser adicionado. Da mesma forma que os vários componentes dos alimentos podem interagir desfavoravelmente com as antocianinas (ex. ácido ascórbico), outros podem agir como copigmentos e estabilizarem as antocianinas no meio.

A descoberta de antocianinas aciladas mais estáveis, a compreensão de suas transformações estruturais e seus mecanismos de copigmentação e o surgimento de novas e melhores fontes

podariam compensar os inconvenientes do uso desses pigmentos como aditivos de alimentos (SAITO *et al.*, 1985; YAN *et al.*, 2016).

A crescente restrição ao uso de corantes sintéticos, que tem acontecido ao longo dos últimos anos, possibilita às antocianinas tornarem-se uma alternativa promissora para a substituição desses corantes e para a sua consolidação como corante natural (BAEZA *et al.*, 2020). Para isso, a busca de novas fontes e o estudo da estabilidade mediante técnicas de copigmentação desempenham um papel fundamental para que se possa utilizar as antocianinas de maneira eficiente como corante natural em alimentos. Dessa forma, este estudo vem tentar corroborar a melhora da estabilidade desses pigmentos, mediante o estudo da cinética de degradação das antocianinas de extrato da casca de berinjela sob a ação dos fatores luz e pH, usando como agentes de preservação da cor os copigmentos ácido gálico, β -ciclodextrina, ácido tânico e rutina.

Material e Métodos

Extração e purificação do pigmento

Para obtenção do extrato utilizou-se como fonte de antocianinas cascas de berinjela (*Solanum melogena* L.). Como fonte de copigmentos foram utilizados: ácido gálico, ácido tânico, rutina e beta-ciclodextrina.

O extrato de antocianinas foi obtido com algumas modificações ao procedimento descrito por Silva (1996). A extração foi realizada utilizando-se solução de etanol-água (70:30), acidificado com HCl em pH 2,0, com volume suficiente para cobrir as cascas de berinjela. A extração foi efetuada durante 24 horas em temperatura de 25 ± 1 °C ao abrigo de luz. O material foi filtrado em peneira de pano fino, sendo realizada a prensagem do resíduo. A remoção da clorofila extraída juntamente com as antocianinas foi realizada mediante lavagem do extrato com uma solução de éter de petróleo: éter etílico (1:1) utilizando funil me separação em três passagens. O extrato assim obtido foi concentrado à vácuo à temperatura de 39 ± 1 °C até a solução reduzisse a 30% do volume inicial. Posteriormente, o extrato foi armazenado sob atmosfera de nitrogênio ao abrigo de luz à -18 °C. O teor de antocianinas o extrato bruto concentrado foi determinado segundo metodologia de Fuleki e Francis (1968) e expressos em moles/L de 3 rutiosil delfinidina.

O pigmento foi purificado por cromatografia descendente em papel Whatman 1 empregados-se como fase móvel BAW (butanol: ácido acético: água, 6:1:2) por um período de 24 horas (OZELA, 1996)

A zona que apresentou coloração mais intensa, após secagem, foi recortada, eluída em metanol-HCl 1,5 N (99,5:0,5) e concentrada em evaporador rotatório à vácuo à temperatura de 39 ± 1 °C até total eliminação dos solventes orgânicos. O teor de antocianinas foi determinado segundo metodologia de Fuleki e Francis (1968).

Efeito da luz na estabilidade dos extratos antociânicos de Solanum melongea L.

Os extratos bruto e purificado foram diluídos respectivamente em solução tampão HCl-KCl (pH 2,0 e pH 4,0) e citrato fosfato (pH 2,0 e pH 3,0) na presença dos copigmentos ácido gálico, ácido tânico, rutina e beta-ciclodextrina. As relações molares empregadas entre o copigmento e o extrato foram 1:1, 5:1 e 15:1.

As soluções de antocianinas e copigmentos foram acondicionadas em frascos de vidros hermeticamente fechados. Uma parte das amostras foi colocada em um suporte, em fila dupla, posicionados entre duas lâmpadas fluorescentes de 40 W, 2.500 luxes, correspondente à luz do dia, guardando distância de 10 cm entre si, em ambiente com temperatura controlada de 25 ± 1 °C. A parte restante dos frascos permaneceu na mesma temperatura em ausência de luz. Periodicamente, de acordo com a velocidade de degradação do pigmento, foi determinado o espectro de absorção (350 a 650 nm) e a absorvância no λ máximo (530 nm) utilizando espectrofotômetro UV-Visível Hitachi U-2001 (STRINGHETA, 1991).

A concentração inicial das soluções foi adequada para produzir um valor de absorvância entre 0,7 e 0,9, evitado assim desvios na lei de Beer, e, quando este valor era reduzido em pelo menos 50%, era considerado o fim do experimento.

Análise dos dados

Na avaliação da estabilidade do extrato e do pigmento purificado de *Solanum melongea* L., as medidas de absorvância dos sistemas de soluções tamponadas foram usadas para construir gráficos do logaritmo neperiano da absorvância/absorvância inicial ($\ln A/A_0$) versus o tempo, obtendo-se através da inclinação da reta o valor de K_d . A partir dos valores obtidos de K_d foram calculados os valores do tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) por meio da relação $t_{1/2} = -\ln 0,5/k_d$, sendo usado como parâmetros para estimar a estabilidade ante a ação da temperatura e da luz.

Resultados e Discussão

Diversos autores estudaram o efeito da luz e do pH sobre as antocianinas, sendo sempre observada uma relação entre esses efeitos e a decomposição dos pigmentos antociânicos (MARKAKIS, 1982, STRINGHETA, 1991, SILVA *et al.*, 2018).

Os valores encontrados para o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) mostram claramente a influência da luz na constante de velocidade da reação (K), quando comparados àqueles colocadas ao abrigo da luz (Tabelas 1 e 2). Esses resultados são similares aos encontrados em outros trabalhos realizados por Stringheta (1991).

Os resultados do efeito da luz no extrato bruto de *Solanum melongena* L. em pH 2,0 e 4,0 na presença de diferentes copigmentos, estão resumidos na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores de tempo-de-meia-vida para o extrato bruto em pH 2,0 e pH 4,0 nas condições de armazenamento de luz e escuro, na presença de quatro copigmentos, em três razões molares de copigmento/pigmento

	EB	Ácido gálico			β -ciclodextrina			Ácido tânico			Rutina		
		1:1	5:1	15:1	1:1	5:1	15:1	1:1	5:1	15:1	1:1	5:1	15:1
pH 2,0													
$t_{1/2}(L)$	18,9	23,3	24,8	22,8	17,9	17,6	17,0	22,3	18,6	20,7	21,1	26,3	28,6
$t_{1/2}(E)$	182,4	177,7	169,1	198,0	203,9	203,9	187,3	182,4	138,6	187,3	177,7	187,3	150,7
PH 4,0													
$t_{1/2}(L)$	24,2	21	34,8	37,3	30	37,3	40,8	28,1	35	18,7	-	-	-
$t_{1/2}(E)$	103,5	68	135,9	123,8	154	95	100,5	99	73	68	-	-	-
PH 2,0/pH 4,0													
K_{LpH2}/K_{LpH4}	1,28	0,90	1,41	1,63	1,68	2,11	2,40	1,26	1,88	0,90	-	-	-
K_{EpH2}/K_{EpH4}	0,57	0,38	0,80	0,63	0,76	0,47	0,54	0,54	0,53	0,36	-	-	-

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: EB: Extrato bruto; $t_{1/2}(L)$: tempo de meia vida no armazenamento em presença de luz; $t_{1/2}(E)$: tempo de meia vida no armazenamento em ausência de luz; K_L : velocidade de degradação no armazenamento em presença de luz; K_E : velocidade de degradação no armazenamento em ausência de luz.

Observando o tempo de meia vida dos extratos nas duas condições de armazenamento, verifica-se para ambos os pH, uma profunda interferência da luz na cinética de decomposição das antocianinas do extrato.

Para o extrato bruto em pH 2,0 na presença de luz, o ácido gálico e a rutina mostraram-se efetivos a proteção contra a degradação dos pigmentos. Na ausência de luz, a beta-ciclodextrina, nas razões molares de 5:1 e 15:1, foi a mais efetiva. Nota-se que a proteção oferecida pelos

copigmentos se dá em condições críticas de exposição à luz, não ocorrendo à mesma coisa quando as amostras são armazenadas ao abrigo de luz.

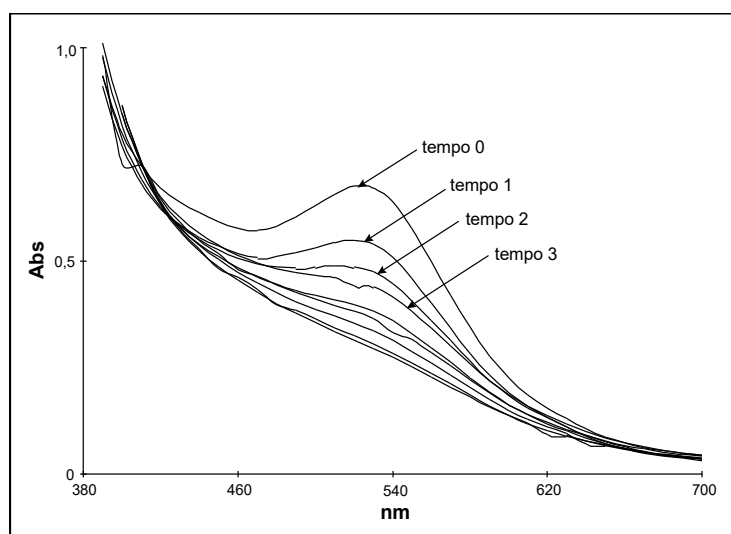
Em pH 4,0 a maioria dos copigmentos comportaram-se de forma a preservar a cor das antocianinas, tanto na luz como na ausência desta. Não foi verificado efeito de pH para o extrato bruto na presença de luz, mas no escuro houve diferença entre os dois pH estudados.

Comparativamente, as condições de pH 4,0 em relação às aquelas de pH 2,0, mostram resultados diferentes. Assim, em pH 4,0, concentrações mais elevadas de copigmentos em relação ao extrato apresentam maior efeito protetor sobre a estabilidade das antocianinas. Em pH 2,0 a razão molar copigmento/pigmento tem pouca influência na estabilidade do pigmento.

É oportuno chamar a atenção para o fato da relação entre as velocidades de degradação do pigmento na luz os pH 2,0 e 4,0 é um número maior que 1. Isto indicaria que a degradação no pH 4,0 seria mais lenta que a ocorrida no pH 2,0, o que é totalmente inaceitável uma vez que a estabilidade das antocianinas é maior em pH mais baixos.

É necessário esclarecer que para o estudo da cinética de degradação das antocianinas foram utilizadas as medidas de absorbância do espectro visível tomando-se o comprimento de onda 520 nm (o pico máximo), durante o período de estocagem sob o efeito da luz, o que não leva em consideração o espectro de absorção como um todo. Porém, avaliando-se todo o espectro das amostras ao longo do experimento (Figura 2) é possível verificar que a partir da leitura 4, tal espectro está totalmente descaracterizado. Ocorre a degradação sem que, no entanto, seja observado uma sensível queda no comprimento escolhido para acompanhamento.

Figura 2 - Espectro de absorção visível do extrato em pH 4,0, na presença de luz e sem adição de copigmentos



Fonte: Dos autores, 2021.

Assim, para avaliações de comportamento cinético dos extratos dos pigmentos, em condições de acelerada degradação, deve-se observar a característica do espectro de absorção para que se possa identificar o estado de degradação da amostra em questão.

Os resultados do efeito da luz no extrato purificado de *Solanum melongena* L. em pH 2,0 e 3,0 na presença de diferentes copigmentos, estão resumidos na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores de tempo-de-meia-vida para o extrato purificado em pH 2,0 e pH 3,0 nas condições de armazenamento de luz e escuro, na presença de quatro copigmentos, em três razões molares de copigmento/pigmento

	EP	Ácido gálico			β-ciclodextrina			Ácido tânico			Rutina		
		1:1	5:1	15:1	1:1	5:1	15:1	1:1	5:1	15:1	1:1	5:1	15:1
pH 2,0													
t _{1/2} (L)	16,70	6,80	6,20	7,10	12,30	13,10	15,80	16,50	14,10	16,20	13,7	17,10	20,00
t _{1/2} (E)	150,7	110,0	101,9	105,0	111,8	111,8	128,4	128,4	126,0	119,5	130,8	105,0	110,0
PH 3,0													
t _{1/2} (L)	2,4	-	-	-	4,20	3,80	2,90	3,30	2,80	2,30	2,40	5,80	4,10
t _{1/2} (E)	117,5	-	-	-	130,8	182,4	141,5	144,4	150,7	154,0	147,5	154,0	88,9
PH 2,0/pH 3,0													
t _{1/2L} /	6,96	-	-	-	2,93	3,45	5,45	5,00	5,04	7,04	4,03	2,95	4,88
t _{1/2L}													
t _{1/2E} /	1,28	-	-	-	0,85	0,61	0,91	0,89	0,84	0,78	0,89	0,68	1,24
t _{1/2E}													

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: EP: Extrato purificado; t_{1/2}(L): tempo de meia vida no armazenamento em presença de luz; t_{1/2}(E): tempo de meia vida no armazenamento em ausência de luz; K_L: velocidade de degradação no armazenamento em presença de luz; K_E: velocidade de degradação no armazenamento em ausência de luz.

O pigmento purificado com adição de diferentes copigmentos na presença de luz não apresentou estabilidade superior à da testemunha (EP), a não ser para rutina na razão molar 15:1. Desta forma, os copigmentos, em suas diferentes concentrações foram de uma maneira geral prejudiciais à estabilidade da antocianina, auxiliando na sua decomposição, conforme se pode observar pelos tempos de meia vida.

Em ausência de luz a mesma tendência foi observada, com as amostras copigmentadas apresentando menor tempo de meia vida, mostrando que em condições ideais de armazenamento (ausência de luz, oxigênio e temperatura amena), a adição de copigmentos não melhora a estabilidade das antocianinas.

Avaliando os resultados apresentados na Tabela 3 que mostra a razão entre os tempos de meia vida do extrato bruto e o purificado em pH 2,0 é possível observar que os valores apresentados para o extrato bruto são sempre maiores, indicando uma menor decomposição. Possivelmente, a presença de alguns componentes do extrato, atuam como agentes que auxiliam na estabilidade das antocianinas presentes, além de auxiliarem os mecanismos de associação da copigmentação.

Tabela 3 - Valores de tempo-de-meia-vida para o extrato bruto e purificado em pH 2,0 nas condições de armazenamento de luz e escuro, na presença de quatro copigmentos, em três razões molares de copigmento/pigmento

	E		Ácido gálico			β-ciclodextrina			Ácido tânico			Rutina		
	1:1	5:1	15:1	1:1	5:1	15:1	1:1	5:1	15:1	1:1	5:1	15:1		
	pH 2,0 extrato bruto/pH 2,0 pigmento purificado													
$t_{1/2}EB(L)/t_{1/2}P(L)$	1,13	3,43	4,00	3,21	1,46	1,34	1,08	1,35	1,32	1,28	1,54	1,54	1,43	
$t_{1/2}EB(E)/t_{1/2}P(E)$	1,21	1,62	1,66	1,89	1,82	1,82	1,46	1,42	1,10	1,57	1,36	1,78	1,37	

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: E: Extrato sem copigmento; $t_{1/2}EB(L)$: tempo de meia vida no armazenamento do extrato bruto em presença de luz; $t_{1/2}P(L)$: tempo de meia vida no armazenamento do extrato purificado em presença de luz; $t_{1/2}EB(E)$: tempo de meia vida no armazenamento do extrato bruto em ausência de luz; $t_{1/2}P(E)$: tempo de meia vida no armazenamento do extrato purificado em ausência de luz.

Conclusão

A copigmentação, como uma ferramenta de estabilização, funcionou de forma positiva para o extrato bruto aumentando o tempo de meia vida do pigmento antociânico tanto no armazenamento em ausência como em presença de luz. No entanto as substâncias empregadas como copigmentos tiveram efeitos distintos nos pH e proporções testados, mostrando que o efeito do copigmento está relacionado as condições do extrato antociânico bem como a relação copigmento:extrato empregado. Para o pigmento purificado a copigmentação, nas condições testadas, não se mostrou efetiva na estabilização da antocianina, ao contrário, alguns copigmentos catalizaram a degradação antociânica.

Na comparação entre os extratos antociânicos, o extrato bruto mostrou-se sempre mais estável que o pigmento purificado, tanto na presença como na ausência de luz. Nos casos em que os copigmentos se mostraram eficazes, há evidências que as razões molares menores atuam de maneira mais efetiva contra a degradação dos pigmentos.

Dentre os copigmentos estudados nas condições de armazenamento sob presença de luz, o que demonstrou maior efeito benéfico foi a rutina, devendo-se, no entanto, utilizá-la em proporções

menores do contrário ela apresenta instabilidade, principalmente quando armazenada por longos períodos.

Referências

ARRUDA, H. S. *et al.* Anthocyanins recovered from agri-food by-products using innovative processes: trends, challenges, and perspectives for their application in food systems. **Molecules**, v. 26, p. 1-39, 2021.

BAEZA, R. *et al.* Storage stability of anthocyanins in freeze-dried elderberry pulp using low proportions of encapsulating agents. **Food Science and Technology International**, v. 27, n. 2, p. 135-144, 2020.

BARRETO, F. J. F. P. *et al.* Stability of encapsulated and non-encapsulated anthocyanin in yogurt produced with natural dye obtained from *Solanum melongena* L. bark. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 42, n. 3, p. 1-13, 2020.

CAI, Z. *et al.* Conventional, ultrasound-assisted, and accelerated solvent extractions of anthocyanins from purple sweet potatoes. **Food Chemistry**, v. 197, p. 266-272, 2016.

CARVALHO, P. R. N. Potencialidades dos corantes naturais. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 1, n. 1, p. 244-245, 1992.

CHANDRA, A., NAIR, M. G., IEZZONI, A. F. Isolation and stabilization of anthocyanins from tart cherries (*Pruus cerasus* L.) **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 7, p. 1062-1065, 1993.

CORTEZ, R. *et al.* Natural Pigments: Stabilization Methods of Anthocyanins for Food Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, p. 180-198, 2017.

CRUZ, L. *et al.* Vinylcatechin Dimers Are Much Better Copigments for Anthocyanins than Catechin Dimer Procyanidin B3. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 5, p. 3159-3166, 2010.

FERNANDES, A. *et al.* Impact of a pectic polysaccharide on oenin copigmentation mechanism. **Food Chemistry**, v. 209, p. 17– 26, 2016.

FRANCIS, F. J. A new group of food colorants. **Trends in Science & Technology**, v. 3, n1, p. 27-30, 1992.

FULEKI, T., FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins 2: Determination of total anthocyanins and degradation index for cranberry juice. **Journal of Food Science**, v.33, n. 1, p. 78-83, 1968.

HOSSEINIAN, F. S. *et al.* Proanthocyanidin profile and ORAC values of Manitoba berries, chokecherries, and seabuckthorn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 17, p. 6970-6.976, 2007.

KOBUS-CISOWSKA, J. *et al.* Antioxidant potential of various solvent extract from *Morus alba* fruits and its major polyphenols composition. **Ciência Rural**, v.50, n.1, p.1-12, 2020.

LIMÓN, P. M.; GAVARA, R.; PINA, F. Thermodynamics and Kinetics of Cyanidin 3-Glucoside and Caffeine Copigments. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 5245–5251, 2013.

MANACH, C. *et al.* Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 230-242, 2005.

NEMETZ, N. J.; SCHIEBER, A.; WEBER, F. Application of Crude Pomace Powder of Chokeberry, Bilberry, and Elderberry as a Coloring Foodstuff. **Molecules**, v. 26, p. 1-18, 2021.

OSAWA, Y. Copigmentation of anthocyanins. *In*: MARKAKIS, P. (org.). **Anthocyanins as Food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 41-65.

OZELA, E. F. **Extração e identificação de um pigmento de frutos de bertalha (*Basella rubra* L.)**. 1996. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

PANGESTU, N. P.; MIYAGUSUKU-CRUZADO, G.; GIUSTI, M. M. Copigmentation with Chlorogenic and Ferulic Acid Affected Color and Anthocyanin Stability in Model Beverages Colored with *Sambucus peruviana*, *Sambucus nigra*, and *Daucus carota* during Storage. **Foods**, v. 9, p. 1-13, 2020.

PRIOR, R.; WU, X. Anthocyanins: structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. **Free Radical Research**, v. 40, n.10, p. 1014-1028, 2006.

SAITO, N. *et al.* Acylated delphinidin glucosides and flavonols from *Clitoria ternatea*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 7, p. 1583-1586, 1985.

SILVA, S. R. **Extração e estabilidade de pigmentos antociânicos de frutos de maria-pretiha (*Solanum melongea*, Mill.)**.1996. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

SILVA, G. J. F. *et al.* Potential of jaboticaba fruit in obtaining the natural functional colors for foods. **Acta Horticulturae**, v. 1, p. 97-100, 2018.

STRINGHETA, P. C. **Identificação da estrutura da estabilidade das antociainas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis miutiflora*, Pal de Beauv)**. 1991. 138f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1991.

STRINGHETA, P. C., BOBBIO, P. A. Copigmentação de antociainas. **Biociência & Desenvolvimento**, n. 14, p. 34-37, 2000.

TEIXEIRA, N. *et al.* Structural Features of Copigmentation of Oenin with Different Polyphenol Copigments. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 6942–6948, 2013.

YAN, Z. *et al.* Enzymatic Acylation of Anthocyanin Isolated from Black Rice with Methyl Aromatic Acid Ester as Donor: Stability of the Acylated Derivatives. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, p. 1137–1143, 2016.

ZHAO, X. *et al.* Intermolecular copigmentation between five common 3-O-monoglucosidic anthocyanins and three phenolics in red wine model solutions: The influence of substituent pattern of anthocyanin B ring. **Food Chemistry**, v. 326, p. 1-8, 2020.

ZHU, Y. *et al.* Copigmentation effect of three phenolic acids on color and thermal stability of Chinese bayberry anthocyanins. **Food Science & Nutrition**, v. 8, p. 3234–3242, 2020.





20 Capítulo

Avaliação da estabilidade
lipídica em canudinhos fritos

Capítulo 20

Avaliação da estabilidade lipídica em canudinhos fritos

Juliana Rech*¹; Noriê Finimundi¹; Elizete Maria Pesamosca Facco²

Resumo

Produtos fritos possuem consumo expressivo no Brasil e no mundo. São aliados à rapidez e dinamismo da rotina, pois o processo de fritura apresenta cocção rápida e fácil, além de agregar sabor ao produto final. Assim como possuem atributos agradáveis, produtos fritos podem oxidar ao longo do tempo e perder suas características iniciais. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a estabilidade lipídica de canudinhos fritos, quando submetidos a dois diferentes tipos de lipídios para fritura, em diferentes tempos de armazenamento e com e sem incidência de luz. A avaliação foi fundamentada na utilização de gordura de palma e gordura hidrogenada. Foram utilizados tempos de armazenamento de 0, 90 e 105 dias para amostras de gordura de palma e gordura hidrogenada vegetal. A rancidez lipídica foi avaliada através das análises de índice de acidez, peróxidos e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. Os resultados de índice de acidez e peróxidos no lipídio extraído do canudinho sofreram alterações crescentes para gordura hidrogenada vegetal e decrescentes para a gordura de palma. Houve diferença significativa para amostras de canudinhos fritos armazenados ao abrigo da luz e à exposição da mesma. Para canudinhos fritos, a gordura de palma apresenta maior estabilidade lipídica em relação à gordura vegetal hidrogenada, e por isso pode ser avaliado o aumento do *shelf-life* do produto, quando evitado à iluminação excessiva.

Palavras-chave: Fritura de imersão. Gorduras vegetais. Oxidação.

Introdução

Produtos fritos são um dos tipos de alimentos mais consumidos no mundo inteiro. Cerca de 15% da população brasileira consome usualmente produtos fritos (SOUZA *et al.*, 2013). A escolha por produtos fritos se dá, principalmente, por características organolépticas adquiridas durante o

¹ Estudante, Área de Ciências Exatas e Engenharias, Universidade de Caxias do Sul.

² Professora, Área de Ciências da Vida, Universidade de Caxias do Sul.

* E-mail para correspondência: juliprech@hotmail.com

processo de fritura. Textura, sabor e odor são desejáveis pelo consumidor, além da praticidade e rapidez no preparo (MONTES O *et al.*, 2016).

A fritura corresponde basicamente a um processo de cocção em temperatura elevada, por meio de imersão, quando o alimento é submergido em óleos ou gorduras comestíveis, ou de maneira superficial, quando não há imersão (RAMÍREZ; GALAN; ZULETA, 2015). A cor e os aromas, por sua vez, são determinados por uma mudança da estrutura físico-química do produto frito, que se torna mais brilhante, dourado e uniforme. Além disso, sabores e aromas são intensificados devido à estrutura da fonte lipídica ou devido ao desenvolvimento de novos compostos durante o processo de fritura (JUÁNIZ *et al.*, 2016). Embora essas características sejam favoráveis ao alimento frito, durante o processo de fritura há a exposição ao oxigênio e à umidade, que podem causar diversas reações, entre elas hidrólise e oxidação (LIU *et al.*, 2019), que são as maiores fontes de deterioração na fração lipídica do alimento (SANMARTIN *et al.*, 2018).

O processo de reação hidrolítica em óleos e gorduras é causado pela hidrólise da ligação de éster por lipase ou umidade, produzindo ácidos graxos livres. A ação resultante desta reação é a formação de ácidos graxos livres, que podem abaixar o ponto de fumaça do lipídio e, assim, acelerar a degradação (OSAWA; GONÇALVES; RAGAZZI, 2006).

A reação hidrolítica pode diminuir o tempo de prateleira de um produto frito e, desse modo, é importante mensurá-la a fim de determinar prazos de validade. A análise de índice de acidez avalia o estado de conservação do óleo de fritura através da formação de ácidos graxos livres (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

A oxidação é a alteração mais frequente, podendo apresentar ao consumidor odor e sabor desagradáveis no momento do consumo, além de produzir compostos tóxicos e mudanças no valor nutricional do produto (RIOS; PEREIRA; ABREU, 2013). O processo de oxidação envolve inúmeras e complexas reações químicas, que acontecem em diferentes estágios e, conseqüentemente, apresentam funções distintas para a deterioração do produto frito. Peróxidos são os produtos decorrentes da oxidação lipídica, porém não são os últimos produtos resultantes (AHMED *et al.*, 2016). A análise do índice de peróxidos determina o produto formado durante a oxidação (SOARES *et al.*, 2012). Os produtos finais originados da rancidez oxidativa são mensurados através do Teste do Ácido 2-Tiobarbitúrico (TBA), o qual determina o último elemento formado no final da decomposição do produto frito, o malonaldeído (MDA).

A oxidação que ocorre em lipídios tem correlação com a composição de ácidos graxos existentes em cada lipídio. A fração de insaturação, especialmente, é onde ocorre maior degradação,

pois é mais fácil de ser oxidado (SATHIANATHAN *et al.*, 2014). A legislação brasileira não estabelece requisitos de análises para produtos fritos prontos para consumo, porém apresenta através da Resolução nº 270 (BRASIL, 2005), medidas específicas para óleos e gorduras, mensurando-os em níveis de acidez e índices de peróxidos. A legislação determina que óleos e gorduras refinados não ultrapassem 0,6 mg KOH/g e 10 mEq/kg de índices de acidez e peróxidos, respectivamente. Já a gordura de palma não deve ultrapassar 10,0 mg KOH/g para acidez, porém não possui requisitos mínimos para índice de peróxidos.

A utilização de gordura vegetal hidrogenada em frituras é uma forma de retardar a deterioração do alimento por rancidez, pois apresenta maior estabilidade devido ao seu grau de insaturação. Damy e Jorge (2003) estudaram o comportamento da gordura vegetal em frituras e observaram que, em relação ao óleo de soja, ela apresenta menor tendência a polimerização, independentemente do tempo de fritura e temperatura. Apesar de ser estável, a gordura vegetal apresenta problemas na sua utilização, pois possui estrutura *trans* e, por isso, pode ser prejudicial à saúde (ASCHERIO *et al.*, 2011).

A gordura de palma é bastante utilizada a fim de melhorar o processo de fritura, pois possui ponto de fumaça de 210 °C. Além disso, é a única gordura que possui basicamente 50-50% de ácidos graxos saturados e insaturados. A gordura de palma é uma alternativa saudável às gorduras hidrogenadas, pois não possui gorduras *trans* em sua estrutura (MBA; DUMONT; NGADI, 2015).

Aumentar a vida de prateleira de produtos fritos, preservando as características originais do alimento, é um dos maiores desafios para a indústria de alimentos. O processo oxidativo, portanto, pode ser controlado para que o processo de rancidez seja minimizado (SOARES *et al.*, 2012).

A composição da gordura é, desta maneira, importante, a fim de se estabelecer uma relação tempo/temperatura que aumente a estabilidade lipídica. O perfil de ácidos graxos presentes no lipídio afeta diretamente este equilíbrio (TOLENTINO *et al.*, 2014).

As condições de armazenamento, bem como o controle da temperatura de armazenagem e a exposição à luz do alimento, interferem na velocidade da oxidação lipídica. Alimentos conservados em ambientes com níveis mínimos de temperatura e luz inibem a reação oxidativa, uma vez que os mesmos são os responsáveis pelo desencadeamento de formação de radicais livres (RAMALHO; JORGE, 2011).

A indústria de alimentos, nos últimos anos, mostrou-se interessada na adoção de medidas que limitem o processo de oxidação nas fases de processamento e armazenamento. O objetivo do presente estudo foi avaliar a rancidez lipídica de canudinhos para rechear, fritos em gordura hidrogenada e

gordura de palma, e armazenados sob diferentes condições de tempo e temperatura, visando aumentar o prazo de prateleira do produto.

Material e métodos

As amostras de canudinhos fritos foram coletadas na Indústria e Comércio de Produtos Alimentícios Canuttos Ltda®, logo após o processo de produção. A formulação dos produtos teve como ingredientes a farinha de trigo enriquecida com ferro e ácido fólico, água potável, óleo de soja refinado, sal refinado e aguardente de cana. As gorduras utilizadas na fritura foram: palma e gordura vegetal hidrogenada. As gorduras foram adquiridas na FRS Indústria e Comércio de Óleos e Gorduras Eireli® (Gordura de Palma) e COAMO® Agroindustrial Cooperativa (Gordura hidrogenada vegetal).

O processo de fritura foi conduzido em fritadeira industrial contínua, marca Multifritas®, modelo MGI 2, com área de fritura de 150x50 cm e volume controlado de 240 litros. A potência calorífica efetiva é de 57.000 kcal/h.

A temperatura empregada foi de aproximadamente 180 °C, controlada pelo termostato da fritadeira, juntamente com auxílio de termômetro. Antes de dar início aos ensaios de fritura, as gorduras foram submetidas ao aquecimento por um período aproximado de 30 minutos para o estabelecimento do controle de temperatura na fritadeira. Trinta lotes, com aproximadamente 200 gramas de canudinhos foram fritos por um período médio de 5 minutos. As gorduras foram utilizadas por um período aproximado de 8 horas diárias, por um período médio de 30 dias, com reposição de gordura a fim de manter a relação superfície/volume constante. As amostras foram coletadas no primeiro e último dia de fritura. O encerramento do uso do lipídio para fritura foi determinado através da fita de teste rápido de qualidade de gordura, da marca 3M®, e quando atingiu 3,5% de ácidos graxos livres no óleo de fritura, foi totalmente descartado. Quarenta e oito amostras foram coletadas ao primeiro e último dia de fritura de cada tipo de gordura. As amostras foram armazenadas em tempos de estocagem de 0, 90 e 105 dias, sendo metade das amostras estocadas com exposição à luz e a outra metade em ambiente com privação de luminosidade.

Para as análises de rancidez foi, primeiramente, extraído o óleo das amostras através do método de BLIGH e DYER (1959) que utiliza mistura binária de solventes (clorofórmio/metanol/água), com posterior quantificação gravimétrica.

Índice de acidez

O procedimento para análise do índice de acidez está baseado na dissolução da gordura em um solvente misto e neutralizado, seguida da titulação com uma solução padrão de KOH, na presença de fenolftaleína como indicador (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Os resultados de índice de acidez foram expressos em miligramas de hidróxido de potássio por grama de amostra.

Índice de peróxidos

O Índice de Peróxido (IP) foi utilizado para medir a fase inicial da oxidação, na qual há liberação de peróxidos e as alterações não são percebidas sensorialmente. Devido à sua ação fortemente oxidante, os peróxidos orgânicos formados no início do processo de rancificação atuam sobre o iodeto de potássio, liberando iodo, que será titulado com o tiosulfato de sódio, em presença de amido como indicador. Para determinação do índice de peróxidos, utilizou-se metodologia analítica do Instituto Adolfo Lutz – Métodos Físicos e Químicos para Análise de Alimentos (2008). Resultado expresso em miliequivalentes de peróxido em 1000 g de amostra.

Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBArS)

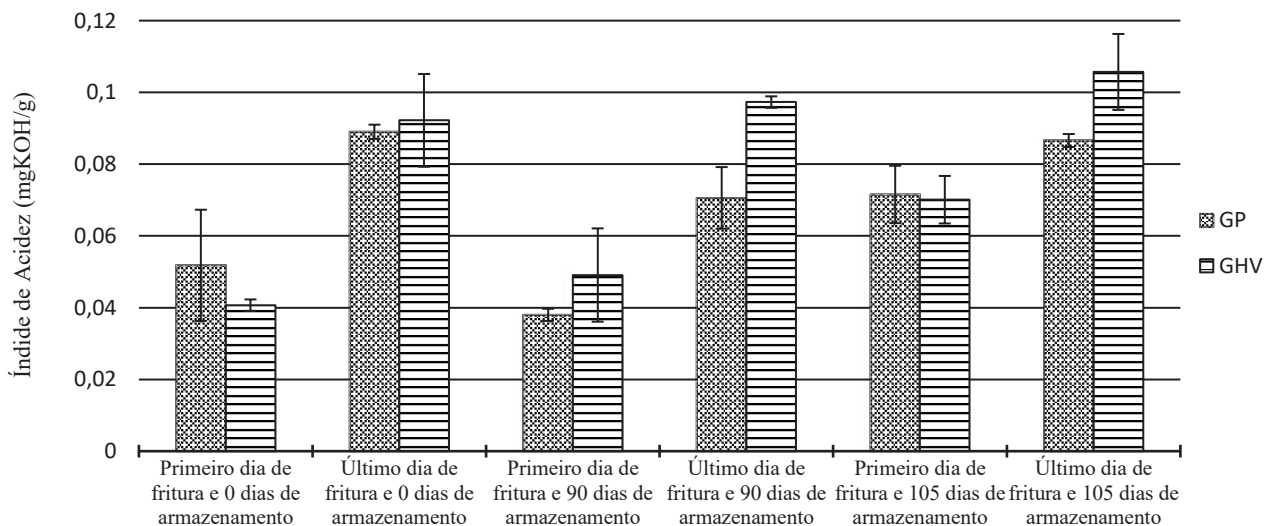
O índice de TBArS (substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico) envolve o ácido 2-tiobarbitúrico com o malonaldeído, produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente a 532 nm de comprimento de onda. A quantificação de malonaldeído é feita a partir de curvas de calibração construídas com concentrações conhecidas do reagente (PAPASTERGIADIS *et al.*, 2012). As medidas de TBArS foram realizadas no espectrofotômetro, marca Thermo Genesys, modelo 10 UV. O resultado é expresso em nanomolar de MDA por grama de amostra.

As análises das amostras foram realizadas em duplicata e apresentadas como média \pm desvio padrão. As comparações estatísticas foram realizadas por ANOVA seguido de teste de Tukey na significância de 5%. Foi utilizado o pacote estatístico *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 20.0 (IBM Corp, 2011).

Resultados e discussão

A Figura 1 apresenta o índice de acidez referente aos dias de utilização dos lipídios e tempo de armazenamento em canudinhos fritos com gordura de palma (GP) e gordura hidrogenada vegetal (GHV), sob as condições de armazenamento ideais para esse alimento, ou seja, em ambiente seco, fresco e sem exposição a luminosidade.

Figura 1 - Índice de acidez em canudinhos fritos em GP e GHV sob armazenamento de 0, 90 e 105 dias e sem luminosidade



Fonte: Dos autores, 2019.

Legenda: GP: Gordura de palma. GHV: Gordura vegetal hidrogenada.

Observou-se, no primeiro dia de fritura, que os canudinhos fritos em GP apresentam índice de acidez mais elevado do que os fritos em GHV. E, ao longo do período de utilização houve uma inversão, ou seja, no último dia de utilização dos lipídios para fritar, o valor maior está nos canudinhos fritos com a GHV, diferindo estatisticamente. Em valores absolutos, a GHV mostrou valores maiores durante o armazenamento, porém no teste de Tukey ($p > 0,05$) apresentou diferença significativa apenas no tempo de armazenamento de 105 dias e quando coletada a amostra no primeiro dia de utilização do óleo para fritura. O mesmo acontece para armazenamento de 105 dias da GP, em valores absolutos, o canudinho frito apresentou oxidação hidrolítica maior em comparação com seu tempo em 90 dias. Concomitantemente, houve diferença significativa quando comparados os tipos de

lipídios, na qual a GHV apresenta uma tendência de crescimento quanto à rancidez hidrolítica maior do que a GP.

Óleos de palma tendem a apresentar índices de acidez mais elevados. Em análises feitas com óleo de palma bruto, o índice de acidez pode apresentar valores entre 5,19 e 24,66% de níveis de acidez em ácido palmítico (CURVELO *et al.*, 2011).

Os estudos que relacionam a GP com o tempo de fritura para análise de acidez não se utilizaram de tempo de fritura semelhante ao deste experimento, porém Park e Kim (2016) experimentaram análise de acidez em *nuggets* de frango com 101 ciclos de fritura e determinaram, em comparação com outros óleos, um valor de índice de acidez mais alto nos primeiros ciclos de fritura. Durante o processo de fritura em ciclos, todos os outros óleos alcançaram valores mais altos do que a GP, determinando uma maior estabilidade em frituras quando utilizada GP. Este estudo obteve o mesmo comportamento em suas análises. Sanibal e Mancini Filho (2004) encontraram resultados semelhantes para a GHV em frituras aos encontrados neste estudo, onde ocorreu um aumento na concentração dos ácidos graxos livres, visualizados através do índice de acidez.

A avaliação da degradação de lipídios em produtos fritos é feita também através da detecção de rancidez oxidativa, cujas reações são o maior mecanismo de deterioração em um lipídeo. Para tanto, a perecibilidade do produto é proporcional a quantidade de lipídios na sua composição, devido a exposição aos processos oxidativos.

Existem três fases de oxidação lipídica, com diferentes reações ocorrentes. Na fase de iniciação, não há compostos perceptíveis no alimento. Peróxidos são os primeiros produtos a serem formados durante a segunda fase, conhecida como propagação, e são os responsáveis pela deterioração da qualidade do produto frito, pois apresentam radicais livres, cujo efeito é prejudicial à saúde humana (AHMED *et al.*, 2016). A Tabela 2 indica crescimento de índices de peróxidos nas análises de canudinhos quando fritos em GHV. Esses valores são ainda mais acentuados quando as amostras foram armazenadas em condições excessivas de luminosidade. Nesse caso, os valores iniciam em torno de 5 mEq/g, alcançando valores de 20,2 mEq/g e 15,5 mEq/g em 90 dias de armazenamento e diminuindo para 12,3 mEq/g e 15,3 mEq/g, respectivamente, para GP e GHV.

Os valores de rancidez menores para GP podem ser atribuídos ao antioxidante sintético butilhidroquinona terciária (TBHQ) presente na sua composição, cuja ação reduz a energia do radical livre que, por sua vez, não reage facilmente à oxidação (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). Estudos da estabilidade oxidativa em almondegas de carne fritas, para determinação

de *shelf-life*, verificaram que a GP com antioxidante TBHQ pode ser comercializado com 2,6 meses a mais do que a amostra controle, sem antioxidante (AMMAR, 2016).

Tabela 2 - Resultados de determinação de peróxidos em amostras de canudinhos fritos no último dia de fritura

Amostras	Peróxidos (meq/kg)	
	Sem luz	Com luz
GP0	5,387 ± 0,045 ^{aA}	5,387 ± 0,045 ^{aA}
GP90	11,551 ± 0,255 ^{bBC}	20,244 ± 1,635 ^{dD}
GP105	5,504 ± 0,677 ^{aA}	12,360 ± 2,956 ^{bcBC}
GHV0	5,879 ± 0,089 ^{aA}	5,879 ± 0,089 ^{abA}
GHV90	10,005 ± 0,180 ^{bBC}	15,525 ± 1,498 ^{cdCD}
GHV105	11,535 ± 1,486 ^{bBC}	16,355 ± 3,182 ^{cdCD}

Fonte: Dos autores, 2019.

Legenda: GP0 – Gordura de palma com tempo de armazenamento de 0 dias, GP90 - Gordura de palma com tempo de armazenamento de 90 dias, GP105 - Gordura de palma com tempo de armazenamento de 105 dias, GHV0 - Gordura hidrogenada vegetal com tempo de armazenamento de 0 dias, GHV90 - Gordura hidrogenada vegetal com tempo de armazenamento de 90 dias, GHV105 - Gordura hidrogenada vegetal com tempo de armazenamento de 0 dias.

Nota: a,b...(coluna) – médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05). A,B...(linha e coluna) – médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05).

Um estudo semelhante a este, porém com menor tempo de fritura, obteve resultados próximos ao utilizar GHV em fritura de batata chips (DAMY; JORGE, 2003). Os autores analisaram GHV em 15 horas de fritura, e verificaram que valores de peróxidos aumentaram em 5 vezes o seu valor inicial em relação ao final. A análise de peróxidos, no entanto, foi feita diretamente em amostras de gordura, diferente do método utilizado nesse estudo, onde a análise foi feita em produtos fritos.

Poucos estudos avaliaram a medida dos peróxidos nos alimentos fritos. Robertson *et al.* (1978) analisaram o índice de peróxidos em batatas chips durante um tempo de 12 horas de fritura. Os autores mostraram que a GP age de maneira diferente dos outros óleos de fritura, reduzindo seu valor de peróxidos após 10 horas de fritura contínua, e durante o processo de armazenamento. Após 8 semanas de estocagem, o valor de mEq/kg diminuiu em cerca de 18% considerando o seu valor na semana 0 de estocagem.

Quando utilizada GP, os canudinhos fritos apresentaram, considerando o tempo inicial, um aumento de 2,14 vezes em relação aos 90 dias de armazenamento, porém a partir desse tempo, em relação ao último tempo de estocagem, houve uma diminuição de 2,1 vezes. Ao analisar o primeiro e último dia de armazenamento sem exposição à luz, os valores não apresentaram divergências

significativas. Marinova *et al.* (2012), mensuraram, através do índice de peróxidos, o comportamento de óleos de fritura durante 54 horas, corroborando com os resultados desse estudo. O valor de peróxidos cresceu nas primeiras 15 horas de fritura e, após esse tempo, baixou nos óleos de soja e milho e no azeite de oliva.

O valor de peróxidos tende a diminuir em condições severas de fritura, como tempo prolongado e exposição à oxidação, pois eles são compostos químicos transitórios e, portanto, instáveis em frituras. Isso acontece, pois a taxa de decomposição dos peróxidos em outros compostos acontece mais rapidamente do que a taxa de formação de novos peróxidos. Em um estudo em azeite de oliva, foi verificado que a taxa de degradação dos peróxidos foi maior do que a taxa de formação (CASAL *et al.*, 2010).

Chen *et al.* (2014) compararam valores de peróxidos com temperatura de fritura em óleo de palma, e verificaram que à 150°C os índices de peróxidos são mais elevados do que quando fritos à 250 °C. A explicação para o comportamento se dá a taxa rápida de decomposição termal de hidroperóxidos em carbonila e aldeídos, durante o processo de fritura em temperatura mais elevada (NAYAK *et al.*, 2016).

A velocidade de oxidação de alimentos fritos armazenados com exposição às luzes UV e visível, tende a aumentar. Isso ocorre, pois a iluminação pode promover a decomposição de hidroperóxidos para produzir radicais livres (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). A embalagem dos canudinhos fritos não apresenta barreiras para diminuir a incidência de luz, e conseqüentemente diminuir a velocidade da oxidação lipídica, sendo importante a manutenção das amostras em ambientes protegidos da luz e calor. Ayu *et al.* (2017) armazenou óleo de palma em diferentes condições de luminosidade, e constatou que quanto maior a quantidade de iluminação e de estocagem, maiores foram os valores de índice de peróxidos.

Os índices de peróxidos são ainda mais elevados quando analisadas as amostras que permaneceram guardadas em um ambiente com alta exposição de luz. Os valores em GP são maiores em 57,06% e 55,47% nos tempos 90 e 105 dias de armazenamento, respectivamente, quando expostos à iluminação. Na GHV os valores também são maiores para a exposição à luz, porém seu crescimento se dá de maneira menos acentuada, com 35,55% e 29,48% de aumento nos tempos 90 e 105 dias, respectivamente.

De maneira geral, a GP é mais estável quanto aos índices de peróxidos, pois apresentam menor valor no momento final do armazenamento. Em ambas as situações de armazenamento: sem nenhuma incidência de luz e com incidência de luz.

Na última etapa da oxidação lipídica, a terminação, é formado o MDA. Usou-se o índice de TBARS para medir a oxidação nesta fase mais avançada, na qual ocorre a produção dos compostos intermediários, reativos ao TBARS e que são percebidos sensorialmente. Por este motivo, o teste do MDA foi realizado somente nessas etapas de armazenamento. O índice de TBARS quantifica o MDA, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados, formado durante o processo oxidativo (PAPASTERGIADIS *et al.*, 2012).

Os valores de TBARS estão apresentados na Tabela 3. Dentro deste parâmetro, não houve diferença pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) entre os dois tipos de gordura e tampouco nas condições de armazenamento de tempo e luminosidade. Observou-se ainda uma diminuição da presença dessas substâncias com o decorrer do armazenamento, provavelmente, como consequência da diminuição dos peróxidos, precursores do malonaldeído.

Durante o processo de fritura, pode ocorrer à polimerização dos ácidos graxos, o que pode justificar a oscilação de alguns parâmetros analisados neste estudo. A polimerização consiste em decompor hidroperóxidos em polímeros diversos durante o processamento térmico. Essa decomposição pode ser a causa para que índices de TBARS tenham se mantidos estáveis durante os tempos 90 e 105 dias. Arslan *et al.* (2017) e Machado, Garcia e Abrantes (2008) correlacionaram valores de polímeros com o tempo de fritura dos óleos e verificaram que, conforme é aumentado o tempo de fritura, observa-se uma maior polimerização em todos os óleos estudados, e consequentemente diminui os valores de ácidos graxos insaturados.

Tabela 3 - Resultados de TBARS em amostras de canudinhos fritos no último dia de fritura

Amostras	Tba	
	Sem luz	Com luz
GP90	6,440 ± 1,143 ^a	6,253 ± 2,373 ^a
GP105	3,501 ± 0,268 ^a	4,303 ± 0,035 ^a
GHV90	3,094 ± 1,070 ^a	4,399 ± 3,068 ^a
GHV105	3,609 ± 0,005 ^a	4,859 ± 0,836 ^a

Fonte: Dos autores, 2019.

Legenda: GP0 – Gordura de palma com tempo de armazenamento de 0 dias, GP90 - Gordura de palma com tempo de armazenamento de 90 dias, GP105 - Gordura de palma com tempo de armazenamento de 105 dias, GHV0 - Gordura hidrogenada vegetal com tempo de armazenamento de 0 dias, GHV90 - Gordura hidrogenada vegetal com tempo de armazenamento de 90 dias, GHV105 - Gordura hidrogenada vegetal com tempo de armazenamento de 0 dias.

Nota: a,b...(coluna) – médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Além disso, existem diversos fatores que podem influenciar os resultados do índice de TBArS. A reação do ácido tiobarbitúrico pode ser afetada pela composição do alimento, bem como pelo tipo de lipídio utilizado na fritura, mas também por razões da própria análise, como a técnica aplicada e a presença de substâncias reativas, que podem diminuir a oxidação (JORGE; JANIERI, 2005).

Concomitantemente às reações químicas, os óleos vegetais possuem uma grande quantidade de compostos naturais, capazes de beneficiar a estabilidade do óleo durante o aquecimento e fritura, tais como, tocoferóis, compostos fenólicos, esteróis e etc. Esses compostos podem alterar o comportamento da GP durante processos de fritura longos, o que pode ser comparado ao caso desse estudo. Ao correlacionar as análises de índice de acidez, índice de peróxidos e TBArS, percebeu-se que apresentam o mesmo comportamento. Canudinhos fritos em gordura de palma, têm valores maiores no início em comparação com o tempo final de armazenamento, e em GHV os valores são crescentes, o que pode ser associado a presença de antioxidantes na GP adicionados e naturalmente presentes. Du Plessis e Meredith (1999), analisaram o comportamento do antioxidante tocoferol, presente de maneira natural na estrutura da gordura de palma, e verificaram que o valor total de tocoferol decresce até o tempo de fritura 13,5 horas e após esse período aumenta nos tempos 26,5 e 30,5 horas de fritura. Pode-se, então, perceber uma relação entre o comportamento da rancidez e a presença dos compostos antioxidantes naturais.

Conclusão

Os dados obtidos através dos experimentos de fritura em canudinhos fritos utilizando as gorduras de palma e hidrogenada vegetal demonstram que a gordura de palma é mais estável nas condições aplicadas a este estudo. Maiores graus de alteração ocorreram em canudinhos fritos e armazenados em condições de iluminação alta, justificando-se assim a recomendação de manter o produto sob condições restritas de luz e calor durante o armazenamento. A determinação de aumento de *shelf-life* empregando apenas as análises consideradas, pode ser alterada para além de 90 dias, porém sugere-se que seja feita uma análise sensorial a fim de monitorar e acompanhar a alteração, considerando-se que pela análise química observa-se uma diminuição dos parâmetros de controle da rancidez.



Referências

AHMED, M. *et al.* Oxidation of lipids in foods. **Sarhad Journal of Agriculture**, v. 32, n. 3, p. 230–238, 2016.

AMMAR, M. S. A comparative study on the antioxidant activity of tbhq and extracts from rosemary and oregano on oxidative stability of palm olein during deep fat frying of beef meatballs. **Middle East Journal of Applied Sciences**, v. 6, n. 4, p. 671–681, 2016.

ARSLAN, F. N. *et al.* A study on monitoring of frying performance and oxidative stability of cottonseed and palm oil blends in comparison with original oils. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 3, p. 704–717, 2017.

ASCHERIO, A. *et al.* Trans fatty acids and coronary heart disease. **Critical Care Medicine**, v. 340, p. 1994–1997, 2011.

AYU, D. F. *et al.* Photo-oxidative changes of red palm oil as affected by light intensity. **International Food Research Journal**, v. 24, n. 3, p. 1270–1277, 2017.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. Canadian journal of biochemistry and physiology. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959.

BRASIL. RDC nº 210 de 22 de setembro de 2005. Dispõe sobre o Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 22 set 2005. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0270_22_09_2005.html. Acesso em 30 abr 2019.

CASAL, S. *et al.* Olive oil stability under deep-frying conditions. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 10, p. 2972–2979, 2010.

CHEN, Y. *et al.* The analysis of trans fatty acid profiles in deep frying palm oil and chicken fillets with an improved gas chromatography method. **Food Control**, v. 44, p. 191–197, 2014.

CURVELO, F. M. *et al.* Qualidade do óleo de palma bruto (*Elaeis guineensis*): matéria-prima para fritura de acarajés. **Instituto Adolf Lutz**, v. 70, n. 4, p. 641–646, 2011.

DAMY, P. de C.; JORGE, N. Determinações físico-químicas do óleo de soja e da gordura vegetal hidrogenada durante o processo de fritura descontínua. **Journal Of Food Technology**, v. 6, p. 2002–2003, 2003.

DU PLESSIS, L. M.; MEREDITH, A. J. Palm olein quality parameter changes during industrial production of potato chips. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 76, n. 6, p. 731–738, 1999.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema** – 4ª ed. - Editora Artmed, 2010.

IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **1ª Edição Digital**. 4º edição. São Paulo: [s. n.], 2008. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>. Acesso em 30 abr. 2019.

JORGE, N.; JANIERI, C. Evaluation of soybean oil submitted to the frying process of varied foods. **Ciência e agrotecnologia.**, v. 29, p. 1001–1007, 2005.

JUÁNIZ, I. *et al.* Effect of frying process on furan content in foods and assessment of furan exposure of Spanish population. **Food Science and Technology**, v. 68, p. 549–555, 2016.

LIU, Y. *et al.* Effect of frying oils' fatty acid profile on quality, free radical and volatiles over deep-frying process: A comparative study using chemometrics. **Food Science and Technology**, v. 101, p. 331–341, 2019.

MACHADO, E. R.; GARCÍA, M. del C. D.; ABRANTES, S. de M. P. Alterações dos óleos de palma e de soja em fritura descontínua de batatas. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 4, p. 786–792, 2008.

MARINOVA, E. M. *et al.* Oxidative changes in some vegetable oils during heating at frying temperature. **Bulgarian Chemical Communications**, v. 44, n. 1, p. 57–63, 2012.

MBA, O. I.; DUMONT, M. J.; NGADI, M. Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry - a review. **Food Bioscience**, v. 10, p. 26–41, 2015.

MONTES O. *et al.* Absorción de aceite en alimentos fritos. **Revista chilena de nutrición**, v. 43, n. 1, p. 87–91, 2016.

NAYAK, P. K. *et al.* Physio-chemical changes during repeated frying of cooked oil: a review. **Journal of Food Biochemistry**, v. 40, n. 3, p. 371–390, 2016.

OSAWA, C. C.; GONÇALVES, L. A. G.; RAGAZZI, S. Titulação potenciométrica aplicada na determinação de ácidos graxos livres de óleos e gorduras comestíveis. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 593–599, 2006.

PAPASTERGIADIS, A. *et al.* Malondialdehyde measurement in oxidized foods: evaluation of the spectrophotometric thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) test in various foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 9589–9594, 2012.

PARK, J.-M.; KIM, J.-M. Monitoring of used frying oils and frying times for frying chicken nuggets using peroxide value and acid value. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 36, n. 5, p. 612–616, 2016.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 145, 2011.

RAMÍREZ, B. D. G.; GALÁN, J. P. M.; ZULETA, L. M. C. Composición de ácidos grasos en algunos alimentos fritos y aceites de fritura y factores relacionados, en un sector universitario de Medellín-Colombia. **Perspectivas en Nutrición Humana**, v. 16, n. 2, p. 159–174, 2015.

RIOS, H. C. S.; PEREIRA, I. R. O.; ABREU, E. S. de. Avaliação da oxidação de óleos, gorduras e azeites comestíveis em processo de fritura. **Revista Ciência e Saúde**, v. 6, n. 2, p. 118–126, 2013.

ROBERTSON, J. A. *et al.* Flavor and chemical evaluation of potato chips fried in sunflower, cottonseed and palm oils. **Journal of Food Science**, v. 43, n. 2, p. 420–423, 1978.

SANIBAL, E. A. A.; MANCINI FILHO, J. Perfil de ácidos graxos trans de óleo e gordura hidrogenada de soja no processo de fritura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 27–31, 2004.

SANMARTIN, C. *et al.* The effects of packaging and storage temperature on the shelf-life of extra virgin olive oil. **Heliyon**, v. 4, n. 11, 2018.

SATHIANATHAN, R. V. *et al.* Profiling of fatty acid compositional alterations in edible oils upon heating using gas chromatography. **Journal of Physical Science**, v. 25, n. 2, p. 1–14, 2014.

SOARES, D. J. *et al.* Processos oxidativos na fração lipídica de alimentos. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 263–272, 2012.

SOUZA, A. de M. *et al.* Alimentos mais consumidos no Brasil: Inquérito Nacional de Alimentação 2008-2009. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, n. 1, p. 190s-199s, 2013.

TOLENTINO, M. C. *et al.* Avaliação da estabilidade foto-oxidativa dos óleos de canola e de milho em presença de antioxidantes sintéticos. **Ciência Rural**, v. 44, n. 4, p. 728–733, 2014.



21 Capítulo

Validação de metodologia
para determinação de
benzo(a)pireno em
amostras de salame
usando SPE e UHPLC

Capítulo 21

Validação de metodologia para determinação de benzo(a)pireno em amostras de salame usando SPE e UHPLC

Gustavo Zanetti de Rossi¹; Marina Missae Ossugui¹; Simone Alves da Silva²; Adriana Palma de Almeida²; Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres³; Geni Rodrigues Sampaio*⁴

Resumo

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) representam um grupo de contaminantes com mais de 200 compostos que apresentam na estrutura dois ou mais anéis aromáticos condensados. Dentre eles, o benzo(a)pireno (BaP) é o mais estudado, considerando sua carcinogenicidade, sendo classificado no grupo 1 da Agência Internacional de Pesquisas em Câncer (IARC). Os HPAs são formados na combustão incompleta da matéria orgânica, e podem contaminar os alimentos através de fontes ambientais, no processo de secagem, defumação ou durante o preparo dos mesmos. Estudos internacionais constataram que produtos cárneos apresentaram os maiores níveis de HPAs em alimentos, em especial os defumados. Desta forma, ter uma metodologia validada é essencial para obtenção de dados de ocorrência com confiabilidade. O objetivo deste trabalho foi validar metodologia para análise de BaP em salame. Os testes incluíram avaliação da linearidade, seletividade, exatidão, precisão, limites de detecção e quantificação. A metodologia incluiu etapas de saponificação, extração líquido-líquido, purificação em cartuchos de sílica e quantificação por cromatografia líquida de ultra eficiência (UHPLC) com detecção por fluorescência. Os resultados de validação indicaram que o método desenvolvido foi satisfatório, com resultados dentro dos limites aceitáveis. A metodologia foi aplicada em amostras comerciais, e os resultados indicaram que 28 das 30 amostras (93%) apresentaram concentrações de BaP abaixo do limite de quantificação do método (0,50 µg/kg), sendo que apenas uma amostra continha 2,34 µg/kg, valor acima do limite máximo tolerado pela Comunidade Europeia (2,0 µg/kg).

Palavras-chave: Contaminante. Cromatografia líquida. Embutido. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

¹ Bolsista, Núcleo de Contaminantes Orgânicos, Centro de Contaminantes, Instituto Adolfo Lutz.

² Pesquisador Científico, Núcleo de Contaminantes Orgânicos, Centro de Contaminantes, Instituto Adolfo Lutz.

³ Professora Associada, Departamento de Nutrição, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo.

⁴ Especialista de laboratório, Departamento de Nutrição, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo.

* E-mail para correspondência: genirs@usp.br

Introdução

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) constituem um grupo de mais de 200 compostos químicos com dois ou mais anéis condensados, somente com carbono e hidrogênio. Os HPAs contendo até quatro anéis aromáticos em sua composição são classificados como HPAs leves e os que contêm mais que quatro anéis aromáticos são considerados HPAs pesados. Devido ao maior peso molecular, os HPAs pesados são considerados mais estáveis e mais tóxicos do que os HPAs leves (GARCIA *et al.*, 2014).

São produzidos por combustão incompleta da matéria orgânica, por uma série de complexas reações químicas (RENGARAJAN *et al.*, 2015). No ambiente, são provenientes de fontes naturais ou fontes antropogênicas. Os humanos estão expostos aos HPAs tanto por fontes dietéticas como não dietéticas, mas a primeira forma é considerada a de maior relevância (BANSAL; KIM, 2015).

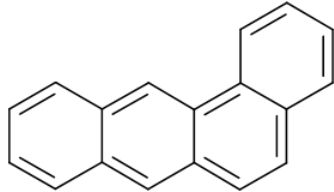
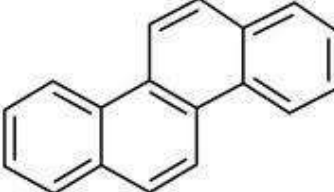
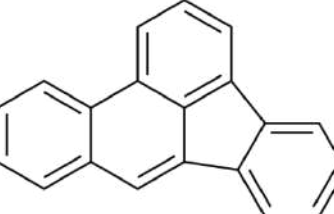
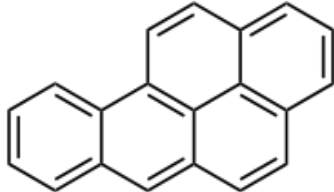
Estudos epidemiológicos com humanos e com animais de laboratório indicam que a exposição aos HPAs é um dos fatores responsáveis pelo aumento de câncer ao qual a população está exposta. A natureza lipofílica dos HPAs permite ligações com a membrana celular, interferindo no seu funcionamento devido à mudança estrutural. Os HPAs podem, via metabolismo, ligar-se a proteínas e DNA, causando danos carcinogênicos, mutagênicos, teratogênicos. Os efeitos tóxicos dependem do tempo e do modo de exposição, apresentando em curto prazo irritação dérmica e ocular, náusea, vômito e inflamações, e em longo prazo cânceres de pele, pulmão, bexiga, e gastrointestinal, dentre outros (KIM *et al.*, 2013).

A Agência Internacional de Pesquisas em Câncer (IARC), que avalia os riscos de carcinogenicidade associada à exposição de substâncias e misturas complexas, classifica apenas o benzo(a)pireno (BaP) como carcinogênico (Grupo 1). Outros HPAs como benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(a)antraceno (BaA) e criseno (Cri) são classificados como possivelmente carcinogênicos (Grupo 2B), indicando que há evidência limitada de carcinogenicidade em humanos (IARC, 2010, 2012).

Os HPAs têm sido encontrados nas mais diferentes categorias de alimentos e bebidas. A contaminação pode estar relacionada à contaminação ambiental, devido à presença destes contaminantes no solo, ar e água, como também podem ser depositados nestes produtos durante o processo de defumação ou de secagem. Além disso, podem ser formados durante certos tipos de processamento aos quais os alimentos podem ser submetidos, como secagem, grelha, tostagem, torrefação e fritura, devido à pirólise direta dos nutrientes (BANSAL; KIM, 2015).

Devido à toxicidade dos HPAs, algumas legislações sugerem o monitoramento dos contaminantes mais relevantes em alimentos, estabelecendo limites seguros de ingestão. A legislação brasileira é restrita e somente abrange limites para o BaP em óleo de bagaço de oliva, em aroma de fumaça e em água de consumo (BRASIL, 2003, 2007, 2017b). A Comissão Europeia abrange diversas legislações incluindo vários tipos de alimentos, e estabelece o rastreamento da soma dos 4 HPAs prioritários (BaA, Cri, BbF e BaP), apontado um nível máximo separado para o BaP, com o intuito de levantar dados para comparação futura (Quadro 1). Assim, o Regulamento EC nº 835/2011 é a legislação europeia mais ampla que define os valores máximos permitidos em alimentos, sobretudo para carnes e produtos à base de carne defumada, com limites de 2 µg/kg para BaP, e de 12 µg/kg para a somatória dos 4 HPAs (CEC, 2011a).

Quadro 1 - Quatro hidrocarbonetos policíclicos aromáticos prioritários segundo Comunidade Europeia na análise de alimentos

Nome do composto	Abreviação	Fórmula química	Estrutura
Benzo(a)antraceno	BaA	$C_{18}H_{12}$	
Criseno	Cri	$C_{18}H_{12}$	
Benzo(b)fluoranteno	BbF	$C_{20}H_{12}$	
Benzo(a)pireno	BaP	$C_{20}H_{12}$	

Fonte: Adaptado de Sampaio *et al.*, 2021.

Os produtos curados podem ser defumados, com o objetivo de dar sabor e odor característicos, além de aumentar o tempo de prateleira (BRASIL, 2017a). Mas durante o processo de defumação, os HPAs são transportados da câmara de defumação para os alimentos por aerossóis, tornando-os contaminados (LEDESMA; RENDUELES; DÍAZ, 2015).

A quantidade de HPAs presente em alimentos defumados pode ser proveniente de vários fatores tecnológicos, mas principalmente devido ao tipo de defumação utilizado. Os métodos de defumação são classificados em dois grupos principais: defumação direta ou indireta. Durante a defumação direta, a fumaça é gerada na mesma câmara que a carne é defumada e pode ser classificada como defumação tradicional a frio ou a quente, de acordo com a temperatura da fumaça. Na defumação indireta, a fumaça utilizada para defumar não é gerada na mesma câmara em que a carne é defumada, ou mesmo pode ser utilizado o aroma de fumaça com a intenção de fornecer as características específicas ao produto. Métodos indiretos compreendem uma série de novos processos que colaboram na redução da contaminação. Mas vários fatores podem influenciar a contaminação durante a defumação, incluindo o tipo de madeira usado, a umidade da câmara de defumação, temperatura da combustão, a maneira como a fumaça flui na câmara, o tempo do processo, a extensão da superfície de contato da carne e a quantidade de água e lipídeos no produto (LEDESMA; RENDUELES; DÍAZ, 2015).

Países têm investigado os teores de HPAs em produtos cárneos defumados e, sobretudo, países europeus têm encontrado, com frequência, amostras contaminadas, com concentrações acima do permitido pela legislação. Um exemplo é o estudo realizado por Zachara, Gałkowska e Juszcak (2017), o qual analisaram peixes enlatados e defumados, linguças, presunto de porco e filé de frango, todos defumados nos modos tradicional e industrial. As linguças que foram submetidas à defumação tradicional apresentaram a maior concentração média de HPAs. Wretling *et al.* (2010) analisaram amostras de carne e peixe defumados suecos, encontrando valores acima do permitido para o BaP em presunto (13,3 µg/kg) e em bacon (9,4 µg/kg). No Brasil, Camargo (2000) analisou amostras de bacon, linguça, frango e salsicha defumados, encontrando valores menores que 0,44 µg/kg de BaP.

A metodologia para análise de HPAs em produtos cárneos, incluindo BaP, geralmente ocorre em quatro etapas: saponificação, extração líquido-líquido (ELL), purificação e quantificação. A saponificação é uma etapa importante, considerando a quantidade de lipídios e proteínas presente na matriz carne, facilitando a liberação dos analitos de interesse. Em seguida, faz-se a ELL com solvente orgânico (em geral, n-hexano) para a limpeza da fase não saponificada e para o isolamento dos HPAs. A etapa de purificação pode ser realizada com cartucho de extração de fase sólida (SPE) associada a um solvente orgânico, usando sorbentes como sílica, C18, florisil ou outros. Mais recentemente, a

extração por QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe*) têm-se mostrado promissora para a análise de HPAs devido às vantagens como rapidez e baixo consumo de solventes (KIM *et al.*, 2019; PURCARO; MORET; CONTE, 2013; SAMPAIO *et al.*, 2021).

A quantificação pode utilizar a cromatografia gasosa, com detector de ionização de chama ou acoplados à espectrometria de massas, ou a cromatografia líquida de alta ou ultra eficiência (HPLC e UHPLC), acoplada à espectrometria de massas com ionização química ou fotoionização à pressão atmosférica, ou uso de detectores de ultravioleta ou de fluorescência, sendo o último mais utilizado em análises de bebidas e alimentos devido à elevada seletividade e sensibilidade, devido à propriedade restrita de fluorescência de alguns compostos (PURCARO; MORET; CONTE, 2013; SAMPAIO *et al.*, 2021).

O objetivo deste trabalho foi validar metodologia para análise de BaP em salame, incluindo a avaliação da linearidade, seletividade, exatidão, precisão, limites de detecção e quantificação, bem como a aplicação do método para verificar a ocorrência do contaminante em amostras comerciais.

Material e Métodos

Trinta amostras de salame, de 20 diferentes marcas, foram adquiridas no comércio da cidade de São Paulo/SP. Uma delas, com teores abaixo do limite de detecção, foi usada para os ensaios de validação. A metodologia para extração do BaP fundamentou-se no trabalho de BOGDANOVIĆ *et al.* (2019), com modificações. Cerca de dois gramas de amostra foram saponificadas com 5 mL de hidróxido de potássio (KOH) 2M em etanol, usando banho-maria a 40 °C por 3 horas. Após resfriar, foram adicionados 5 mL de água deionizada e 10 mL de n-hexano e misturados em vortex. A fase orgânica foi retirada e a extração com n-hexano repetida por mais duas vezes. Os extratos combinados foram lavados com metanol (MeOH):água (H₂O) (4:1, v/v), MeOH:H₂O (1:1, v/v) e água deionizada, filtrados em sulfato de sódio anidro para retirada de água residual, e levados à evaporação até secagem. O extrato foi ressuscendido em 3 mL de acetonitrila para a etapa de purificação.

Na etapa de purificação, cartuchos de extração em fase sólida de sílica (500 mg, 6 mL, Discovery DSC-Si, Supelco) foram pré-condicionados com 3 mL de acetonitrila, passando-se 3 mL do extrato da amostra, e lavagem com 3 mL de acetonitrila, com controle de fluxo em 2 mL/min usando o sistema automatizado de extração em fase sólida (Gilson Inc., GX-274 ASPEC). Todo o extrato de acetonitrila foi recolhido e seco a 30 °C em concentrador a vácuo. Então, o resíduo dissolvido em um mililitro de acetonitrila e acondicionado em vials para posterior análise cromatográfica.



O método cromatográfico usado para quantificação foi fundamentado no estudo de Silva, Sampaio e Torres (2017), usando a técnica de UHPLC com detecção por fluorescência. Utilizou-se o cromatógrafo a líquido de ultra eficiência, marca Shimadzu, nas seguintes condições cromatográficas: temperatura do forno a 30°C, injeção automática de 2 µL, comprimento de onda de excitação de 290 nm e excitação 430 nm, fase móvel com fluxo de 0,4 mL/min, composta por acetonitrila e água, com gradiente: 0-0,9 min, 65% ACN; 0,9-7 min, gradiente linear 65-75% ACN; 7-17 min, 75% ACN; 17-20 min, gradiente linear 75-100% ACN; 20-24 min, 100% ACN; retornando às condições iniciais. A separação dos compostos ocorreu na coluna Zorbax Eclipse PAH (100 mm x 2,1 mm, 1,8 µm, Agilent), protegida por coluna de guarda (5 mm x 2,1 mm, 1,8 µm, Eclipse Plus, Agilent). O software empregado para a aquisição dos dados foi o LabSolutions (Shimadzu) e a quantificação foi feita por padronização externa.

Para verificar as características de desempenho do método, foi realizada a validação de acordo com o Guia do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO, 2018), incluindo os seguintes parâmetros: linearidade, seletividade, exatidão (recuperação), precisão (repetitividade e precisão intermediária), limites de detecção (LD) e quantificação (LQ).

A linearidade do método foi determinada por preparações, em triplicatas verdadeiras, de cinco níveis de concentrações de padrões dos HPAs preparados em acetonitrila, totalizando quinze ensaios, e foram verificadas as variações de área versus as concentrações dos HPAs. A seletividade foi avaliada pela adição, em concentrações idênticas, de padrões em cinco diferentes níveis em dois grupos, solvente e amostra de salame; os ensaios foram realizados em triplicata e as inclinações das curvas de calibração dos dois grupos comparadas.

A exatidão foi verificada por meio da avaliação da recuperação na matriz salame em cinco níveis de concentração, em triplicata. Para avaliar a precisão do método, foi avaliado o coeficiente de variação (CV) da amostra fortificada em diferentes níveis de concentração, no mesmo dia (repetibilidade) e dias diferentes (precisão intermediária), sendo este último avaliado também por diferentes analistas em um mesmo equipamento. Para cálculo do LD e LQ, foram utilizados valores de desvio-padrão obtidos das concentrações de seis replicatas, nos menores níveis de concentração do ensaio de seletividade, e calculados multiplicando o desvio padrão (DP) pelos fatores 3 (LD) e 10 (LQ).

Resultados e Discussão

O método desenvolvido provou ser adequado para análise de HPAs em amostras de salame, apresentando alta seletividade e boa precisão. Foram realizados testes de avaliação da performance incluindo linearidade, seletividade, exatidão, repetitividade, limites de detecção e quantificação.

Na avaliação da linearidade, as curvas foram analisadas pela regressão linear, pelo método dos mínimos quadrados, e o coeficiente de correlação quadrado (r^2) foi de 0,9981. Foi verificada a ausência de valores discrepantes pelo teste de *Grubbs*, com 99% de confiança. Para avaliar as variâncias dos resíduos ao longo das curvas de calibração, foi aplicado o teste de *Cochran*. As curvas de calibração apresentaram comportamento homocedástico, ou seja, ao longo da faixa de trabalho apresentaram variâncias semelhantes (Tabela 1).

Os limites de detecção e quantificação foram estimados utilizando os desvios-padrão das replicatas na menor concentração (0,50 ng/g), e foram respectivamente 0,15 e 0,50 ng/g, indicando que o método foi sensível para avaliação deste contaminante (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados do estudo de validação do método analítico para a determinação do benzo(a)pireno em salame, quanto aos parâmetros de linearidade, limites de detecção e quantificação

Inclinação (a)	Intercepção (b)	r^2	LD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Faixa de Concentração ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
16591,25	-2664,46	0,9981	0,15	0,50	0,50-10,0

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: r^2 : Coeficiente de correlação quadrado; LD: Limite de detecção; LQ: Limite de quantificação.

O ensaio de seletividade foi realizado com a intenção de verificar se existia interferência da matriz (cárneos) na análise, comparando estatisticamente as curvas da matriz fortificada e de padrões em solventes, nos mesmos níveis. A amostra foi fortificada em cinco diferentes níveis, em triplicata, na faixa entre 0,50 e 10,0 ng/g. Os resultados das áreas das amostras fortificadas foram comparados com soluções de padrões (preparadas em acetonitrila), em concentrações idênticas às amostras. Não foram verificados valores discrepantes pelo teste de *Grubbs*, com 99% de confiança. Foi realizado teste t pareado, com 95% de confiança, e as inclinações foram homogêneas entre o solvente e a amostra, não sendo detectada interferência de matriz para o benzo(a)pireno.

A exatidão foi avaliada pelas recuperações em cinco níveis, variando entre 83,15 e 99,74%, dentro dos critérios de performance aceitáveis segundo *Commission of the European Communities*

(CEC, 2011b). A precisão foi avaliada pelos coeficientes de variação, e estavam abaixo de 10%, adequados segundo INMETRO (2018) (Tabela 2).

O cromatograma obtido pela análise em UHPLC de amostra de salame fortificado pode ser visualizado na Figura 1.

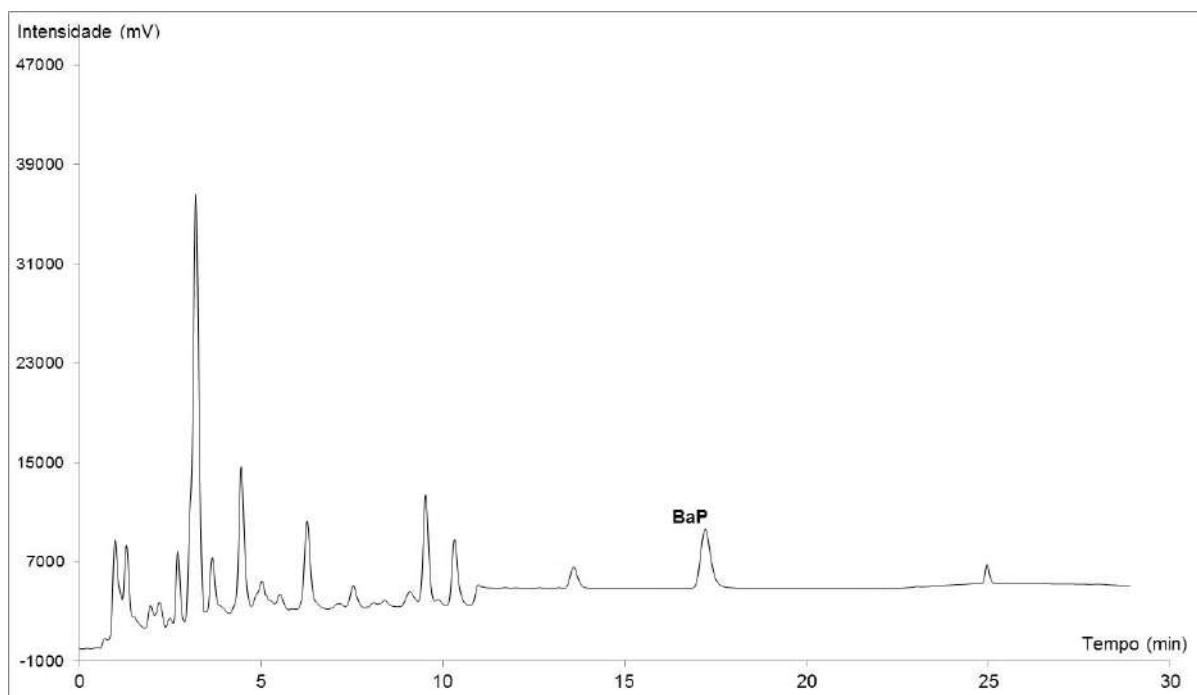
Tabela 2 - Resultados do estudo de validação do método analítico para a determinação do benzo(a)pireno em salame, quanto aos parâmetros de exatidão e precisão

Nível de fortificação (ng/g)	Dia 1		Dia 2		Precisão intermediária
	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)	CV (%)
0,50	99,74	2,11	-	-	-
1,00	97,32	1,89	82,27	1,87	9,33
2,00	83,15	4,65	82,65	8,57	6,16
5,00	90,30	0,23	85,14	3,06	3,73
7,50	83,68	3,28	-	-	-

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: CV: Coeficiente de variação.

Figura 1 - Cromatograma obtido pela análise em cromatografia líquida de ultra eficiência com detecção por fluorescência para amostra de salame fortificada com concentração de 5,0 ng/g de benzo(a)pireno



Fonte: Dos autores, 2021.

Para aplicação da metodologia, foram avaliadas trinta amostras de salame. Apenas duas amostras apresentaram teores de BaP acima do limite de quantificação, com concentrações de 0,78 e 2,34 µg/kg, sendo esta última acima do permitido pela legislação e considerada insatisfatória (CEC, 2011a). Esta amostra era apenas a tripa de um dos salames analisados, indicando que a contaminação foi maior na parte externa do produto. Em sua rotulagem havia a indicação de amostra defumada, e desta maneira a alta contaminação pode estar relacionada ao tipo de defumação utilizado, não indicado no rótulo.

Tabela 3 - Teores de BaP (µg/kg) para as diferentes amostras de salame analisadas

	ND	LD<x≤LQ	x>LQ	Teor máximo (µg/kg)
Salame (n=30)	12 (40%)	16 (53%)	2 (7%)	2,34

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: LD: Limite de detecção (0,15 µg/kg); LQ: Limite de quantificação (0,50 µg/kg); ND: não detectado (abaixo do LD).

A principal causa relacionada à presença de HPAs nos embutidos é a defumação. Produtos cárneos industrializados podem ser elaborados com carnes suínas ou bovinas, embutidos em envoltórios naturais ou artificiais, curados e defumados (LEDESMA; RENDUELES; DÍAZ, 2016; ZELINKOVA; WENZL, 2015). Dependendo do tipo de defumação ao qual o alimento foi submetido, como o método direto, a contaminação pode ser maior na parte externa do produto, que pode ter sido o caso de uma das amostras analisadas. Outro fator pode ser relacionado ao uso de ingredientes que tenham passado pelo processo de defumação, como especiarias (BANSAL; KIM, 2015).

Resultados internacionais foram muito próximos aos encontrados neste estudo. Pesquisa realizada na Letônia com produtos cárneos embutidos defumados de porco encontraram resultados na faixa do LQ (0,05 µg/kg) a 6,03 µg/kg para o BaP (ROZENTALE *et al.*, 2015), enquanto Ledesma, Rendueles e Díaz (2015) obtiveram concentrações entre 0,90 a 3,21 µg/kg em chouriços defumados espanhóis.

Conclusão

O método foi validado para análise de benzo(a)pireno em salames, e os resultados para seletividade, linearidade, exatidão, precisão, limites de detecção e de quantificação foram considerados adequados, indicando que a metodologia apresenta confiabilidade dos resultados analíticos e sensibilidade. Na avaliação de amostras comerciais, o benzo(a)pireno foi detectado em

60% dos salames, mas quantificado em apenas duas amostras. Somente uma amostra excedeu o limite máximo tolerado pela Comunidade Europeia, que se tratava da tripa que envolvia um dos salames analisados. Embora os resultados estejam baixos, a avaliação de ocorrência deve ser realizada de maneira contínua, considerando a carcinogenicidade do composto.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio à pesquisa (2018/19005-6) e a parceria com o Instituto Adolfo Lutz.

Referências

BANSAL, V.; KIM, K. H. Review of PAH contamination in food products and their health hazards. **Environment International**, v. 84, p. 26-38, 2015.

BOGDANOVIĆ, T. *et al.* The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish and meat products of Croatia and dietary exposure. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 75, p. 49-60, 2019.

BRASIL. Casa Civil. Decreto nº 9013, de 29 de março de 2017 (a). Regulamento sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, que disciplina a fiscalização e a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, instituídas pela Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e pela Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 mar. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 281, de 06 de outubro de 2003. Exige como procedimento de importação para “aceite de orujo de oliva” ou óleo de bagaço... **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 08 out. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007. Regulamento técnico sobre aditivos aromatizantes. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 17 jan. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 (b). Dispõe sobre consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 03 out. 2017, p. 377-399.

CAMARGO, M. C. R. **Avaliação da ingestão de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos através da dieta**. 2000. 267 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, 2000.



CEC - COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Commission Regulation (EC) n° 835/2011, of 19 August 2011. Amending Regulation (EC) n° 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L215/4-L215/8, 2011a.

CEC - COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Commission Regulation (EC) n° 836/2011, of 20 August 2011. Amending Regulation (EC) No 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L215/9-L215/16, 2011b.

GARCIA, L. P. A. *et al.* Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em alimentos: uma revisão. **PUBVET**, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 8, n. 19, p. 2292-2450, 2014.

IARC – International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, overall evaluation of carcinogenicity. **Polynuclear Aromatic Compounds**. Lyon: IARC, vol. 35, 2010.

IARC – International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, overall evaluation of carcinogenicity. **Chemical Agents and Related Occupations**. Lyon: IARC, vol. 100F, 2012.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGRE-008. Revisão 7, 2018. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc_organismos.asp?tOrganismo=CalibEnsaio>. Acesso em: 08 jun. 2021.

KIM, K. H. *et al.* A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. **Environment International**, v. 60, p. 71-80, 2013.

KIM, L. *et al.* Review of the QuEChERS method for the analysis of organic pollutants: Persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 22, e00063, 2019.

LEDESMA, E.; RENDUELES, M.; DÍAZ, M. Spanish smoked meat products: benzo(a)pyrene (BaP) contamination and moisture. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 37, p. 87-94, 2015.

LEDESMA, E.; RENDUELES, M.; DÍAZ, M. Contamination of meat products during smoking by polycyclic aromatic hydrocarbons: Processes and prevention. **Food Control**, v. 60, p. 64-87, 2016.

PURCARO, G.; MORET, S.; CONTE, L. S. Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: occurrence, legislation and innovative determination in foods. **Talanta**, v. 105, p. 292-305, 2013.

RENGARAJAN, T. *et al.* Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with special focus on cancer. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 3, p. 182-189, 2015.



ROZENTALE, I. *et al.* Assessment of dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from smoked meat products produced in Latvia. **Food Control**, v.54, p. 16-22, 2015.

SAMPAIO, G. R. *et al.* Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Foods: Biological Effects, Legislation, Occurrence, Analytical Methods, and Strategies to Reduce Their Formation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 6010, 2021.

SILVA, S. A.; SAMPAIO, G. R.; TORRES, E. A. F. Optimization and validation of a method using UHPLC-fluorescence for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in cold pressed vegetable oils. **Food Chemistry**, v. 221, p. 809-814, 2017.

WRETLING, S. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Swedish smoked meat and fish. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 3, p. 264-272, 2010.

ZACHARA, A.; GAŁKOWSKA, D.; JUSZCZAK, L. Contamination of smoked meat and fish products from Polish market with polycyclic aromatic hydrocarbons. **Food Control**, v. 80, p. 45-51, 2017.

ZELINKOVA, Z.; WENZL, T. The occurrence of 16 EPA PAHs in food—a review. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 35, n. 2-4, p. 248-284, 2015.



22 Capítulo

Otimização de método de
extração, identificação
e quantificação de
aminoácidos por HPLC-FL

Capítulo 22

Otimização de método de extração, identificação e quantificação de aminoácidos por HPLC-FL

Anelise Christ-Ribeiro*¹; Marcy Heli Paiva Rodrigues¹; Janaína Barreto Alves¹; Eliana Badiale-Furlong¹

Resumo

A determinação do perfil aminoacídico de proteínas requer a hidrólise da estrutura polimérica, separação e determinação de cada aminoácido. Dentre os pontos críticos durante a determinação destaca-se a hidrólise incompleta, degradação de cadeias laterais de aminoácidos (AAs), tempo de análise e a geração de sinal analítico detectável. Este estudo foi realizado para validar um método para determinar aminoácidos por técnica cromatográfica acoplada a fluorescência em materiais complexos, com diferentes níveis proteicos, visando estabelecer condições de hidrólise ácida com tempo reduzido, sem prejuízo da confiabilidade da determinação. A albumina de soro bovino (BSA) foi utilizada como padrão para estabelecimento das condições de hidrólise, determinação e validação do método. O procedimento de hidrólise ácida sob calor seco consistiu em manter o padrão de BSA a 110 °C por 24 h em estufa com circulação de ar e a hidrólise em autoclave foi realizada até temperatura de 100 °C e a pressão foi então aumentada para 1,1 atm por 8 min. Os aminoácidos, ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutâmico, prolina, glicina, alanina, cisteína, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina, fenilalanina, histidina, lisina e arginina mostraram limites de detecção que variaram entre 0,07 a 16,6 ng/mL e linearidade entre 0,25-250 ng/mL. O procedimento de hidrólise em autoclave mostrou-se mais eficiente reduzindo o tempo em 79% e proporcionou maior eficiência na quantificação dos AAs de 88,3%, além disso, exibiu um cromatograma com melhor performance apresentando um diferencial no perfil da proteína padrão.

Palavras-chave: Autoclave. Estufa. Hidrólise ácida. Validação.

¹Laboratório de Micotoxinas e Ciência de Alimentos, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande – FURG.

* E-mail para correspondência: anelise.christ@hotmail.com

Introdução

Conhecer o perfil de aminoácidos em matrizes alimentares permite inferir o aporte nutricional que representam, identificar características metabólicas das espécies (KELLY; PEARCE, 2020) e ainda subsidiar a geração de modelos em estudos de proteômica (CARBONARO, 2004). O avanço das estratégias analíticas de alto desempenho, empregando novas tecnologias para medir sinas analíticas tem contribuído para a detecção confiável de aminoácidos (FERRÉ *et al.*, 2019). As técnicas espectroscópicas, eletroforese capilar e métodos eletroquímicos hifenados com cromatógrafos com diferentes fundamentos de separação e limites de detecção tem sido utilizada e seus informes gerado modelos para identificação e certificação de materiais (MOUSAVI; PAWLISZYN, 2013; KAZAN *et al.*, 2016; SONG *et al.*, 2018; TSUNODA; SUMIDA, 2018).

No entanto, um desafio que permanece é na etapa de preparo de amostra, especificamente nas condições de hidrólise da cadeia peptídica. O preparo da amostra empregando hidrólise ácida da cadeia peptídica requer temperaturas elevadas por longos períodos e soluções de ácidos concentrados, cujas consequências são a perda de alguns aminoácidos aromáticos, como o triptofano, ou a hidrólise incompleta de matrizes ricas em material lignocelulósico, lipídios e outros. As temperaturas elevadas para a hidrólise são mantidas com o uso de estufas, banhos térmicos ou autoclave podendo ocasionar a carbonização da matriz, além da dificuldade de manejo seguro do hidrolisado (RUTHERFURD; GILANI, 2009, RUTHERFURD; DUNN, 2011, MARCET *et al.*, 2016). A hidrólise alcalina preserva os aminoácidos aromáticos, mas por outro lado propicia a formação de pigmentos escuros, nem sempre hidrolisa toda a cadeia peptídica e dificulta a detecção dos aminoácidos. Hidrólise enzimática da proteína é o processo que permite melhor inferir sobre a biodisponibilidade de aminoácidos, mas são necessárias várias famílias de enzimas, que atuam sob condições distintas o que torna o processo moroso que pelas muitas etapas não garante a hidrólise completa da cadeia polimérica. Além disso, as diferentes etapas propiciam perdas estequiométricas e elevam o custo da determinação (RUTHERFURD; GILANI, 2009, HODGKINSON; MOUGHAN, 2003, AMAGLIANI *et al.*, 2017).

A hidrólise ácida é mais promissora porque a diversidade das matrizes alimentares, em que as proteínas podem se associar de formas distintas com carboidratos, lipídios e outros compostos que são capazes de atuar como inibidores enzimáticos ou promotores de reações de escurecimento oxidativo, não afetam grandemente a completude da hidrólise ou causam a perda de aminoácidos. O ponto crítico neste método é a combinação de concentração de ácido tempo e temperatura reacional que promova a hidrólise completa da cadeia aminoacídica das proteínas em diferentes matrizes (RUTHERFURD; DUNN, 2011, SONG *et al.*, 2018).

Para avaliar a eficiência da etapa de preparo de amostra usando hidrólise ácida algumas estratégias operacionais são importantes. A separação dos aminoácidos sob condições cromatográficas com fundamento que propicie uma boa interação dos analitos com a fase estacionária e fase móvel, sem requerer diferentes colunas e fases para o mesmo hidrolisado, acompanhada por um detector sensível e que confira maior especificidade na determinação do sinal do analito (KAZAN *et al.*, 2016). Uma técnica cromatográfica com estas características pode ser a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de fluorescência usando derivatização pós coluna dos aminoácidos eluidos com a fase móvel mista solvente-água (DENARDI-SOUZA *et al.*, 2017).

Outro ponto importante para avaliar a performance da etapa hidrolítica é o uso de uma proteína padrão, como a albumina de soro bovino, para comparar com as matrizes de interesse (MOREIRA *et al.*, 2015). A complexidade, um fator importante para a eficiência da hidrólise, pode variar desde matrizes lignocelulosicas de farelos cereais, cujos teores proteicos e lipídicos são acima de 12% ou outros tecidos vegetais como os frutos, que também são ricos em carboidratos gelificados, porém com teores proteicos abaixo de 5% (CHRIST-RIBEIRO *et al.*, 2017, CHRIST-RIBEIRO *et al.*, 2020, ZAKY *et al.*, 2020). Usar amostras com estas características para adequar a hidrólise é uma estratégia que permite inferir com segurança sobre a eficiência da etapa de preparo hidrolítico da amostra para estudo do perfil aminoacídico das proteínas.

Neste contexto este estudo foi realizado para validar um método para determinar aminoácidos por técnica cromatográfica acoplada a fluorescência em materiais altamente complexos, com diferentes teores protéicos, visando estabelecer condições de hidrólise ácida com tempo reduzido, sem prejuízo da confiabilidade da determinação.

Material e Métodos

Padrões de aminoácidos

Os padrões de aminoácidos (Sigma Aldrich) usados foram albumina de soro bovino (BSA) (99% de pureza), ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutâmico, prolina, glicina, alanina, cisteína, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina, fenilalanina, histidina, lisina e arginina. Os padrões de aminoácidos foram solubilizados com citrato de sódio dihidratado, ácido perclórico 60% e água ultrapura (pH 2,2) na proporção (1:1:60) (p/v/v) e utilizados na seguinte faixa de concentração: $2,5 \times 10^{-4}$ $\mu\text{mol/mL}$ a $0,5 \mu\text{mol/mL}$ (DENARDI-SOUZA *et al.*, 2017).

Condições cromatográficas

Os aminoácidos foram identificados e quantificados em cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado à sistema de derivatização pós coluna, detector de fluorescência (Shimadzu, LC-20AD, Tóquio, Japão). A coluna cromatográfica foi a Shim-pack Amino-Na (100 mm × 6 mm) aonde foi realizada a eluição dos aminoácidos em 45 minutos no modo gradiente com duas soluções preparadas em água ultrapura. Uma das soluções foram compostas por um tampão de ácido cítrico 0,2 M pH 3,2 (solução A), enquanto o outro consistia em um tampão de ácido cítrico, ácido bórico e hidróxido de sódio 0,2 M pH 10 (solução B) e uma solução de limpeza de hidróxido de sódio 0,2 M (solução C). O Gradiente de eluição utilizado: 0-9 min 100% de A; 9-13 min 93% de A e 7% de B; 13-17,2 min 92% A e 8%B; 17,21-20,80 min 89% A e 11% B; 20,8-20,81 min 50% A e 50% B; 20,81-22 min 42% A e 58% B; 22-22,01 min 85% B; 22,01-29,3 85% B; 29,31-33 min 100% C; 33-35 min 0% C; 35-36,5 min 0,6 mL/min; 36,5-43,30 min 0,7 mL/min; 43,30-44 min 0,6 mL/min.

A derivatização pós-coluna foi realizada a partir de uma solução tampão contendo carbonato de sódio (0,384 M), ácido bórico (0,216 M) e sulfato de potássio (0,108 M). Essa solução foi dividida em duas partes, em uma foi adicionada 1% hipoclorito de sódio e na outra N-acetil-L-cisteína e ortoftalaldeído. Os comprimentos das ondas para detecção foram de 350 nm para excitação e 450 nm para emissão. A identificação de aminoácidos foi realizada comparando os tempos de retenção de padrões e quantificação em curva analítica para cada aminoácido.

Validação do método cromatográfico

A performance da separação cromatográfica foi avaliada de acordo com recomendações do ICH (2005) e EURACHEM (2014) com os parâmetros de limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), faixa de trabalho e curva analítica.

Estabelecimento das condições de hidrólise proteica

Partindo da rotina estabelecida por Denardi-Souza *et al.* (2017) o fornecimento de temperatura para a hidrólise ácida foi comparado usando 2 estratégias: estufa a 110 °C e autoclave a 100 °C. O procedimento de hidrólise por estufa padronizado consistiu em pesar 0,1 g de BSA e adicionar 6 mL de HCl 6 M. A solução foi mantida a 110 °C por 24 h em estufa. O resíduo foi ressuspenso em 5 mL de água ultrapura, sonificado, filtrado (celulose 0,45 µm) e seco em banho de areia (110 °C). Por fim,

após limpeza do extrato com lavagens utilizando água ultrapura seguidos de evaporação em banho de areia, o extrato foi ressuspenso em 25 mL com água ultrapura, filtrado e injetado em HPLC-FL.

O procedimento em hidrólise ácida submetida a autoclave consistiu em pesar 0,1 g de BSA e adicionar 6 mL de HCl 6 M. A solução foi submetida a autoclave que foi aquecida até temperatura de reação desejada (100 °C). A pressão foi então aumentada para 1,1 atm, e ambas as condições foram mantidas constantes por 8 min durante o experimento. Em seguida, a autoclave foi imediatamente resfriada e despressurizada, e as amostras foram filtradas (celulose 0,45 µm) e submetidas em um banho de areia a 110 °C até completa evaporação do ácido. O extrato final, após as lavagens com água ultrapura e evaporação em banho de areia, foi ressuspenso em 25 mL com água ultrapura, filtrado e injetado em HPLC-FL.

Análise estatística

O teste “t” de Student foi aplicado para indicar diferenças entre os dois métodos de hidrólise utilizados para determinação dos aminoácidos. A análise foi realizada pelo programa Statistica 7.

Resultados e Discussão

Validação do método

A instabilidade dos aminoácidos sob condições extremas de pH e temperatura e a longa duração da hidrólise são as principais limitações na análise da composição de aminoácidos de proteínas e peptídeos (BADADANI *et al.*, 2007). Vários investigadores empregaram diferentes estratégias para superar essas limitações da hidrólise química (WEST, 1992; UEOKA *et al.*, 1990; BADADANI *et al.*, 2007). Na ausência de um método ideal para hidrólise de proteínas para garantir a estabilidade de todos os aminoácidos, está em aberto para os investigadores estabelecerem condições hidrolíticas adequadas para a estabilidade de um determinado aminoácido em estudo.

A primeira etapa deste trabalho consistiu em estabelecer as condições cromatográficas para a separação dos aminoácidos. As condições de temperatura e vazão descritas anteriormente proporcionaram a separação dos analitos. Após a separação dos aminoácidos, foram determinados o tempo de retenção, LOD e LOQ do instrumento, faixa de trabalho e as curvas analíticas dos padrões (Tabela 1).

Os resultados mostraram que o procedimento cromatográfico foi adequado para quantificação dos 17 aminoácidos, os valores de tempo de retenção estão listados na Tabela 1. A curva de cada aminoácido foi construída utilizando diferentes concentrações das soluções padrão correspondentes. Os resultados estão de acordo com as recomendações do ICH (2005) e EURACHEM (2014) com relações lineares para todas as curvas de calibração superiores a 0,97. Parâmetros como LOQ e LOD do instrumento foram observados pela relação sinal/ ruído.

Tabela 1 - Parâmetros analíticos dos aminoácidos em HPLC-FL

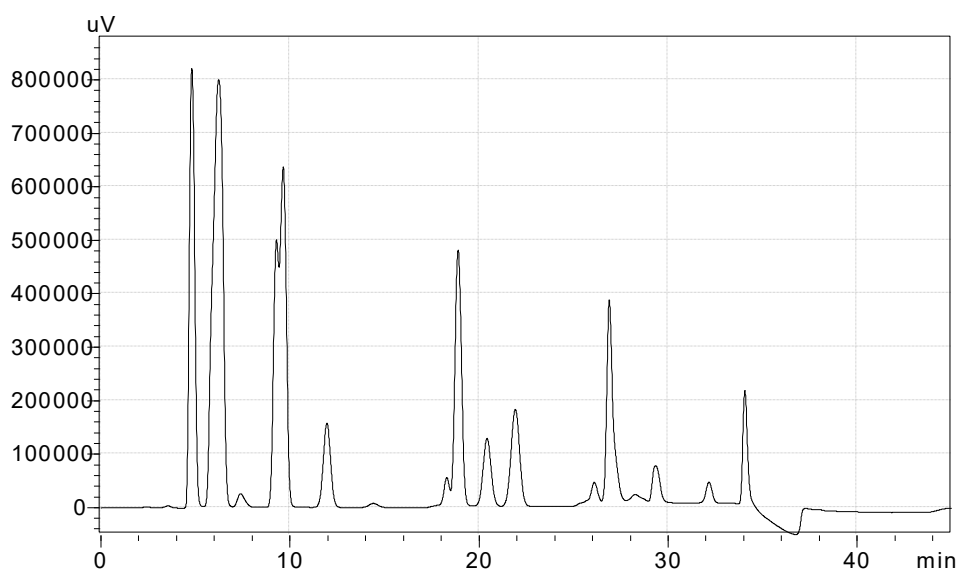
Aminoácidos	Tr (min)	LOD _i (ng/mL)	LOQ _i (ng/mL)	Faixa linear (ng/mL)	Curva analítica	Coefficiente de determinação
Ácido aspártico	6,6	0,08	0,25	0,25-250	y=1E+07x-151818	0,9922
Treonina	7,6	0,08	0,25	0,25-250	y=7E+06x-78088	0,9944
Serina	8,4	0,08	0,25	0,25-250	y=6E+06x-80500	0,9911
Ácido glutâmico	9,8	0,08	0,25	0,25-250	y=6E+06x-119365	0,9751
Prolina	10,3	0,08	0,25	0,25-250	y=1E+06X+36574	0,9751
Cisteína	10,9	0,08	0,25	0,25-250	y=648607x-9608,1	0,9951
Glicina	13,6	0,08	0,25	0,25-250	y=1E+07x-138995	0,9976
Alanina	14,3	0,08	0,25	0,25-250	y=9E+06x-137907	0,9911
Valina	18,5	0,8	2,5	2,5-250	y=1E+07x-193413	0,9928
Metionina	19,5	16,6	50	50-250	y=6E+06x-145255	0,9861
Isoleucina	22,0	16,6	50	50-250	y=1E+07x-171784	0,9904
Leucina	22,2	16,6	50	50-250	y=4E+06x-93889	0,9829
Tirosina	23,6	16,6	50	50-250	y=3E+06x-55972	0,9900
Fenilalanina	25,3	16,6	50	50-250	y=6E+06x-200711	0,9714
Histidina	27,0	0,07	0,25	0,25-250	y=1E+07x+9061,1	0,9964
Lisina	30,0	0,07	0,25	0,25-250	y=2E+06x+49965	0,9700
Arginina	34,1	16,6	50	50-250	y=5E+06x-4322,7	0,9908

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: Tr – tempo de retenção, LOD_i- instrument limit of detection, LOQ_i-instrument limit of quantification.

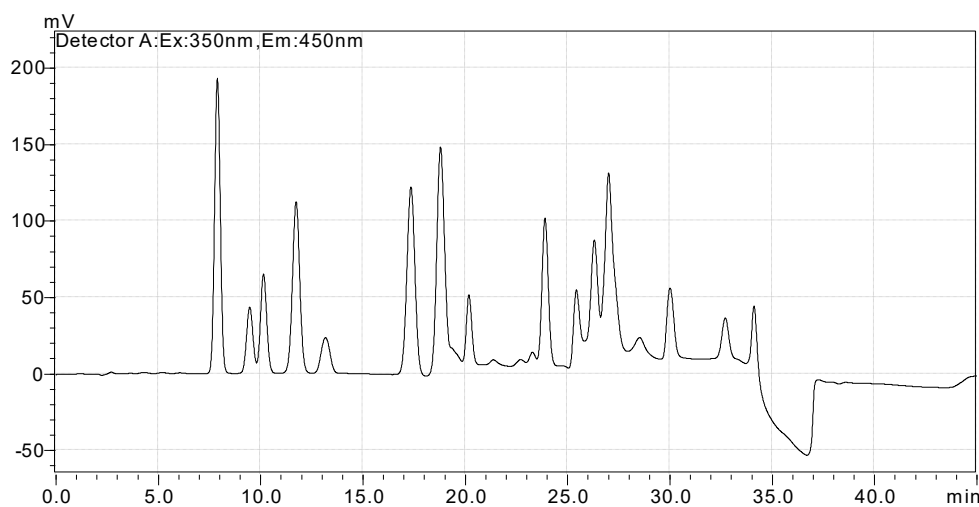
As hidrólises de aminoácidos avaliadas foram a convencional (estufa) que possui o tempo de duração total de 24 h e o rápido (autoclave) cujo tempo de hidrólise dura 8 min, somados as lavagens, a análise requer um total de 5h. Ambos os métodos foram comparados. Nas Figuras 1 e 2 estão apresentados os cromatogramas de BSA gerados pelos métodos estudados.

Figura 1 - Cromatograma dos aminoácidos de BSA obtidos por hidrólise em estufa



Fonte: Dos autores, 2021.

Figura 2 - Cromatograma dos aminoácidos de BSA obtidos por hidrólise em autoclave



Fonte: Dos autores, 2021.

Os diferentes métodos de hidrólises realizados em estufa e em autoclave proporcionaram perfis de aminoácidos diferentes. Comparando ambos os métodos, os AAs, ácido aspártico e a prolina, foram quantificadas somente no método de hidrólise por autoclave e pela hidrólise por estufa, somente a serina foi quantificada. A cisteína e a alanina não foram identificadas em nenhum dos dois métodos. O somatório dos AAs determinados por cada método avaliado foi de 32,14 g aminoácido/g BSA e 273,98 g aminoácido/g BSA para os métodos de hidrólises em estufa e em autoclave,

respectivamente. Esses valores indicam que houve maior eficiência na quantificação dos AAs de 88,3% na hidrólise realizada em autoclave. Os resultados estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 - Comparação dos perfis aminoacídicos de BSA sob diferentes condições de hidrólise

Aminoácidos	Hidrólise em estufa (g aminoácido/g BSA)	Hidrólise em autoclave (g aminoácido/g BSA)
Ácido aspártico	<LOQ	1,01±0,01 ^a
Treonina	7,45±0,04 ^b	31,99±3,58 ^a
Serina	0,94±0,87 ^b	37,56±2,01 ^a
Ácido glutâmico	1,49±0,21 ^b	9,63±0,98 ^a
Prolina	<LOQ	64,11±7,57 ^a
Cisteína	<LOQ	<LOQ
Glicina	4,41±0,83 ^a	4,41±1,15 ^a
Alanina	<LOQ	<LOQ
Valina	1,19±0,07 ^b	19,64±3,85 ^a
Metionina	5,30±0,39 ^b	10,91±3,54 ^a
Isoleucina	1,32±0,53 ^a	1,59±0,01 ^a
Leucina	1,54±1,49 ^a	2,21±0,04 ^a
Tirosina	2,85±0,44 ^b	57,12±4,28 ^a
Fenilalanina	3,11±0,51 ^b	13,44±1,59 ^a
Histidina	2,62±1,04 ^b	23,82±1,55 ^a
Lisina	0,55±0,49 ^b	22,78±1,52 ^a
Arginina	5,32±2,04 ^b	11,29±0,30 ^a
Σ AAs	32,14 ^b	273,98 ^a

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: Σ AAs: somatório dos aminoácidos para cada tratamento.

Nota: Médias ± desvio padrão seguidas da mesma letra minúscula na coluna (comparação entre tratamentos) não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste “t” de Student.

De acordo com Prata e Sgarbieri (2005), BSA se caracteriza por possuir baixo conteúdo de triptofano e de metionina e altos teores de aminoácidos com cargas nas cadeias laterais como ácido aspártico, glutâmico, lisina e arginina. Além disso, apresentou alto teor de lisina, histidina e aminoácidos sulfurados. Os resultados encontrados pelos autores corroboram com esse estudo.

A hidrólise realizada em autoclave se destaca, gerando valores superiores para ácido aspártico (100%), treonina (97,5%), ácido glutâmico (84,5%), prolina (100%), valina (94%), metionina (51,5%), isoleucina (17%), leucina (30,3%), tirosina (95%), fenilalanina (76,8%), histidina (89%), lisina (97,6%) e arginina (52,9%) quando comparado com a hidrólise em estufa. Os cromatogramas mostram que ocorreu uma melhor separação dos aminoácidos que foram identificados pelo método em autoclave. A glicina foi um aminoácido que não foi afetada pelo tipo de hidrólise enquanto a cisteína só foi detectada por pela hidrólise em autoclave.

Os AAs quantificados neste estudo estão conforme Shi *et al.* (2006), que desenvolvendo um método de derivatização de pré-coluna para a determinação de 20 aminoácidos de BSA, encontrou valores semelhantes ao deste estudo. De modo geral, a hidrólise dos AAs por autoclave, além de menor duração, aumentou a quantificação dos teores destes compostos e exibiu um cromatograma com melhor definição e separação apresentando um diferencial no perfil de aminoácidos para a BSA. Assim, esta extração se mostra promissora para os estudos de determinação de AAs de diversas fontes. A hidrólise por autoclave foi testada em diferentes amostras e está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 - Determinação de AAs de tomate e farelo de arroz obtidos por hidrólise em autoclave

Amino Acids	Tomate (μg aminoácido/g amostra)	Farelo de arroz (g aminoácido/g amostra)
Ácido aspártico	0,7 \pm 0,05	1,03 \pm 0,02
Treonina	13,7 \pm 3,4	0,81 \pm 0,03
Serina	<LOQ	1,33 \pm 0,01
Ácido glutâmico	0,7 \pm 0,02	1,49 \pm 0,03
Prolina	8,0 \pm 1,4	<LOQ
Cisteína	23,6 \pm 2,3	2,74 \pm 0,05
Glicina	<LOQ	4,41 \pm 1,15
Alanina	0,8 \pm 0,04	0,68 \pm 0,01
Valina	4,1 \pm 0,09	<LOQ
Metionina	1,9 \pm 0,2	2,37 \pm 0,20
Isoleucina	0,6 \pm 0,01	1,16 \pm 0,01
Leucina	<LOQ	<LOQ
Tirosina	2,8 \pm 0,2	1,99 \pm 0,18
Fenilalanina	1,8 \pm 0,08	2,32 \pm 0,19
Histidina	20,0 \pm 3,3	1,42 \pm 0,05
Lisina	3,0 \pm 0,5	1,57 \pm 0,21
Arginina	2,4 \pm 1,0	3,17 \pm 0,10
Σ AAs	84,1	26,49

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: Σ AAs: somatório dos aminoácidos para cada tratamento.

Na determinação de aminoácidos em tomate cereja, Choi *et al.* (2014) identificaram que os AAs prolina, fenilalanina e serina variaram entre 1 e 4% dos aminoácidos totais, cisteína não foi detectada. Nos tomates deste estudo cisteína foi o aminoácido mais abundante (23,6 µg/g) seguido de histidina (20 µg/g) e treonina (13,7 µg/g), tirosina e glicina estavam abaixo do limite de quantificação. Estes resultados sugerem que o método de hidrólise em estufa é aplicável para determinação de aminoácidos em tomate e as variações encontradas em comparação com a literatura podem ser explicadas por fatores relacionados ao fruto, como o tipo de variedade e o estágio de maturação. Um outro fato a se considerar é que no estudo realizado por Choi *et al.* (2014), os tomates foram cultivados em estufa sob condições controladas e os tomates deste estudo são cultivados em campo aberto passível de interferências climáticas e ataque de patógenos de pragas podendo alterar o perfil de AAs.

Os resultados da determinação dos AAs para o farelo de arroz disponíveis na literatura são variáveis, além dos métodos de extração e tipo de amostra. De acordo com Zhang *et al.*, (2021) o AA majoritário presente no farelo de arroz foi a Arginina (10.6 g Kg_{amostra}⁻¹) que corrobora com o resultado deste estudo. Além desse, fenilalanina (6.3 g Kg_{amostra}⁻¹) e tirosina (5 g Kg_{amostra}⁻¹) foram os AAs mais abundantes. Esses AAs também foram encontrados no estudo de Fabian e Ju (2011), sendo que em algumas amostras não foram detectados a fenilalanina, cistina, metionina e prolina. Este último, não sendo detectado também neste estudo. De acordo com esses autores o farelo de arroz possui AAs como a lisina, histidina, arginina, treonina, glicina, cistina, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina e fenilalanina necessários para a nutrição e a grande maioria quantificada neste estudo.

Conclusão

A extração de AAs aplicando a hidrólise em autoclave por 8 min mostrou ser promissora na quantificação dos teores destes compostos, apresentando resultados superiores a 50% e originando cromatogramas bem definidos. Além disso, minimizou o tempo quando comparado ao método convencional em 19h, sendo otimizado o tempo total de análise em 79%.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES e CNPq [380841/2020-7].



Referências

AMAGLIANI, L. *et al.* The composition, extraction, functionality and applications of rice proteins: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 64, p. 1–12, 2017.

BADADANI, M.; SURESH BABU, S. V.; TARANATH SHETTY, K. Dinitrophenyl derivatization of amino acids, spectral characteristics and HPLC analysis: application in urinary peptide-derived hydroxyproline and proline assay. **Annals of Clinical Biochemistry**, v.44, n. 2, p. 164-172, 2007.

CARBONARO, M. Proteomics: present and future in food quality evaluation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, n. 3-4, p. 209–216, 2004.

CHRIST-RIBEIRO, A. *et al.* Fermentation Process in the Availability of Nutrients in Rice Bran. **Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 6, p. 45-52, 2017.

CHRIST-RIBEIRO, A. *et al.* Fermented rice bran: an alternative ingredient in baking. **Research, Society and Development**, v. 9, p. e45491110225-10, 2020.

CHOI, S. H. *et al.* Protein, free amino acid, phenolic, β -carotene, and lycopene content, and antioxidative and cancer cell inhibitory effects of 12 greenhouse-grown commercial cherry tomato varieties. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 34, n. 2, p. 115–127, 2014.

DENARDI-SOUZA, T. *et al.* Monitoring of fungal biomass changed by *Rhizopus oryzae* in relation to amino acid and essential fatty acids profile in soybean meal, wheat and rice. **CyTA - Journal of Food**, v. 16, n.1, p. 156–164, 2017.

EURACHEM. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2014. Disponível em: https://eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf. Acesso em: 23 jun. 2021

FABIAN, C.; JU, Y.-H. A Review on Rice Bran Protein: Its Properties and Extraction Methods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n.1, p. 816–827, 2011.



FERRÉ, S. *et al.* Analytical strategies for the determination of amino acids: past, present and future trends. **Journal of Chromatography B**, v. 121819, 2019.

HODGKINSON, S. M.; MOUGHAN, P. J. The enzyme hydrolysed protein method for the determination of endogenous ileal nitrogen and amino acid flows—a modification. **Animal Feed Science and Technology**, v. 108, n. (1-4), p. 207–214, 2003.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH). Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1), Int. Conf. Harmon, 2005 Geneva, Switz. Disponível em: [https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q2\(R1\).pdf](https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q2(R1).pdf). Acesso em: 23 jun. 2021.

KAZAN, R. M. *et al.* Determination of amino acids content in tea species using liquid chromatography via pre-column fluorescence derivatization. **Microchemical Journal**, v. 150, p. 104-113, 2016.

KELLY, B.; PEARCE, E. L. Amino Assets: How Amino Acids Support Immunity. **Cell Metabolism**, v. 32, n.2, p. 154-175, 2020.

MARCET, I. *et al.* The use of sub-critical water hydrolysis for the recovery of peptides and free amino acids from food processing wastes. Review of sources and main parameters. **Waste Management**, v. 49, p. 364–371, 2016.

MOREIRA, M. B. *et al.* Investigation of the fluorescence quenching of bovine and human serum albumin by ruthenium complex. **Química Nova**, v. 38, n.2, p. 227-232, 2015.

MOUSAVI, F.; PAWLISZYN, J. Silica-based ionic liquid coating for 96-blade system for extraction of aminoacids from complex matrixes. **Analytica Chimica Acta**, v. 803, p. 66–74, 2013.

PRATA, A. S.; SGARBIER, V. C. Obtenção e caracterização química e nutricional in vitro das proteínas do soro de sangue bovino. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n.2, p. 327-332, 2005.

RUTHERFURD, S. M.; GILANI, G. S. Amino Acid Analysis. **Current Protocols in Protein Science**, p. 11.9.1–11.9.37, 2009.

RUTHERFURD, S. M.; DUNN, B. M. Quantitative Amino Acid Analysis. **Current Protocols in Protein Science**, p. 3.2.1–3.2.6, 2011.

SHI, Y. *et al.* Determination of Amino Acids from Hydrolyzed Bovine Serum Albumin by High Performance Liquid Chromatography and Identification with Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 34, n. 4, p. 503–508, 2006.

SONG, Y. *et al.* Recent trends in analytical methods for the determination of amino acids in biological samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 147, p. 35–49, 2018.

TSUNODA, M.; SUMIDA, Y. **Liquid Chromatography | Amino Acids**. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering, 2018.

UEOKA, R. *et al.* Remarkable substituent effects on the micellar enantioselective hydrolysis of amino acid esters. **Tetrahedron Letters**, v. 31, n. 37, p. 5311–5314, 1990.

WEST, J. W. *et al.* A cluster of hydrophobic amino acid residues required for fast Na(+)-channel inactivation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 89, n. 22, p. 10910–10914, 1992.

ZAKY, A. A. *et al.* An overview on antioxidant peptides from rice bran proteins: extraction, identification, and applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–13, 2020.

ZHANG, Y. N. *et al.* The application of reduced dietary crude protein levels supplemented with additional amino acids in laying ducks. **Poultry Science**, v. 100, n. 4, 100983, 2021.



23 Capítulo

Avaliação e comparação do teor alcoólico real com informações dos rótulos e acidez volátil de cachaças e aguardentes comercializadas na cidade de Campinas/SP

Capítulo 23

Avaliação e comparação do teor alcoólico real com informações dos rótulos e acidez volátil de cachaças e aguardentes comercializadas na cidade de Campinas/SP

Nadson Libio Bezerra Ferreira*¹; Renato Anulino da Silva²

Resumo

O presente estudo objetivou-se avaliar a graduação alcoólica real e quantificar a acidez volátil de 5 marcas de aguardente e 6 marcas de cachaça, comercializadas na cidade de Campinas/SP e comparar com as informações contidas nos rótulos dessas bebidas levando em consideração os limites exigidos pela legislação vigente Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005. As bebidas foram adquiridas diretamente nos supermercados de Campinas, e conduzidas até LFHPA-FEA-UNICAMP, onde foram divididas seguindo numeração crescente de 1 a 5 (A1, A2, A3, A4 e A5) para as aguardentes, e de 6 a 11 (C6, C7, C8, C9, C10, C11) para as cachaças. Posteriormente as bebidas foram avaliadas utilizando os Métodos de Análises Físico-químicas em Alimentos, do Instituto Adolfo Lutz. Os resultados apresentaram que todas as bebidas estão dentro dos limites máximos para graduação alcoólica, porém apenas duas amostras A2 e C10 demonstraram paridade entre sua graduação real e as informações, tendo 82% das amostras não indicaram a mesma graduação alcoólica contida nas informações dos rótulos. Apenas uma das amostras de cachaça a C7 (9%), indicaram níveis de acidez volátil maiores do que os permitidos pela legislação, indicando que a marca pode apresentar alguma deficiência na etapa de fermentação e/ou no processo de fabricação. Conclui-se que, mesmo todas as bebidas analisadas apresentando conformidade com a legislação para os limites dos parâmetros avaliados, as informações apresentadas nos rótulos apresentam divergência com os valores reais apresentadas nas bebidas.

Palavras-chave: Conformidade. Legislação. Qualidade. Segurança.

¹*Mestrando Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas – Campinas/SP.

²Bacharel em Agroindústria, Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial, Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias, Universidade Federal da Paraíba – Bananeiras/PB.

*E-mail para correspondência: pesq.nadson@gmail.com



Introdução

A cachaça e a aguardente de cana-de-açúcar, estão diretamente ligadas a história e desenvolvimento sociocultural, gastronômico, turismo e econômico do Brasil, tidas como as queridinhas nacionais são utilizadas desde comemorações festivas até eventos religiosos centenários, sendo as bebidas alcoólicas mais consumidas até hoje no nosso país, e se expandindo mundo a fora (ANDRADE *et al.*, 2018; CONCEIÇÃO *et al.*, 2020).

Segundo Associação Brasileira de Bebidas (Abrabe), mesmo diante da crise, o crescimento no setor de bebidas foi possível diante dos acordos bilaterais entre o Brasil e grandes mercados consumidores, apresentando um consumo de cachaça e aguardente de 520,3 milhões de litros em 2018 (ABRABE, 2019; EUROMONITOR, 2019)

No Brasil os padrões de identidade e qualidade para produção de aguardente e cachaça estão amparados pela Instrução Normativa nº 13, de 29 de junho de 2005, que define como “Aguardente de cana é a bebida com graduação alcoólica de 38 a 54% (v/v), obtida do destilado alcoólico simples de cana-de-açúcar ou pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar“, já a cachaça é definida como “típica e exclusiva denominação da Aguardente de Cana produzida no Brasil, com graduação alcoólica de 38 % a 48% (v/v) a 20 °C, obtida pela destilação do mosto fermentado do caldo de cana-de-açúcar com características sensoriais peculiares” (BRASIL, 2005), as quais se diferenciam basicamente pela graduação alcoólica. Essa normativa também apresenta os níveis legais e seguros de compostos aceitáveis e não aceitáveis (contaminantes), de modo a assegurar a venda e o consumo (SILVA *et al.*, 2020).

Um desses níveis apresentados na sua composição se apresenta como teor indispensável na qualidade sensorial do produto, além de ser determinante de identidade e segurabilidade de consumo como no caso do teor alcoólico (RIBEIRO *et al.*, 2017). A identidade da aguardente é especificada pela sua graduação alcoólica que vai de 38 a 54% (v/v) (BRASIL, 2005), essa padronização e correta exposição nos rótulos oferecem ao consumidor uma segurança no consumo e proporcionam aos produtores uma maior competitividade no mercado de bebidas pela garantia de melhor qualidade (MENECHIM *et al.*, 2017).

Já a acidez presente tanto na cachaça quanto na aguardente é considerado um dos mais importantes indicadores quando relacionado a sua qualidade sensorial (SANTIAGO *et al.*, 2020). Outros fatores na produção também estão ligados diretamente a acidez do produto, como a qualidade em que se encontra o fermento, uma vez que durante a fermentação as leveduras se alimentam dos açúcares presente no mosto formando em primeiro lugar, CO₂ e álcool, mas também liberando

compostos secundários como ácidos voláteis, importante componente responsáveis pelo sabor e aroma da bebida (SILVA, 2017).

Segundo Vilela (2019), 57% das características de aroma apresentadas em cachaças produzidas na Paraíba, está ligada a quantidade da acidez volátil, onde pode ser explicado pela interação intramolecular que ocorre com a presença dos ácidos voláteis, principalmente durante a evaporação do álcool presente na cachaça, conseqüentemente aumentando a percepção do seu aroma. A acidez volátil se encontra dentro dos componentes químicos que estabelecem os requisitos de qualidade, onde deve ser expressando em ácido acético em mg/100 mL de álcool anidro com máximo de 150 mg (BRASIL, 2005).

A quantidade encontrada de ácidos voláteis na cachaça e na aguardente de cana-de-açúcar pode ser controlada diretamente na produção, uma das etapas se realizada de maneira inadequada que pode levar ao excesso desses compostos nas bebidas é o fracionamento incorreto do corpo do destilado, uma vez que a maior quantidade desse componente se apresenta na fração calda, ou seja, ao final da destilação (MOURA *et al.*, 2020). Outro fator de controle na quantidade da acidez volátil, é a contaminação bacteriana ocorrida principalmente durante o processo de fermentação (BORTOLETTO; ALCARDE, 2015).

Tendo em vista a necessidade da regularização dos níveis alcoólicos, assim como, as quantidades de ácidos voláteis, visando além da segurança na saúde do consumidor, também a qualidade e padronização dos produtos. O presente estudo objetivou-se avaliar o teor alcoólico real e os teores de ácidos voláteis de aguardentes e cachaças comercializados nos supermercados de Campinas/SP, através de análises físico-químicas, comparando com as informações contidas nos seus respectivos rótulos.

Material e Métodos

As análises foram conduzidas no Laboratório de Frutas, Hortaliças e Produtos Açucarados (LFHPA), do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), Faculdade Engenharia de Alimentos (FEA) – UNICAMP, em Campinas/SP.

Bebidas

Foram utilizadas 5 marcas de aguardentes e 6 marcas de cachaça, todas do tipo cristal não envelhecidas, comercializadas nos supermercados da cidade de Campinas/SP. Para a escolha das



marcas e os tipos de bebidas a serem utilizadas, foram levadas em consideração os preços mais acessíveis e a maior frequência de oferta no comércio, onde foram visitados 8 grandes supermercados de Campinas.

As amostras foram divididas utilizando as iniciais A para aguardente, seguida de numeração crescente de 1 a 5 (A1, A2, A3, A4 e A5) para as aguardentes, e C para cachaça ficando de 6 a 11 (C6, C7, C8, C9, C10, C11). Todas as bebidas após aquisição foram transportadas para o laboratório e só foram abertas na hora das análises evitando a perda de compostos voláteis.

Análises físico-químicas

O teor alcoólico ou grau alcoólico real foi determinado medindo o álcool em volume a 20 °C, onde a graduação alcoólica (% em volume) é obtida pela tabela de conversão da densidade relativa a 20 °C/20 °C determinada no destilado alcoólico da amostra (IAL, 2008).

A acidez volátil foi determinada por diferença entre a acidez total e a acidez fixa. O resultado é expresso em g de ácido acético por 100 mL de amostra, em g ou mg de ácido acético por 100 mL de álcool anidro (IAL, 2008). Equações 1 e 2:

$$At - Af = \text{ácidos voláteis, em g de ácido acético por 100 mL de amostra} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde *At* é igual a ácidos totais e *Af* é igual a ácidos fixos

$$\frac{Av \times 100}{G} = \text{ácidos voláteis, em mg de ácido cético por 100 mL de álcool anidro} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde *Av* equivale a ácidos voláteis e *G* a graduação alcoólica

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Para análises estáticas foi utilizado o programa SAS *University Edition*, desenvolvido SAS *Institute Inc.*, SAS *Campus Drive, Cary*, Carolina do Norte, EUA. Foram realizadas as análises de média geral e o desvio padrão da média, todos os valores obtidos foram comparados com os exigidos pela legislação vigente.

Resultados e Discussão

A Tabela 1 mostra os resultados referente as análises da graduação alcoólica e acidez volátil medida em ácido acético em mg/100 mL de álcool anidro nas aguardentes e cachaças analisadas. Os

resultados para graduação alcoólica estão expressos em °GL *Gay Lussac* (°GL = % (v/v)), que representa a quantidade em mililitros de álcool absoluto contida em 100 mililitros de mistura hidroalcoólica (CRAVO *et al.*, 2019).

Tabela 1 - Resultados da determinação real do °GL e acidez volátil, das aguardentes e cachaças analisadas.

Amostras	Teor alcoólico (°GL = % (v/v)) apresentado nos rótulos	Teor alcoólico (°GL = % (v/v)) Real	Acidez volátil (ácido acético em mg/100 mL de álcool anidro)
A1	38,0%	39,1%	56,31
A2	38,0%	38,7%	88,24
A3	39,0%	40,5%	45,58
A4	49,0%	46,5%	121,31
A5	50,0%	50,3%	31,00
C6	38,0%	38,5%	112,38
C7	38,0%	37,6%	161,47
C8	38,0%	37,4%	108,89
C9	38,0%	39,1%	97,44
C10	38,0%	38,5%	99,14
C11	38,0%	42,5%	148,13

Fonte: Dos autores, 2021.

Legenda: A1: Amostra aguardente 1; A2: Amostra aguardente 2; A3: Amostra aguardente 3; A4: Amostra aguardente 4; A5: Amostra aguardente 5; C6: Amostra cachaça 1; C7: Amostra cachaça 2; C8: Amostra cachaça 3; C9: Amostra cachaça 4; C10: Amostra cachaça 5 e C11: Amostra Cachaça 6.

Segundo IN nº 13, de 29 de junho de 2005, a graduação alcoólica para cachaça e aguardentes se apresenta como uma das características que definem e diferenciam uma bebida da outra, tendo como padronização para a aguardente graduação entre 38 e 54% e para cachaça 38 a 48% (v/v) a 20 °C, juntamente com sua determinação no rótulo. Já para acidez volátil que se enquadra como um dos compostos congêneres de controle sobre essas bebidas (Tabela 2), a legislação exige uma quantidade máxima de 150 expressa em ácido acético em mg/100 mL de álcool anidro (BRASIL, 2005).

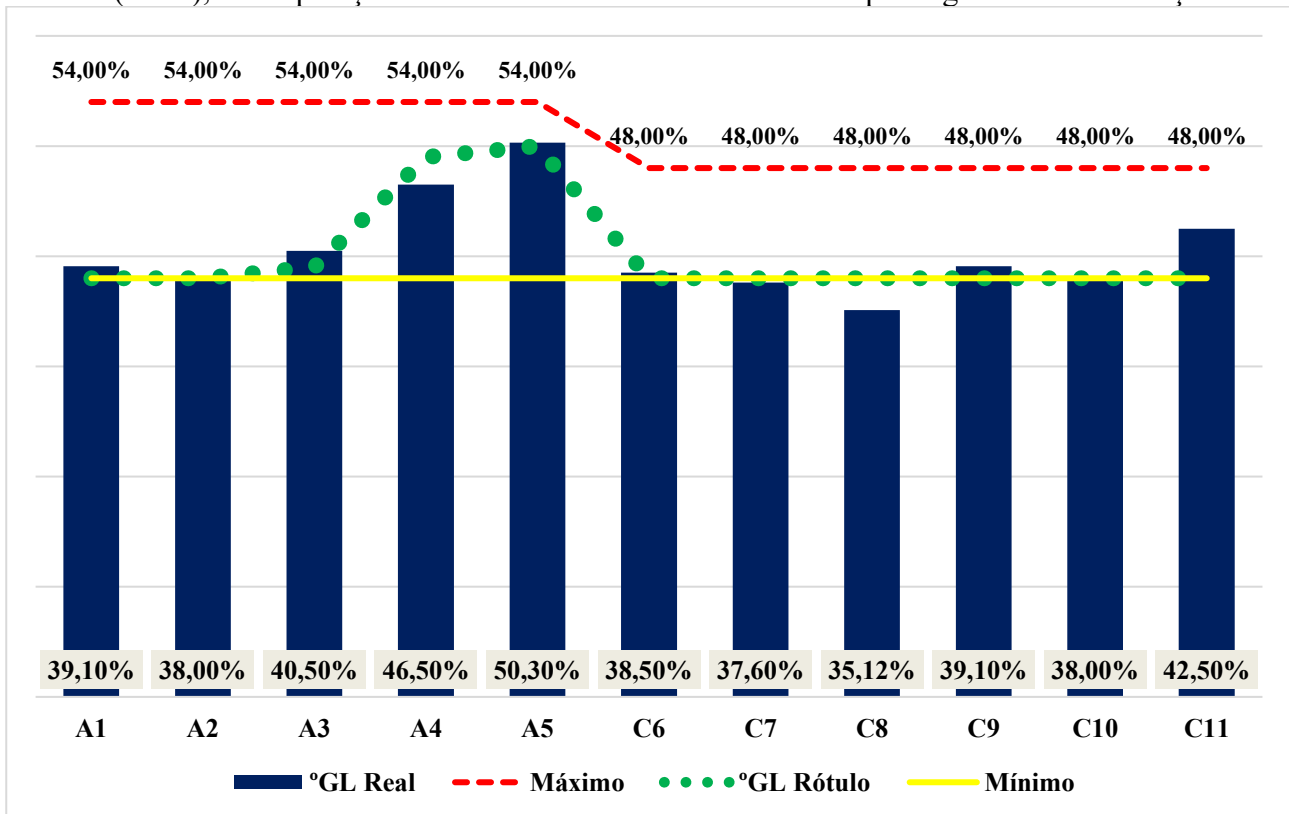
A Figura 1, mostra os resultados apresentados nas análises realizadas nas 5 amostras de aguardentes e 6 amostras de cachaças, e a concordância com os padrões de identidade para °GL contidas na IN nº 13, de 29 de junho de 2005, assim como as diferenças entre as informações da graduação alcoólica contidas nos rótulos.

Tabela 2 - Limite dos componentes classificados como congêneres em aguardentes e cachaças

Congêneres	Máximo	Mínimo
Acidez volátil, expressa em ácido acético em mg/100 mL de álcool anidro ¹⁵⁰	150	-
Ésteres totais, expressos em acetato de etila, em mg/100 mL de álcool anidro	200	-
Aldeídos totais, em acetaldeído, em mg/100 mL de álcool anidro	30	-
Soma de Furfural e Hidroximetilfurfural, em mg/100 mL de álcool anidro	5	-
Soma dos álcoois isobutílico (2-metil-propanol), isoamílicos (2-metil -1-360-butanol +3 metil-1-butanol) e n-propílico (1- propanol), em mg /100 mL de álcool anidro	360	-

Fonte: Brasil, 2005.

Figura 1. Gráfico da graduação alcoólica expressa nos rótulos e o resultado da análise real expressas em °GL (%v/v), e comparação com os limites mínimos e máximos para aguardente e cachaça



Fonte: Dos autores, 2021.

Observando a Figura 1, podemos notar que todas as 11 bebidas analisadas (100%), estão dentro das exigências quanto o valor máximo da graduação alcoólica tanto para as aguardentes quanto para as cachaças, não ultrapassando os seus valores de 54 e 48% para essas bebidas, respectivamente. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Corrêa (2020) que avalia a composição química de cachaças monodestiladas, e aponta que essa graduação alcoólica dentro dos limites máximos corresponde a uma retirada eficiente da fração “cabeça” durante a destilação.

Essa fração cabeça é a primeira parte retirada no processo de destilação composta por cerca de 5% a 10% do destilado total, e que contém a maior parte do metanol e parte dos aldeídos, muitas vezes o corte no tempo indevido proporciona a transferência de grande parte desse metanol para a bebida (coração), fazendo com que ultrapasse os limites estipulados pela legislação (CASAGRANDA; SANTOS, 2019).

Já quando observamos os resultados apresentados em nosso estudo, e comparamos com a graduação alcoólica contida nos rótulos das bebidas analisadas, apenas a amostra A2 e C10 estão condizentes com as informações, apresentando um percentual de 81,8% fora das exigências. Esse aspecto registra um forte descumprimento as normas que qualificam e caracterizam essas bebidas (DUARTE; VIANA; MACHADO, 2020), isso principalmente se dá, porque as informações contidas nos rótulos apresentam um importante papel informativo do produto e promove a imagem da indústria transmitindo confiança aos clientes, com isso a falta de veracidade das informações nesses produtos influencia diretamente na escolha do consumidor no momento da compra (VALENTE *et al.*, 2020).

Para o valor mínimo da graduação alcoólica estabelecido pela IN nº 13, de 29 de junho de 2005, nossas análises apresentaram que apenas duas amostras (18,18%), se mostraram fora dos padrões, ambas referentes a duas amostras de cachaça, tendo a C7, apresentado 37,60% e a C8 35,12%, onde a legislação quantifica um percentual mínimo de 38% (v/v) tanto para aguardente quanto para cachaça (BRASIL, 2005). Nossa legislação também permite a diluição com água potável para a padronização da graduação alcoólica do produto final (MARINHO; RODRIGUES; SIQUEIRA, 2009).

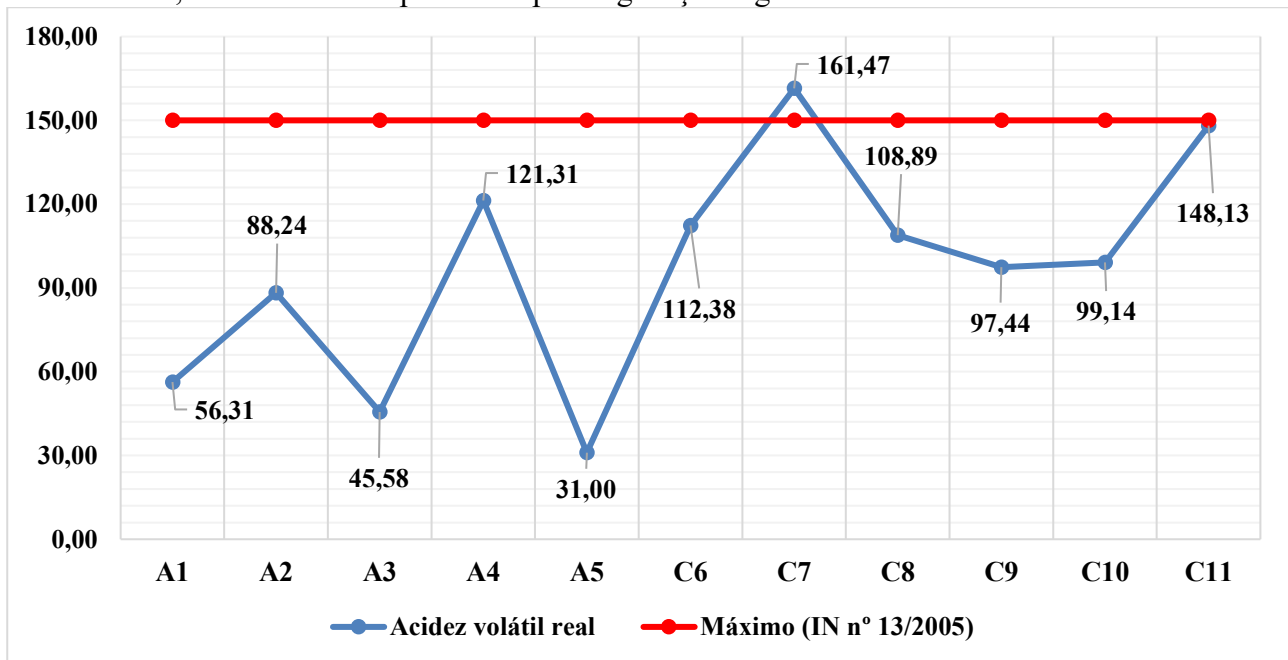
Esse resultado apresenta paridade com estudos realizados por Fernandes *et al.* (2007) que avaliou cachaças produzidas no estado de Minas Gerais, onde 3 das 16 (19%) das cachaças avaliadas apresentaram media abaixo dos valores exigidos, e em estudo apresentado por Boguz Junior *et al.* (2006) que avaliou as cachaças produzidas no Noroeste do Rio Grande do Sul e apontou graduações com mínima de até 31,10% (v/v).

Este comportamento aponta prováveis problemas no processo de destilação das bebidas ou dificuldade na padronização da graduação alcoólica do produto final, o que proporciona além da falsa identificação dessas bebidas, o padrão fora dos exigidos pode acarretar em problemas de saúde pública e ainda constitui também uma barreira para exportações para a Europa e América do Norte (ANDRADE-SOBRINHO *et al.*, 2002).

Os valores referentes as análises de acidez volátil estão expressas na Figura 2, juntamente com a comparação com o valor máximo exigido pela IN n° 13, de 29 de junho de 2005 (BRASIL, 2005).

Além da produção de álcool etílico e gás carbônico formados pela degradação dos açúcares presente no mosto, a fermentação alcoólica é responsável pela produção de inúmeros compostos secundários, muitas vezes responsáveis pelo aroma e sabor da bebida (FERREIRA *et al.*, 2021; VYVIURSKA *et al.*, 2017). No entanto, o controle inadequado desse processo de fermentação, está ligado diretamente a formação de uma acidez mais atenuado as cachaças o que leva a produção de uma bebida menos suave. Práticas como higiene adequada das dornas de fermentação, controle da produção de leveduras e predominância do pé de cuba, além de um adequado manejo do mosto e controle do tempo e temperatura durante a fermentação podem e devem ser rigorosamente fiscalizadas para um bom controle na produção desses ácidos (DAMASCENO *et al.*, 2013).

Figura 2 - Resultados das análises de acidez volátil expressa em ácido acético em mg/100 mL de álcool anidro, e valor máximo permitido pela legislação vigente



Fonte: Dos autores, 2021.

Observando a Figura 2, podemos notar que todas as 5 amostras de aguardentes analisadas se apresentaram dentro dos padrões de limites estabelecidos pela legislação, não ultrapassando o máximo de 150 mg ácido acético em mg/100 mL de álcool anidro, o que expressa a acidez volátil. Já quando apresentados os dados para as cachaças analisadas, podemos observar que a amostra C7 ultrapassou o limite de 150 chegando a 161,47 mg ácido acético em mg/100 mL de álcool anidro totalizando um valor de 16,6% fora dos padrões, mesmo se tratando de apenas uma amostra, o percentual equivalente se mostra alto quando comparado a outros estudos. Também podemos observar que a amostra C11 apresenta valores limitantes para essa quantificação de acidez volátil com 148,13 mg ácido acético em mg/100 mL de álcool anidro.

Ao analisar a acidez volátil de cachaças artesanais Marinho *et al.* (2009), apresenta todos valores dentro dos limites estabelecidos estando abaixo de 150 mg ácido acético em mg/100 mL de álcool anidro, esses valores são resultados que expressão uma boa qualidade no controle da fermentação alcoólica.

Tendo em vista que o controle do processo de fermentação está associado principalmente a pequenos produtores, mais estudos podem ser relatados na análise de ácidos voláteis em cachaças artesanais, como é o caso de Cavalcante (2017) que avaliou as cachaças produzidas em alambiques da Paraíba e constatou 100% de regularidade quanto as quantidades de acidez volátil.

Rezende *et al.* (2019) avaliaram as características físico-químicas e sensoriais de cachaças produzidas em São Roque do Canaã, Espírito Santo e constataram que ao serem expostas a análise sensorial houve a diferenciação entre as cachaças artesanais e industriais. Essa diferença pode ser explicada justamente pela forma de produção onde normalmente as cachaças artesanais apresentam falhas e dificuldades no controle e padronização afetando diretamente a acidez volátil das bebidas e consequentemente o aroma e saber (CATÃO, 2009).

Outro fator que deve ser levado em consideração, bem estudado e fiscalizado, é o processo de envelhecimento que muitas cachaças e aguardentes passam para adquirirem propriedades sensoriais próprias e muito apreciadas. Esse processo de envelhecimento pode acarretar na oxidação do etanol, o que por sua vez gera acetaldeído, conduzindo a formação de ácido acético ao longo do processo de envelhecimento, caso esse não seja realizado de maneira adequada (CORRÊA *et al.*, 2020; MIRANDA *et al.*, 2008).

Conclusão

De acordo com os resultados obtidos nesse estudo, podemos concluir que, com relação a graduação alcoólica observada todas as bebidas tanto as aguardentes quanto as cachaças se enquadram dentro da legislação nos quesitos de valor máximo exigidos, não ultrapassando 54 °GL para aguardente e 48 °GL para cachaça. Já com relação ao limite mínimo exigido 38 °GL para as duas bebidas, 2 amostras (18%) se mostraram fora dos padrões, também quanto a graduação alcoólica real e as informações contidas nos rótulos apenas as amostras A2 e C10 estão condizentes com as informações, tendo 82% das bebidas valores divergentes, o que pode ser classificado como propaganda enganosa frente aos consumidores.

Com relação quantificação da acidez volátil apenas uma das amostras de cachaça (9%), se mostrou fora dos limites exigidos pela legislação chegando a 161,47 mg ácido acético/100 mL de álcool anidro, esse alto valor pode ser atribuído a má gestão no controle da fermentação durante o processo de fabricação da cachaça assim como irregularidades de higiene e manipulação.

Referências

- ABRABE. **Mudança de hábitos no consumo de bebidas – Abrabe**. Disponível em: <https://www.abrabe.org.br/salaimprensa/mudanca-de-habitos-no-consumo-de-bebidas/>. Acesso em: 3 fev. 2021.
- ANDRADE-SOBRINHO, L. G. DE *et al.* Carbamato de etila em bebidas alcoólicas (cachaça, tiquira, uísque e grapa). **Química Nova**, v. 25, n. 6b, p. 1074–1077, 2002.
- ANDRADE, L. P. *et al.* Cachaça sob uma Perspectiva Histórica, Cultural e Simbólica. **Revista Gestão em Análise**, v. 7, n. 2, p. 184-221, 2018.
- BOGUSZ JUNIOR, S. *et al.* Composição química da cachaça produzida na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 793–798, 2006.
- BORTOLETTO, A. M.; ALCARDE, A. R. Assessment of chemical quality of Brazilian sugar cane spirits and cachaças. **Food Control**, v. 54, p. 1–6, 2015.
- BRASIL. Aprovar o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Aguardente de Cana e para Cachaça - IN nº 13, DE 29 de junho de 2005. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 29 jun. 2005.

CASAGRANDA, A.; SANTOS, J. V. DOS. **Determinação dos níveis de cobre (II) e análises físico-químicas em amostras de cachaça comercializadas na região Oeste de Santa Catarina**. 2019. 52f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Câmpus São Miguel do Oeste do Instituto Federal de Santa Catarina. 2019. Disponível em: <https://repositorio.ifsc.edu.br/handle/123456789/1350>. Acesso em: 10 jun. 2021.

CATÃO, C. G. **Qualidade da madeira de cinco espécies nativas para o envelhecimento de cachaça**. 2009. 74f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Centro de Tecnologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, Brasil, 2009.

CAVALCANTE, S. D. S. **Determinação das características físico-químicas da cachaça de alambique produzida na Paraíba**. 2017. 33f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura Plena em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual da Paraíba, João Pessoa, 2017.

CONCEIÇÃO, V. S. *et al.* A Indicação Geográfica da Cachaça: Um instrumento de desenvolvimento regional e de Inovação. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 35137–35155, 2020.

CORRÊA, A. C. **Composição química e características sensoriais de cachaças monodestiladas produzidas com leveduras selecionadas e fermento natural**. 2020. 194f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - USP / Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz Piracicaba, Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, 2020.

CORRÊA, R. J. DE L. *et al.* Produção e análises físico-químicas da aguardente obtida a partir do doce do Buriti. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 9789–9795, 2020.

CRAVO, F. D. *et al.* Composition of Cachaças Produced from Five Varieties of Sugarcane and the Correlation of the Presence of Dhurrin in the Cane with That of Ethyl Carbamate in the Product. **American Journal of Plant Sciences**, v. 10, n. 02, p. 339–350, 2019.

DAMASCENO, E. M. A. *et al.* Teor alcoólico e acidez volátil em amostras de cachaça artesanal comercializadas no Vale do Jequitinhonha-MG. **Revista Multitexto**, n. 2001, p. 56–60, 2013.

DUARTE, G. R.; VIANA, L. F.; MACHADO, A. R. Desenvolvimento de cachaça saborizada com pimenta. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 12, p. e12591210435, 2020.

EUROMONITOR, I. **BEBIDAS ALCOÓLICAS NO BRASIL**. Disponível em: <https://www.euromonitor.com/alcoholic-drinks-in-brazil/report>. Acesso em: 09 jun. 2021.

FERNANDES, W. J. *et al.* Physicochemical quality of a blend of domestic cachaças from the south of Minas Gerais. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3–4, p. 257–261, 2007.

FERREIRA, R. L. S. *et al.* Enrichment of corn fermentation with nitrogenated and phosphate nutrients for improvement of alcoholic fermentation. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 26131–26142, 2021.

IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo/SP: 4. ed. Odair Zenebon; Neus Sadocco Pascuet; Paulo Tiglea, 2008. v. 1ª Edição Digital. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>. Acesso em 15 jun. 2021.

MARINHO, A. V.; RODRIGUES, J. P. DE M.; SIQUEIRA, M. I. D. DE. Avaliação da Acidez Volátil, Teor Alcoólico e de Cobre em Cachaças Artesanais. **Revista de Ciências Ambientais e Saúde**. v. 36, n. 1/2, p. 75-93, 2009. Disponível em: <http://seer.pucgoias.edu.br/index.php/estudos/article/view/1129>. Acesso em: 10 jun. 2021.

MENEGHIM, M. C. *et al.* Boas práticas de fabricação e a melhora da qualidade na agricultura familiar: estudo de caso com pequenos produtores de cachaça. **Retratos de Assentamentos**, v. 20, n. 1, p. 207-231, 2017.

MIRANDA, M. B. DE *et al.* Perfil físico-químico de aguardente durante envelhecimento em tonéis de carvalho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. SUPPL., p. 84–89, 2008.

MOURA, J. A. A. DE *et al.* Qualidade de cachaças artesanais produzidas com leveduras de diferentes origens. **Scientia Plena**, v. 16, n. 3, p. 1-10, 2020.

REZENDE, J. A. *et al.* Caracterização físico-química e sensorial de cachaças produzidas em São Roque do Canaã, Espírito Santo. 30^a SEMANA AGRÔNOMICA, v.3., **Anais de Semana Acadêmica do Curso de Agronomia, Ciência e Tecnologia Inovando o Campo**, Alegre/ES: CCAE/UFES, 2019.

RIBEIRO, M. L. D. *et al.* Physico-chemical treatment of sugarcane juice produces quality cachaça. **REVISTA CIÊNCIA AGRONÔMICA**, v. 48, n. 3, p. 458–463, 2017.

SANTIAGO, W. D. *et al.* Investigação sobre cachaças brasileiras quanto a sua padronização e qualidade. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e387974117, 2020.

SILVA, A. P. DE. **Composição química de aguardente redestilada em função do grau alcoólico do flegma**. 2016. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba: Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, 2017.

SILVA, A. P. DE *et al.* Composição química de aguardente de cana obtida por diferentes métodos de destilação. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, n. 23, p. 1-10 2020.

VALENTE, M. E. R. *et al.* Indicação geográfica e qualidade de cachaças segundo a percepção de apreciadores da bebida. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. e2989108365, 2020.

VILELA, A. F. **Estudo da produção e da qualidade das cachaças paraibanas de acordo com o programa nacional de certificação da cachaça Campina Grande-PB**. 2019. 116f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2019.

VYVIURSKA, O. *et al.* Volatile fingerprinting of the plum brandies produced from different fruit varieties. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 13, p. 4284–4301, 2017.



24 Capítulo

Avaliação do processo de extração da própolis de abelha sem ferrão oriunda de Salvador/Bahia a partir da avaliação do seu potencial bioativo

Capítulo 24

Avaliação do processo de extração da própolis de abelha sem ferrão oriunda de Salvador/Bahia a partir da avaliação do seu potencial bioativo

Thinara de Freitas Oliveira*¹; Acsa Santos Batista¹; Ana Clara Guimarães Carvalho¹; Amanda Beatriz Sales de Lima¹; Leandro Soares Santos²

Resumo

Produtos da abelha sem ferrão chamam muita atenção de muitos agricultores e da comunidade científica e, dentre esses produtos, a própolis se destaca por ser uma substância resinosa e balsâmica muito complexa. A investigação da atividade biológica da própolis de abelha sem ferrão revelou propriedades anti-inflamatórias, antioxidante, anticâncer e antimicrobianas muito promissoras. Existem diversas maneiras de preparo dos extratos de própolis e, devido a isso, objetivou-se aprimorar e padronizar o processo de extração de própolis de abelha sem ferrão baseado em seus constituintes bioativos e atividade antioxidante. As amostras oriundas de Salvador - Bahia foram limpas, congeladas a -4 °C, trituradas e, posteriormente, produziu-se extratos de 15 e 20 g/50 mL com quatro ciclos de extrações que foram submetidas as análises de sólidos totais, constituintes fenólicos e flavonoides, capacidade antioxidante pelo método de DPPH e pelo método da co-oxidação do sistema β -caroteno: ácido linoleico. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey. Constatou-se uma concentração significativa de compostos bioativos durante todos os ciclos de extração, porém o extrato de 15 gramas com dois ciclos de extração apresentou-se como uma melhor alternativa, pois obtém uma alta concentração dos compostos bioativos estudados a partir de uma menor quantidade de amostra, além de requerer um menor tempo de extração, gasto energético e redução de custos industriais.

Palavras-chave: Biodiversidade. Meliponicultura. Meliponíneos. Tecnologia.

¹Discente, Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

² Docente, Departamento de Tecnologia Rural e Animal, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

* E-mail para correspondência: thinarafreitas@live.com

Introdução

Há pelo menos um século, as abelhas sem ferrão chamam atenção de muitos agricultores e de uma grande comunidade científica, porque apresentam produtos e subprodutos muito valorizados economicamente, tais como o mel, pólen, própolis e geoprópolis, sendo esses os principais atrativos para a sua criação racional e manejo (AIDAR, 2010; LOPES *et al.*, 2005).

Própolis é uma substância resinosa e balsâmica muito complexa, coletada pelas abelhas dos ramos, flores, brotos e exsudados de árvores. As abelhas produzem a própolis com o intuito de impedir a entrada indesejada de insetos, restaurar alguma ruptura na colmeia e protegê-la de chuvas e ventos durante o inverno (ZUNINI *et al.*, 2010).

Atividades biológicas da própolis de abelha sem ferrão têm sido investigadas em todo o mundo, incluindo funções anti-inflamatória, antioxidante, anticâncer, antimicrobiana, dentre outras (LAVINAS, *et al.*, 2019), e essas propriedades medicinais da própolis estão diretamente associadas à sua composição química, como a presença de uma variedade de compostos biologicamente ativos. Estudos realizados descrevem a presença de ácidos fenólicos, ácidos aromáticos, terpenos e carboidratos (VELIKOVA *et al.*, 2000; MIORIN *et al.*, 2003). As características físicas e químicas da própolis variam de acordo sua origem, tipo de abelha, vegetação e clima de onde é produzida e, conseqüentemente, esses fatores influenciam na composição da própolis (ESCRICHE *et al.*, 2018).

A própolis bruta contém substâncias solúveis em óleo ou em água. Entretanto, a maioria dos componentes da própolis são solúveis em óleo, por isso o método de extração da própolis mais utilizado é em álcool etílico como solvente, devido à baixa solubilidade em água e moléculas apolares em grande quantidade que a compõem (KONISHI *et al.*, 2004).

Devido a diversidade de formas utilizadas para se preparar os extratos de própolis, o procedimento de extração requer uma padronização. Para isso é importante analisar todos os ciclos de extração da própolis, a fim de verificar a ocorrência de perda significativa de seus constituintes, levando em consideração a utilização desses compostos pela indústria, bem como a prevenção de desperdício e, conseqüentemente, economia de custos. Diante do exposto, objetivou-se com esse trabalho analisar e padronizar o processo de extração da própolis de abelha sem ferrão baseado em seus constituintes bioativos e atividade antioxidante.

Material e Métodos

Aquisição das amostras e preparo do extrato etanólico

As amostras de própolis foram obtidas em uma associação de produtores localizada em Salvador - BA. Primeiramente essas amostras foram limpas retirando-se pedaços de madeira, abelhas mortas e posteriormente foram congeladas a -4 °C, trituradas e peneiradas até obtenção de um pó. Após isso, 15 e 20 gramas de amostra foram pesadas em balança analítica e completadas com etanol: água 70:30 (v/v) até obter o volume de 50 mL. A mistura foi agitada em mesa agitadora Quimis® a 200 rpm, em temperatura ambiente, durante 15 horas, obtendo-se o extrato etanólico de própolis. Passado o período, a mistura foi filtrada em papel filtro qualitativo e, a partir do resíduo obtido, realizou-se o mesmo processo por mais três vezes. Cada tratamento foi realizado em duplicata com quatro ciclos de extração, perfazendo o total de 16 unidades experimentais.

Sólidos Totais

Uma alíquota de 10 mL do extrato etanólico de própolis foi transferida para cápsula de porcelana seca (aquecida em estufa a 105 °C, por 2 horas, resfriada em dessecador e pesada) e o conjunto foi levado à estufa pré-aquecida a 105 °C, onde permaneceu por 12 horas. Após resfriamento em dessecador, o conjunto foi pesado. O processo de aquecimento, resfriamento e pesagem do conjunto foi repetido com intervalos de 1 hora, até se atingir massa constante (quando a diferença entre duas pesagens consecutivas não excedeu 5 mg). Essa análise foi realizada em triplicata e o teor de resíduo seco (sólidos solúveis totais em etanol) foi calculado pela razão entre a massa de resíduo depositada no cadinho e a massa inicial de própolis bruta extraída, correspondente à alíquota de 10 mL, em porcentagem, de acordo proposto pelo Instituto Adolfo Lutz (2005).

Para fins de cálculo utilizou-se a Equação 1:

$$\frac{\text{massa de resíduo depositada no cadinho}}{\text{massa inicial de extrato}} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Constituintes Fenólicos Totais – CFT

O conteúdo fenólico total foi determinado pelo método colorimétrico de Folin Ciocalteu, com algumas adaptações (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1998). Para isso, a reação foi preparada com uma alíquota de 0,5 mL de extrato de própolis (0,4 mg/mL), 2,5 mL de solução aquosa de Folin-Ciocalteu a 10% e 2,0 mL de carbonato de sódio a 7,5%. Essa mistura foi introduzida em banho maria a 45 °C, durante 15 minutos. Em seguida, foi retirada e mantida ao abrigo de luz e temperatura ambiente por 30 minutos. A absorbância foi mensurada em um espectrofotômetro (Marca Shimadzu Modelo UV-1800) a 750 nm. Usando uma curva de calibração preparada com uma concentração conhecida de solução padrão de ácido gálico (0,01 a 0,1 mg ácido gálico/mL de solução), o teor de constituintes fenólicos totais foi expresso como equivalente de ácido gálico (EAG) (mg EAG / g amostra ou extrato).

Constituintes Flavonoides Totais – FT

Os constituintes flavonoides totais foram quantificados por espectrofotometria UV/VIS utilizando cloreto de alumínio, de acordo o método proposto por Sakanaka, Tachibana e Okada (2005) com algumas modificações. Para isso, 0,5 mL do extrato de própolis (1 mg/mL), 2,5 mL de água destilada e 0,15 mL de nitrito de sódio 5% foram adicionados em tubos de ensaio. Essa mistura foi homogeneizada por agitação em vórtex e mantida em repouso por 6 minutos ao abrigo de luz. Posteriormente, adicionou-se 0,3 mL de uma solução metanólica de cloreto de alumínio 10%, agitada novamente no vórtex e mantida em repouso por 5 minutos ao abrigo de luz.

Em seguida, 1 mL de hidróxido de sódio 1M e 0,55 mL de água destilada foram adicionados, obtendo um volume final de 5 mL. A leitura da absorbância foi mensurada em um espectrofotômetro (Marca Shimadzu Modelo UV-1800) a 510 nm e, para o branco, utilizou-se etanol bruto substituindo a amostra. A quantidade de constituintes flavonoides totais foi expressa como equivalente de catequina (mg de eq. Catequina/g de amostra) usando uma curva de calibração preparada com soluções de concentrações conhecidas do padrão de catequina (0,02 a 0,51 mg catequina/mL de solução) nas mesmas condições.

Determinação da atividade antioxidante in vitro pelo método DPPH (2,2-Difenil-1 picrilhidrazil)

A atividade antioxidante *in vitro* da própolis foi determinada pelo método 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil-DPPH que consiste na captura do radical DPPH por antioxidantes levando à redução do composto e, conseqüentemente, diminuição da absorbância da solução (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995).

Uma alíquota de 0,1 mL referente a cada diluição do extrato foi transferida para tubos de ensaio contendo 3,9 mL da solução etanólica (Etanol - álcool absoluto 99,8%) do radical DPPH que teve a absorbância inicial ajustada para a faixa de 0,6 a 0,7 em um espectrofotômetro (Marca Shimadzu Modelo UV-1800) a 515 nm. Os tubos foram incubados por 30 minutos no escuro em temperatura ambiente e, posteriormente, a redução do radical livre DPPH foi medida através da leitura da absorbância a 515 nm. Em paralelo, o mesmo procedimento foi realizado substituindo a amostra de própolis por etanol, sendo considerado o branco.

A capacidade de eliminar o radical DPPH (% de atividade antioxidante) foi calculada utilizando-se a Equação 2:

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = \frac{\text{Abs controle} - \text{Abs amostra}}{\text{Abs controle}} \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

Sendo: Abs controle = Absorbância da solução de DPPH sem a amostra e Abs amostra = Absorbância da solução de DPPH com a amostra.

Determinação da capacidade antioxidante in vitro pelo método da co-oxidação do sistema β -caroteno: ácido linoleico - BCAL

O método de análise antioxidante pelo sistema β -caroteno: ácido linoleico utilizado foi descrito por Miller (1971). Para o preparo da mistura reativa, adicionou-se 50 μ g de ácido linoleico, 200 mg de Tween 40, 1 mL de solução de β -caroteno a 1 mg/mL em clorofórmio. Posteriormente, a mistura foi submetida ao evaporador rotativo a 40 °C por 10 minutos para a completa evaporação do clorofórmio. A essa mistura isenta de clorofórmio, adicionou-se aos poucos 500 mL de água previamente saturada com oxigênio durante 30 minutos, agitando-se vigorosamente. A mistura reativa, assim preparada, apresentou absorbância entre 0,6 e 0,7 em 470 nm, medida em um

espectrofotômetro (Marca Shimadzu Modelo UV-1800). Outra mistura reativa foi preparada de forma semelhante, com exceção da adição da solução de β -caroteno para o branco.

Alíquotas de 5 mL da emulsão foram transferidos para tubos contendo 0,5 mL dos extratos diluídos a 1 mg/mL em etanol 70%, realizados em triplicata. Feita a mistura, os tubos foram agitados e imediatamente lidas as absorvâncias a 470 nm. Após a primeira leitura, os tubos foram incubados em banho maria a 50 °C para favorecer a reação de oxidação, e em intervalos de quinze minutos até completar 120 minutos, a leitura a 470 nm, foi repetida.

Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição da oxidação. A redução da absorvância do sistema sem amostra (Equação 3) é considerada como 100% da oxidação.

$$\text{Redução da absorvância} = Abs_{inicial} - Abs_{final} \quad (\text{Eq. 3})$$

O decréscimo da leitura da absorvância das amostras é correlacionado com o sistema e estabelece a percentagem de oxidação (Equação 4), subtraindo-se a percentagem de oxidação de cada amostra de 100 (Equação 5).

$$\%Oxidação = \frac{[(Redução\ Abs)_{amostra} \times 100]}{(Redução\ Abs)_{sistema}} \quad (\text{Eq. 4})$$

$$\%Proteção = 100 - (\%Oxidação) \quad (\text{Eq. 5})$$

Análise estatística

Os resultados das concentrações e dos ciclos de extração foram verificados por análise de variância (ANOVA) e submetidos ao teste de comparação de médias pelo teste Tukey, em nível de significância de 5%, utilizando o *Software SAS* versão *University Edition*.

Resultados e Discussão

Os teores de sólidos solúveis totais nos extratos de própolis de abelha sem ferrão em quatro níveis de extração estão apresentados na Tabela 1.

Verificou-se que o teor de sólidos solúveis totais do processo de extração diminuiu consideravelmente com o decorrer dos ciclos de extração, apresentando esse mesmo comportamento independentemente da quantidade de massa de amostra utilizada para produzir o extrato. Porém,

assim como esperado, o extrato que contém maior massa em sua produção (20 gramas), apresentou maior quantidade de sólidos em todas as extrações.

Tabela 1 - Sólidos Totais obtidos com 15 e 20 gramas de amostra em quatro ciclos de extração

Tratamentos	Sólidos Totais (mg/mL)			
	1ª extração	2ª extração	3ª extração	4ª extração
Extrato com 15 g	39,776 ^{bA}	15,140 ^{bB}	10,426 ^{aC}	4,263 ^{bD}
Extrato com 20 g	50,940 ^{aA}	20,693 ^{aB}	10,793 ^{aC}	6,979 ^{aD}

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna (comparação entre tratamentos) e da mesma letra maiúscula na linha (comparação entre as extrações) não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

O parâmetro sólidos solúveis totais está relacionado, principalmente, à solubilidade da amostra em um determinado solvente. Dessa forma, quanto maior o teor de sólidos obtido a partir de um extrato de própolis, calculado sobre a matéria-prima que originou aquele extrato, mais solúvel é a amostra bruta no solvente utilizado.

A determinação de rendimento em sólidos totais de acordo cada ciclo de extração também pode ser comprovado através da análise visual dos extratos obtidos (Figuras 1 e 2), constatando que as amostras de própolis de abelha sem ferrão apresentam maior coloração na primeira extração, decrescendo de acordo cada ciclo.

Figura 1 - Extratos de própolis obtidas com 15 gramas de amostra em quatro ciclos de extração



Fonte: Dos autores, 2021.

Figura 2 - Extratos de própolis obtidas com 20 gramas de amostra em quatro ciclos de extração



Fonte: Dos autores, 2021.

Os teores de constituintes fenólicos totais dos extratos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Constituintes Fenólicos Totais dos extratos de própolis obtidos com 15 e 20 gramas de amostra e submetidos a quatro ciclos de extração

Tratamentos	Constituintes Fenólicos Totais (μg de ác. Gálico/mL do extrato)			
	1ª extração	2ª extração	3ª extração	4ª extração
Extrato com 15 g	543,04 ^{aA}	156,47 ^{aB}	76,33 ^{aBC}	33,03 ^{aC}
Extrato com 20 g	590,12 ^{aA}	224,44 ^{aA}	80,88 ^{aA}	56,17 ^{aA}

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna (comparação entre tratamentos) e da mesma letra maiúscula na linha (comparação entre as extrações) não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Constata-se que independentemente da quantidade de amostra utilizada para a produção do extrato (15 ou 20 gramas), ocorre uma grande redução de constituintes fenólicos totais já a partir da segunda extração. Porém, ainda há uma quantidade considerável destes compostos nos demais ciclos, o que evidencia a necessidade de mais ciclos de extrações para reduzir ou esgotar esses compostos da matriz sólida. Observando o extrato com 15 gramas, a necessidade dos ciclos de extração fica ainda mais evidente, pois não há diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre a segunda, terceira e quarta extração, indicando que ainda existe uma quantidade considerável de compostos fenólicos nesse extrato, mesmo após as quatro extrações.

É notável que a primeira extração dos dois tratamentos apresenta maior concentração de fenólicos quando comparado ao que foi observado por Cabral *et al.* (2009) que exprime 515,96 $\mu\text{g}/\text{mL}$, demonstrando que a própolis de Salvador- Bahia apresenta teores satisfatórios de compostos

fenólicos em sua composição. Desse modo, o extrato obtido com apenas um ciclo de extração se destaca como um produto com alto teor de constituintes fenólicos e que pode ser obtido com reduzido gastos energéticos, tempo e custo. O método com concentrações de própolis maiores e com um único ciclo extrativo é o mais adotado por pesquisadores (Cabral *et al.*, 2009), porém como demonstrado nesse estudo, a utilização de apenas um ciclo extrativo gera um descarte significativo desses constituintes bioativos, evidenciando a necessidade de mais ciclos extrativos.

A Tabela 3 apresenta os valores referentes a quantificação de constituintes flavonoides totais da própolis de abelha sem ferrão de Salvador - Bahia em quatro ciclos de extração.

Tabela 3 - Constituintes Flavonóides Totais dos extratos de própolis obtidos com 15 e 20 gramas de amostra e submetidos a quatro ciclos de extração

Tratamentos	Constituintes Flavonoides Totais (μg de eq. Catequina/mL do extrato)			
	1 ^a extração	2 ^a extração	3 ^a extração	4 ^a extração
Extrato com 15 g	312,85 ^{aA}	102,89 ^{aAB}	54,30 ^{aB}	52,29 ^{aB}
Extrato com 20 g	289,18 ^{aA}	165,33 ^{aB}	77,03 ^{aB}	70,73 ^{aB}

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna (comparação entre tratamentos) e da mesma letra maiúscula na linha (comparação entre as extrações) não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Os resultados obtidos demonstram que no decorrer das extrações ainda existem teores significativos de flavonoides totais, constatando a extração de uma alta concentração de constituintes fenólicos totais já a partir da primeira extração. A necessidade de no mínimo duas extrações são evidentes, pois não há diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre o primeiro e segundo ciclo de extração do extrato com 15 gramas, indicando que ainda há quantidade considerável de flavonoides. A importância desses compostos bioativos foi estudada por Abdullah *et al.*, (2020), que avaliaram a atividade antioxidante da própolis de abelhas sem ferrão e observaram que a capacidade antioxidante da própolis é muito atribuída aos compostos flavonoides.

Levando em consideração que no ambiente industrial os extratos decorrentes de cada ciclo de extração seriam misturados e, logo após comercializados, a necessidade do extrato ser submetido a vários ciclos de extração é essencial para obtenção de um extrato com maior teor desses constituintes bioativos. Portanto, visando economia financeira, redução de tempo e de gastos energéticos, a mistura dos extratos decorrentes dos dois primeiros ciclos extrativos resultaria num produto com alto teor de constituintes flavonoides.

A análise de DPPH indica a ação antioxidante primária, por medir quanto de um radical livre pode ser inibido por um determinado composto, podendo ser inibidos por mecanismos TAH e TES

(AMAROWICZ; PEGG, 2019; SHAHIDI; ZHONG, 2015). Os resultados da capacidade antioxidante *in vitro* pelo método de DPPH de própolis de abelha sem ferrão estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Capacidade antioxidante *in vitro* pelo método DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil) obtida com 15 e 20 gramas de amostra e submetidos a quatro ciclos de extração

Tratamentos	% Inibição do DPPH			
	1ª extração	2ª extração	3ª extração	4ª extração
Extrato com 15 g	79,079 ^{aB}	88,8606 ^{aA}	88,128 ^{aA}	91,591 ^{aA}
Extrato com 20 g	72,054 ^{bD}	87,613 ^{aC}	90,672 ^{aB}	93,988 ^{aA}

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna (comparação entre tratamentos) e da mesma letra maiúscula na linha (comparação entre as extrações) não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Os resultados obtidos mostram que a própolis utilizada possui uma boa atividade antioxidante, sendo superiores aos encontrados por Freitas *et al.* (2021) que obtiveram atividade antioxidante primária variando de 19,57% a 30,44% para amostras de própolis de abelha sem ferrão.

Analisando a primeira extração dos dois extratos, constata-se que o extrato produzido com 15 gramas de amostra apresentou maior potencial antioxidante pelo método DPPH, havendo diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos. A partir da segunda extração constata-se que não há diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre as demais extrações e também entre os tratamentos. Na quarta extração ocorreu um aumento significativo no percentual de capacidade antioxidante de inibição do radical DPPH para todos os tratamentos.

Existem alguns fatores que podem influenciar na obtenção dos resultados em relação a análise feita com 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil, dentre elas os pigmentos presentes no extrato. A própolis de abelha sem ferrão apresenta uma cor marrom muito intensa, sendo possível observar que mesmo promovendo mais de uma extração, a coloração não se perde facilmente (Figuras 1 e 2), indicando, portanto, que a absorvância desses pigmentos podem ser no mesmo comprimento de onda da leitura do radical DPPH e, conseqüentemente, influenciando nesses resultados e demonstrando que quanto mais concentrado o extrato da própolis marrom, menor a capacidade antioxidante, de acordo esse método. Na quarta extração, por se tratar de uma concentração e cor mais diluídas, detecta-se uma maior capacidade antioxidante. Isso indica que o método de sequestro de radicais livres DPPH não é adequado para avaliar a capacidade antioxidante do extrato de própolis marrom, pois será interferido pela cor da amostra.

A análise de percentual de proteção do sistema β -caroteno: ácido linoleico indica a ação antioxidante secundária, avaliando a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a

peroxidação do ácido linoleico (DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006). A Tabela 5 apresenta os resultados da capacidade antioxidante *in vitro* pelo método da co-oxidação do sistema β -caroteno: ácido linoleico de própolis de abelha sem ferrão de Salvador - Bahia em quatro ciclos de extração.

Tabela 5 - Capacidade antioxidante *in vitro* pelo método da co-oxidação do sistema β -caroteno: ácido linoleico obtida com 15 e 20 gramas de amostra e submetidos a quatro ciclos de extração

Tratamentos	% Proteção do extrato			
	1ª extração	2ª extração	3ª extração	4ª extração
Extrato com 15 g	47,874 ^{aA}	40,977 ^{aA}	61,704 ^{aA}	79,771 ^{aA}
Extrato com 20 g	77,076 ^{aA}	51,954 ^{aA}	67,656 ^{aA}	78,564 ^{aA}

Fonte: Dos autores, 2021.

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna (comparação entre tratamentos) e da mesma letra maiúscula na linha (comparação entre as extrações) não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

As amostras analisadas apresentaram, em média, 66,41% de proteção do sistema β -caroteno: ácido linoleico, ou seja, a proteção da oxidação das moléculas do sistema presente inibiu satisfatoriamente o efeito das condições favoráveis à oxidação que foram inseridas durante essa análise. Esses dados foram superiores aos encontrados por Cabral *et al.* (2009), Oldoni *et al.* (2011) e Righi *et al.* (2011), que obtiveram os percentuais de proteção do sistema de amostras de própolis variando entre 26% a 61,3%.

Quando comparados, constata-se que nem os tratamentos com 15 e 20 gramas, nem as extrações apresentaram diferença estatística significativa ($p > 0,05$), indicando que o método de inibição de radicais livres pela proteção do sistema β -caroteno/ácido linoleico não é adequado para avaliar e diferenciar a capacidade antioxidante entre os tratamentos e as extrações estudadas. Isso pode ser explicado devido o método do β -caroteno utilizar um emulsificante lipídico que introduz um grande número de variáveis que influenciam a oxidação em comparação aos lipídeos puros, afetando assim o comportamento dos outros antioxidantes (Cabral *et al.*, 2009).

Conclusão

Pode-se concluir que é muito importante avaliar e otimizar o processo de extração para se evitar perdas de bioativos na amostra de própolis. De acordo com os resultados, o extrato etanólico com 15 g/50 mL de própolis de abelha sem ferrão se destacou por proporcionar em dois ciclos de extração resultados favoráveis de constituintes fenólicos e flavonoides, de forma a evitar desperdícios e reduzir custos para as indústrias de interesse.

Os mecanismos utilizados para avaliar a atividade antioxidante não são indicados como análise de controle de qualidade para a própolis de abelha sem ferrão e, partindo do pressuposto de que os pigmentos interferem nos resultados devido absorverem no mesmo comprimento de onda desses métodos, recomenda-se para essa avaliação outros métodos que realizam leitura das absorbâncias em maior comprimento de onda, como por exemplo o ABTS (734 nm) e o Poder Redutor (700 nm).

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento a essa pesquisa.

Referências

ABDULLAH, N, A. *et al.* Phytochemicals, mineral contents, antioxidants, and antimicrobial activities of propolis produced by Brunei stingless bees *Geniotrigona thoracica*, *Heterotrigona itama*, and *Tetrigona binghami*. **Saudi journal of biological sciences**, v. 27, n. 11, p. 2902-2911, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X20304204>. Acesso em: 14 jun. 2020.

AIDAR, D. S. **A Mandaçaia: biologia e manejo de abelhas com ênfase à *Melipona quadrifasciata* Lep.** Ribeirão Preto: Ed. FUNPEC, 2010. Disponível em: <https://hbjunior19.files.wordpress.com/2016/07/6686558-aidar-a-mandacaia-biologia-e-manejo-de-melipona-quadrifasciata.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2021.

AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B. Natural antioxidants of plant origin. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 90, n. 1, p. 1-81, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043452619300269?via%3Dihub>. Acesso em: 05 jun. 2021.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT: Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643895800085>. Acesso em: 12 jun. 2021.

CABRAL, I. S. R. *et al.* Phenolic composition, antibacterial and antioxidant activities of brazilian red propolis. **Quimica Nova**, v. 32, n. 6, p. 1523-1527, 2009.



DUARTE-ALMEIDA, J. M. *et al.* Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/X3SxxkjCGxfHGfj6hkJvVgM/abstract/?lang=pt>. Acesso em 05 jun. 2021.

ESCRICHE, I.; JUAN-BORRÁS, M. Standardizing the analysis of phenolic profile in propolis, **Foods Research International**, v. 18, n. 106, p. 834-841, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996918300632?via%3Dihub>. Acesso em: 01 jun. 2021.

FREITAS, C. P. *et al.* Antioxidant activity of Propolis of Jataí Bees. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 1, p. 989-996, 2021. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJAER/article/viewFile/24913/19864>. Acesso em: 15 jun. 2021.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. São Paulo: Ed. Instituto Adolfo Lutz, 2005.

KONISHI, S. *et al.* Análise da influência de agentes solubilizantes na atividade antimicrobiana de extratos de própolis e de uma formulação de spray hidroalcoólico. **Mensagem Doce**, v. 1, n. 75, p. 22-25, 2004. Disponível em: <https://www.apacame.org.br/mensagemdoce/75/artigo.htm>. Acesso em: 13 jun. 2021.

LAVINAS, F. C. *et al.* Brazilian stingless bee propolis and geopropolis: promising sources of biologically active compounds. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 3, p. 389-399, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/PW39GSWnRwvr8VSp7KPDFxx/?lang=en>. Acesso em 15 jun. 2021.

LOPES, M.; FERREIRA, J. B.; SANTOS, G. Abelhas sem-ferrão: a biodiversidade invisível. **Agriculturas**, v. 2, n. 4, p. 7-9, 2005.

MILLER, H. E. A. Simplified Method for the Evaluation of Antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 48, n. 2, p. 91, 1971. Disponível em: <https://aocs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1007/BF02635693>. Acesso em: 02 jun. 2021.

MIORIN, P. L. *et al.* Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, n. 5, p. 913-920, 2003. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/8995169_Antibacterial_activity_of_honey_and_propolis_from_Apis_mellifera_and_Tetragonisca_angustula_against_Staphylococcus_aureus. Acesso em: 10 jun. 2021.

OLDONI, T. L. C. *et al.* Isolation and analysis of bioactive isoflavonoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis. **Separation and Purification Technology**, v. 77, n. 2, p. 208-213, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383586610005058>. Acesso em: 15 jun. 2021.

RIGHI, A. A. *et al.* Brazilian red propolis: Unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 13, p. 2363-2370, 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.4468>. Acesso em: 13 jun. 2021.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS), University Edition; SAS Institute Inc., USA, 2021.

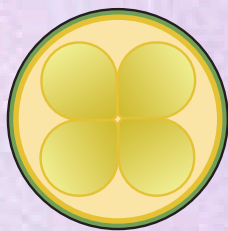
SAKANAKA, S.; TACHIBANA, Y.; OKADA, Y. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). **Food Chemistry**, v. 89, n. 4, p. 569-575, 2005.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 757-781, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464615000511>. Acesso em: 14 jun. 2021.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1998. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687999990171>. Acesso em: 13 jun. 2021.

VELIKOVA, M. *et al.* Chemical Composition and Biological Activity of Propolis from Brazilian Meliponinae. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 55, n. 10, p. 785-789, 2000. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/znc-2000-9-1018/html>. Acesso em: 10 jun. 2021.

ZUNINI, M. P. *et al.* Phenolic contents and antioxidante activity in central-southern Uruguayan propolis extracts. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 55, n. 1, p. 141-146, 2010. Disponível em: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S071797072010000100033&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 02 jun. 2021.



SIMEALI

IV Simpósio de Engenharia
de Alimentos

www.simeali.com

ORGANIZAÇÃO:

ICA
INSTITUTO
DE CIÊNCIAS
AGRÁRIAS

UFMG
UNIVERSIDADE FEDERAL
DE MINAS GERAIS

APOIO:

Embrapa
Agroindústria de Alimentos

UFG
UNIVERSIDADE
FEDERAL DE GOIÁS

ZEA USP
Universidade de São Paulo

CRQ - MG
ENSINO - PESQUISA
TECNOLOGIA - ENGENHARIA

ISBN: 978-65-88389-08-9



9 786588 389089