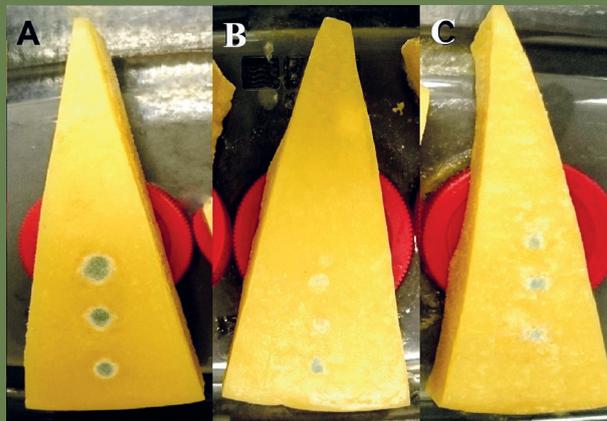
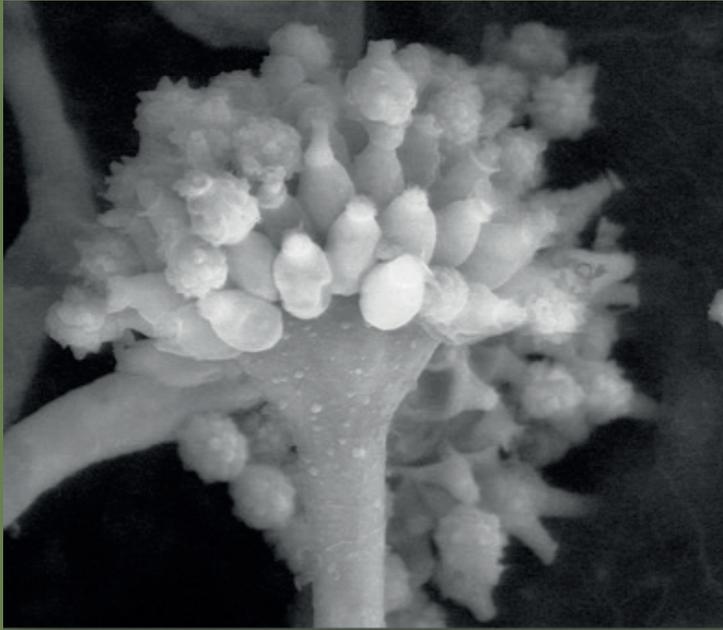


# CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS: CONCEITOS E APLICAÇÕES





Glêndara Aparecida de Souza Martins,  
Juliana Fonseca Moreira da Silva,  
Guilherme Nobre do Nascimento  
(ORGANIZADORES)

# CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS: CONCEITOS E APLICAÇÕES



PALMAS-TO  
2019

**Reitor**

Luis Eduardo Bovolato

**Vice-reitora**

Ana Lúcia de Medeiros

**Conselho Editorial**

Cynthia Mara Miranda (Presidenta)

Danival José de Souza

Idemar Vizolli

Ildon Rodrigues do Nascimento

Nilton Marques de Oliveira

Ruhena Kelber Abrão Ferreira

**Pró-Reitor de Administração e Finanças (PROAD)**

Jaasiel Nascimento Lima

**Pró-Reitor de Assuntos Estudantis e Comunitários (PROEST)**

Kherlley Caxias Batista Barbosa

**Pró-Reitora de Extensão e Cultura (PROEX)**

Maria Santana Ferreira Milhomem

**Pró-Reitora de Gestão e Desenvolvimento de Pessoas (PROGEDEP)**

Elisabeth Aparecida Corrêa Menezes

**Pró-Reitora de Graduação (PROGRAD)**

Vânia Maria de Araújo Passos

**Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPESQ)**

Raphael Sanzio Pimenta

**Prefeitura Universitária**

João Batista Martins Teixeira

**Procuradoria Jurídica**

Marcelo Morais Fonseca

**Projeto Gráfico/Diagramação**

Mota Produções

**Imagens**

Projetado por freepik.com

Pixabay License - pixabay.com

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Agência Brasileira do ISBN - Bibliotecária Priscila Pena Machado CRB-7/6971

---

C569 Ciência e tecnologia de alimentos : conceitos e aplicações [recurso eletrônico] / orgs. Glêndara Aparecida de Souza Martins, Juliana Fonseca Moreira EDUFT, 2019.  
Dados eletrônicos (pdf, e-Pub).  
124 p.

ISBN 978-85-60487-73-8

1. Tecnologia de alimentos. 2. Alimentos - Controle de qualidade. 3. Alimentos - Biotecnologia. I. Martins, Glêndara Aparecida de Souza. II. Silva, Juliana Fonseca Moreira da. III. Nascimento, Guilherme Nobre do. IV. Título.

CDD 664

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

# SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO .....</b>	<b>7</b>
<b>PARTE 1: DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS ALIMENTÍCIOS .....</b>	<b>9</b>
<b>Capítulo 1:</b> Propriedades físicas de milho e soja durante o processo de hidratação para desenvolvimento de enlatados. ....	9
<b>Capítulo 2:</b> Utilização da pimenta-rosa ( <i>schinus terebinthifolius raddi</i> ) como antioxidante em linguiça suína. ....	17
<b>Capítulo 3:</b> Determinação do calor específico do murici ( <i>byrsonima crassifolia</i> ) a diferentes concentrações de sólidos solúveis para aplicabilidade a temperaturas entre 20 e 60°C.....	29
<b>PARTE 2: CONTROLE DE QUALIDADE E SEGURANÇA ALIMENTAR.....</b>	<b>43</b>
<b>Capítulo 1:</b> Controle biológico de aflatoxinas em amendoim .....	43
<b>Capítulo 2:</b> Controle biológico integrado de <i>Penicilium roqueforti</i> em queijo parmesão .....	53
<b>Capítulo 3:</b> Processamento preliminar para extração do gel da folha de <i>aloe vera</i> .....	71
<b>PARTE 3: BIOTECNOLOGIA APLICADA À INDÚSTRIA DE ALIMENTOS .....</b>	<b>81</b>
<b>Capítulo 1:</b> Frutossiltransferase e invertase: conceitos, fontes de produção e aplicações em alimentos .....	81
<b>Capítulo 2:</b> Utilização de grãos de kefir de água para fermentação de mostos de frutas do cerrado. ....	93
<b>Capítulo 3:</b> Nanotecnologia aplicada aos alimentos .....	109
<b>Sobre os organizadores.....</b>	<b>123</b>



# APRESENTAÇÃO

O Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) atua na formação e capacitação de profissionais no âmbito do desenvolvimento de novos produtos alimentícios, do controle de qualidade e segurança alimentar e da biotecnologia aplicada à indústria de alimentos. Nesse contexto, esta coletânea é dividida em três partes que abordam tópicos diversos, porém estruturados em torno da ciência e tecnologia de alimentos como área do saber.

A primeira parte aborda diversas etapas e processos de desenvolvimento de novos produtos contendo dados inéditos de pesquisas desenvolvidas e inovações tecnológicas. Entre os autores da primeira parte, encontram-se engenheiros de alimentos, engenheiros químicos e químicos atuantes nos temas abordados em diversas regiões do país.

A segunda parte discorre acerca do controle de qualidade e da segurança alimentar através do controle biológico de microrganismos com importância na área. Traz, ainda, um capítulo com orientações a respeito da extração de compostos a partir da aloe e vera. Também apresenta dados e discussões inéditas de relevância para a ciência e tecnologia de alimentos. A formação dos autores da segunda obra evidencia os critérios de interdisciplinaridade do saber direcionado ao acompanhamento e solução de uma problemática. São biólogos, farmacêuticos, engenheiros de alimentos e médicos atuando em parceria no levantamento de dados e discussão de fenômenos que afetam diretamente a qualidade de alimentos produzidos e comercializados no país e, conseqüentemente, a segurança alimentar e nutricional dos consumidores.

A terceira parte é norteadada pela biotecnologia aplicada à ciência e tecnologia de alimentos como ferramenta para otimização de processos e produtos. Em três capítulos são apresentadas definições de enzimas de importância para aplicação em processos alimentícios, bem como resultados inéditos acerca de processos fermentativos conduzidos em mostos de frutos do cerrado. Apresenta, ainda, a nanotecnologia associada à biotecnologia de alimentos, direcionando discussões técnicas relevantes. Para abordagem dos temas, essa parte conta com autores biólogos, engenheiros de biotecnologia e bioprocessos e engenheiros de alimentos.



# 1

## DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS ALIMENTÍCIOS

### Capítulo 1: Propriedades físicas de milho e soja durante o processo de hidratação para desenvolvimento de enlatados

*Lorena Brito Miranda*

*Bruna Araújo de Moura*

*Joenes Mucci Peluzio*

*Warley Gramacho da Silva*

*Joseneide Pereira de Sousa*

*Glêndara Aparecida de Souza Martins*

**A** hidratação do milho é necessária na indústria principalmente para extração de seus componentes principais, como amido, proteína (glúten), fibras e germe, como também para a obtenção de malte, enzimas, massas alimentícias (tacos e tortilhas), além do produto enlatado (LOPES FILHO; RAMOS; ROMERO, 2006).

O processamento da soja, frequentemente, requer que os grãos sejam hidratados com intuito de reduzir a energia requerida para a moagem dos grãos antes de serem submetidos ao cozimento ou extração de algum constituinte de interesse (COUTINHO et al., 2005). Entre os principais produtos do processamento da soja estão a proteína texturizada da soja (PTS), extrato de soja e concentrado protéico de soja (CPS).

A embebição de grãos em água é uma operação que influencia etapas posteriores do processamento, bem como a qualidade do produto final. Como as condições de imersão variam dependendo do alimento em estudo, é necessária a aplicação prática para caracterizar e otimizar essas condições (VOLPE et al., 2015).

Segundo Bayram, Kaya e Öner (2004), os efeitos da temperatura e do tempo sobre as características do grão durante a imersão devem ser controlados para se obter um produto de boa qualidade, já que durante a imersão o grão pode inchar excessivamente, romper durante a cocção e ocorrer lixiviação de materiais sólidos do produto para a água de imersão de modo que algumas propriedades funcionais sejam perdidas.

O processo de hidratação de grãos tem sido estudado por diversos autores. Toledo et al. (2010) avaliaram os efeitos do teor inicial de umidade de diferentes cultivares de soja e locais de produção na ocorrência de danos durante a embebição dos grãos. Marques, Jorge e Jorge (2014) e Lopes Filho, Ramos e Romero (2006) submeteram grãos de milho ao processo de hidratação para avaliar as mudanças de textura de três variedades de milho durante o processo de hidratação em função da umidade e temperatura e para monitorar a absorção da água, do dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) e do ácido lático em grãos de milho durante a etapa de maceração do processo de moagem úmida, respectivamente.

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi analisar a influência da temperatura e do tempo de hidratação nas características físicas de genótipos de milho e soja e da água de imersão, a fim de avaliar esse processo como operação inicial para a industrialização dos grãos estudados, além de qualificar novos cultivares de grãos gerados pelo Programa de Melhoramento Genético de Milho da UFT.

## **Material e métodos**

Foram utilizados os genótipos: Milho UFT-1, Milho UFT-2, Milho UFT-3, cedidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Milho da UFT, e os genótipos de Soja M91444, BRS 33871 e M8766 cultivados no estado do Tocantins. Inicialmente foi realizada a seleção do material para retirada de impurezas, grãos quebrados, anormais e outros. O teor de água inicial das amostras foi obtido pelo método da estufa, 105 ± 1°C, por 24 horas em três repetições, até massa constante (AOAC, 1995). Foram selecionadas aleatoriamente e pesadas 60 unidades de cada genótipo de milho e soja. Em seguida os grãos foram colocados em béquer com água destilada numa relação de seis volumes de água para um de produto, e levados ao banho-maria, TECNAL TE-0541-1, em temperaturas controladas de 25, 35, 45, 55 e 65 °C por 12 horas de hidratação. Os ensaios de hidratação foram realizados em triplicata para cada temperatura.

Para avaliar o teor de absorção durante a hidratação, os grãos foram retirados dos béqueres a cada 90 minutos de imersão e colocados em papel de filtro para eliminar os excessos de água, ficando de repouso por volta de dois minutos, em seguida pesados. Na sequência, os grãos retornavam à imersão (RESENDE; CORRÊA, 2007). O teor de água absorvida (g) para um dado instante após o início do experimento foi calculado com base no aumento de massa das amostras em relação à massa inicial.

Para avaliar o efeito da temperatura nos grãos durante a hidratação, também foi realizada análise de absorbância e dos sólidos solúveis (°Brix) na água de imersão das amostras. As análises foram baseadas em procedimentos realizados por Bayram, Kaya e Öner (2004). Para isso, após cada tempo de hidratação, a água foi drenada e feita a leitura da absorbância (500nm) em espectrofotômetro Spectrum SP-1105. Para determinação dos sólidos solúveis, utilizou-se refratômetro REICHERT r2mini. Na sequência, a água de imersão retornava ao béquer.

Para determinação da densidade, os grãos foram pesados e depois foi avaliado o seu volume utilizando-se uma proveta graduada de 100 mL contendo inicialmente 60 mL de água destilada. O volume deslocado pela imersão dos grãos foi utilizado no cálculo da densidade. Para tanto, foi dividida a massa dos grãos pelo volume de água deslocado na proveta. O

raio médio foi avaliado a partir do volume de um grão considerando-se que fosse esférico (MONTANUCI; JORGE; JORGE, 2014):

$$r = \sqrt[3]{\frac{3V}{4\pi}} \quad (1)$$

Onde,  $r$  é o raio médio do grão e  $V$  é o volume deslocado pela imersão de cada um dos grãos.

Para avaliar o efeito da temperatura e do tempo de hidratação sobre as características físicas dos grãos de milho e soja, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial triplo. Os fatores avaliados foram: Cultivar X Temperatura X Tempo de hidratação. A análise de variância foi analisada com o auxílio do aplicativo computacional SISVAR (FERREIRA, 2011), adotando-se significância de 5% de probabilidade para o teste F para testar as hipóteses dos efeitos principais e das interações.

As alterações ocorridas devido ao efeito significativo do tempo e da temperatura foram explicadas pela análise de regressão, sendo que a melhor equação ajustada foi escolhida por meio do coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Para análise entre as médias do fator cultivar, foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

## Resultados e discussões

Os resultados das análises de variância para as variáveis respostas em cinco temperaturas e nove tempos de hidratação estão apresentados nas tabelas 1 e 2 para as cultivares de milho e soja, respectivamente.

Para a fonte de variação Cultivares (C), os resultados apresentaram valores significativos ( $p \leq 0,05$ ) para todas as variáveis analisadas. Isso indica a existência de variabilidade entre os genótipos testados. O teor de água absorvido, a absorvância e sólidos solúveis foram influenciados ( $p \leq 0,05$ ) pelos efeitos principais e pelas interações.

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância para as variáveis respostas de três cultivares de milho em função do tempo e temperatura de hidratação

Causas de variação	GL	Quadrado Médio das Variáveis				
		Teor de água absorvida	Densidade	Raio	Absorvância	Sólidos solúveis
Cultivar (C)	2	8,0196*	0,0099*	0,0119*	0,0625*	0,2775*
Temperatura (T)	4	120,69*	0,0034*	0,0028*	0,0186*	0,6587*
Tempo (t)	8	192,17*	0,0011	0,0084*	0,0430*	0,8024*
C*T	8	2,9606*	0,0014	0,0004*	0,0041*	0,0807*
C*t	16	0,2377*	0,0011	0,0000	0,0052*	0,0377*
T*t	32	2,5387*	0,0009	0,0000*	0,0024*	0,1192*
C*T*t	64	0,0797*	0,0013*	0,0000	0,0017*	0,0199*
Erro	270					
Total corrigido	404					
CV (%)		4,48	2,35	1,32	16,87	19,88
Média geral		4,4620	1,2067	0,4184	0,0384	0,1298

\* Significativo, ao nível de 5% pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância para as variáveis respostas de três cultivares de soja em função do tempo e temperatura de hidratação

Causas de variação	GL	Quadrado Médio das Variáveis				
		Teor de água absorvida	Densidade	Raio	Absorbância	Sólidos solúveis
Cultivar (C)	2	160,57*	0,0497*	0,0277*	0,8593*	7,5267*
Temperatura (T)	4	23,868*	0,0013	0,0020*	2,4048*	200,02*
Tempo (t)	8	424,08*	0,0363*	0,0486*	1,8944*	47,024*
C*T	8	0,6598*	0,0049*	0,0001*	0,1117*	4,5238*
C*t	16	3,2866*	0,0014	0,0001*	0,0531*	0,4186*
T*t	32	8,7552*	0,0024*	0,0000*	0,1477*	8,1739*
C*T*t	64	0,1052*	0,0015	0,0000	0,0128*	0,0209*
Erro	270					
Total corrigido	404					
CV (%)		2,99	3,52	1,21	10,03	9,15
Média geral		7,6705	1,0642	0,3840	0,2595	1,5829

\* Significativo, ao nível de 5% pelo teste F.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As cultivares de milho e soja apresentaram aumento acentuado no teor de absorção de água nas primeiras três horas de imersão, concordando com *Vengaiyah et al. (2012)* e *Ansari et al. (2015)* em estudo feito com trigo e figos, respectivamente. Para os grãos de milho, pode-se observar um aumento no teor de água absorvida à medida que se aumenta a temperatura de embebição durante todo o processo. De acordo com *Bello et al. (2004)*, *Resende e Corrêa (2007)* e *Botelho et al. (2010)*, esse comportamento pode ser atribuído à diferença de gradiente entre os tecidos dos grãos e o meio externo.

Para os grãos de soja, o aumento no decorrer da hidratação ocorreu somente para as temperaturas de 25 e 35 °C. De acordo com *Toledo et al. (2010)*, as sementes de soja são extremamente suscetíveis aos danos por embebição, podendo absorver água muito rapidamente e ocasionar rupturas em seus tecidos, o que é provável que tenha acontecido nas temperaturas de 45, 55 e 65 °C após as primeiras horas de hidratação, ocorrendo a diminuição da absorção de água.

A densidade das sementes é influenciada por vários fatores, entre eles: presença de ar (espaços vazios) no interior das sementes, composição química, maturidade e teor de óleo e de água (*AMARAL, 2012*). Os valores de densidade variaram entre 1,17 a 1,30; 1,16 a 1,22; 1,16 a 1,23 g/cm<sup>3</sup>, durante a hidratação para as cultivares de Milho UFT-1, UFT-2 e UFT-3, respectivamente. *Marques, Jorge e Jorge (2014)* encontraram valores médios da densidade de 1,11 a 1,14 g/cm<sup>3</sup> para cinco cultivares de milho.

Para as cultivares de soja, a densidade variou entre 1,02 a 1,15; 1,02 a 1,21; 1,03 a 1,20 g/cm<sup>3</sup>, durante a hidratação, para as cultivares M91444, BRS 33871 e M8766, respectivamente. *Coelho et al. (2007)* encontraram relação inversa entre a taxa de água absorvida e os caracteres morfológicos de grãos, sendo que, quanto maior a densidade das sementes, menor foi a taxa relativa de água absorvida.

Durante a hidratação, o aumento nos valores do raio é mais evidente para os grãos de

soja, ao final do processo esse parâmetro aumenta até 40%, e para os grãos de milho, o raio obteve um aumento de 10 a 15%. Montanuci, Jorge e Jorge (2014) constataram que com o aumento da temperatura de imersão aumenta o volume de forma significativa para cultivares de cevada.

Os valores de absorvância e sólidos solúveis indicam o grau de turbidez da água que representa partículas em suspensão. Para as cinco temperaturas estudadas, a absorvância e o teor de sólidos solúveis das amostras aumentam com o tempo de embebição, sendo que, para os grãos de soja, o aumento obedece a uma tendência linear. Esses dados mostram que durante a hidratação dessas cultivares ocorre liberação de componentes dos grãos (minerais, proteínas, carboidratos e outros) que podem afetar o rendimento dos produtos finais. Por isso a escolha da temperatura e da cultivar deve ser priorizada na industrialização dos grãos de modo a evitar perdas de nutrientes.

Em trabalhos realizados por Bayram, Kaya e Öner (2004), a absorvância e os sólidos solúveis da água de maceração foram afetados significativamente pelo tempo e pela temperatura para grãos de soja. Marques, Jorge e Jorge (2014) verificaram que os sólidos solúveis liberados na água de hidratação foram influenciados pela temperatura ao analisar grãos de milho convencional e transgênico.

A partir da análise entre as médias das cultivares de milho para os parâmetros estudados (Tabela 3) é possível observar que a entrada de água nos grãos da cultivar UFT-1 sofreu resistência maior durante o processo de hidratação, por terem absorvido quantidade menor de água e pela baixa quantidade de partículas em suspensão na água de hidratação. Esse resultado sugere que os grãos dessa cultivar possuem estrutura mais rígida e características morfológicas que desaceleram a absorção de água em comparação com as demais cultivares.

**Tabela 3.** Médias das variáveis respostas dos grãos de milho submetidos à hidratação em cinco temperaturas.

Cultivar	Teor de água absorvida	Densidade	Raio	Absorvância	Sólidos solúveis
UFT-1	4,18 <sup>a</sup>	1,21 <sup>a</sup>	0,351 <sup>a</sup>	0,014 <sup>a</sup>	0,1 <sup>a</sup>
UFT-2	4,58 <sup>b</sup>	1,19 <sup>b</sup>	0,205 <sup>b</sup>	0,053 <sup>b</sup>	0,2 <sup>b</sup>
UFT-3	4,62 <sup>b</sup>	1,21 <sup>a</sup>	0,222 <sup>c</sup>	0,048 <sup>c</sup>	0,1 <sup>a</sup>

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Fonte:** Elaborado pelo autor.

A análise entre as médias das cultivares de soja para todas as variáveis analisadas foram diferentes significativamente ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 4). De acordo com Toledo et al. (2010), a afinidade dos componentes químicos presente nos grãos de soja com a água pode determinar o grau de ocorrência dos danos por hidratação e acelerar ou retardar o processo de absorção de água pela semente.

**Tabela 4.** Médias das variáveis respostas dos grãos de soja submetidos à hidratação em cinco temperaturas.

Cultivar	Teor de água absorvida	Densidade	Raio	Absorbância	Sólidos solúveis
M8766	6,76 <sup>a</sup>	1,04 <sup>a</sup>	0,371 <sup>a</sup>	0,351 <sup>a</sup>	1,8 <sup>a</sup>
M9144	8,88 <sup>b</sup>	1,06 <sup>b</sup>	0,401 <sup>b</sup>	0,205 <sup>b</sup>	1,6 <sup>b</sup>
BRS 33871	7,36 <sup>c</sup>	1,08 <sup>c</sup>	0,378 <sup>c</sup>	0,222 <sup>c</sup>	1,3 <sup>c</sup>

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Fonte:** Elaborado pelo autor.

De acordo com os resultados apresentados para os grãos de soja na Tabela 4, a cultivar M8766 obteve a menor capacidade de absorção de água e maior perda de constituintes hidrossolúveis presentes nos grãos em relação às demais cultivares.

Concluindo, vimos que as cultivares de milho e soja exibiram alta taxa de absorção de água nas primeiras horas de hidratação com a umidade tendendo ao equilíbrio com o decorrer do tempo, sendo que os grãos de soja não devem ser hidratados em temperaturas elevadas durante um longo período de imersão. Para os grãos de milho, a elevação da temperatura de embebição foi favorável ao aumento da capacidade de hidratação dos grãos, sem causar rupturas no tecido. Os genótipos UFT-3, M9144 e BRS 33871, dentre as cultivares de milho e soja analisadas, apresentaram melhor capacidade de hidratação considerando os parâmetros estudados. Em função dos resultados, pode-se concluir que as características morfológicas e físicas do grão podem afetar a capacidade de hidratação e que a temperatura deve ser considerada ao se selecionar as condições de hidratação.

## Referências

- AMARAL, A. D. DO; MEDEIROS, S.L. P.; MENEZES, N. L. DE, LUZ, G. L. DA; PIVOTO, D.; BIALOZOR, A. Qualidade de sementes de canola classificadas por densidade. **Revista Brasileira de Sementes**, 34(2), 302-309, 2012.
- ANSARIS.; MAFTOON-AZAD N.; HOSSEINI E.; FARAHNAKY A.; ASADI G. Modeling the Rehydration Behavior of Dried Figs. **J. Agric. Sci. Technol.** Vol. 17: 133-144, 2015.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC international**. 16 ed. Washington, 1995.
- BAYARAM, M.; KAYA, A.; ONER, M. D. Changes in properties of soaking water during production of soy-bulgur. **Journal food engineering**. p.221-230. 2004.
- BELLO, M.; TOLABA, M. P.; SUAREZ, C. Factors affecting water uptake of rice grain during soaking. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 37,p. 811 – 816, 2004.
- BOTELHO, F. M.; CORRÊA, P. C.; GONELI, A. L. D.; MARTINS, M. A.; BAPTESTINI, F. M. Análise da hidratação do arroz na parboilização. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 30(3): 713-718, jul.-set. 2010.
- COELHO, C. M. M.; ZÍLIO, M.; PIAZZOLI, D.; FARIAS, F. L.; SOUZA, C. A.; BORTOLUZZI, R. L. C. Influência das características morfológicas e físicas dos grãos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) na sua capacidade de hidratação e cocção. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 105-107, 2007.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos, Safra 2014/15**. –v. 2 -, n. 9 - Nono levantamento. Brasília : Conab, 2015. Disponível em:< <http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 01 jul. 2015.
- COUTINHO, M.R.; OMOTO, E. S.; ANDRADE, C. M. G.; JORGE, L. M. M.; Modelagem e validação da hidratação de grãos de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 25(3): 603-610, jul.-set. 2005.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- GAROSI, V. A.; GORENSTEIN, M.R; GOMES, L. Q. Inventário florestal e recomendações de manejo para a floresta estadual de assis – instituto florestal, SP. **Revista científica eletônica de engenharia florestal** – ISSN: 1678-3867, Ano VII – Número 12 – Agosto de 2008.
- LOPES FILHO, J. F.; RAMOS, A. P.; ROMERO, J. T. Difusividades da água, dióxido de enxofre e ácido láctico em grãos de milho durante a maceração para o processo de moagem úmida. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 4, p. 257-263, 2006.
- MARQUES, B. C.; JORGE, L. M. M.; JORGE, R. M. M. Hydration kinetics, physicochemical composition, and textural changes of transgenic corn kernels of flint, semi-flint, and dent varieties. **Ciência e Tecnologia de Alimentos (Impresso)** , v. 34, p. 88-93, 2014.

MONTANUCI, F. D.; JORGE, L. M. M.; JORGE, R. M. M. Effect of time and temperature on the hydration process of barley grains. **Heat and Mass Transfer**, Volume 51, Issue 3, pp 363-372, March 2014.

RESENDE, O.; CORRÊA, P. C. Modelagem matemática do processo de hidratação de sementes de feijão. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 29, n. 3, p. 373-378, 2007.

SEAB. Secretaria de estado da agricultura e do abastecimento. Departamento de economia rural - DERAL. **Soja – Análise da Conjuntura Agropecuária**. Safra 2014/15. Novembro de 2014a. Disponível em:<<http://www.agricultura.pr.gov.br>>. Acesso em: 01 jul. 2015.

SEAB. Secretaria de estado da agricultura e do abastecimento. Departamento de economia rural - DERAL. **Milho - safra 2014/15**. Dezembro de 2014b. Disponível em:<<http://www.agricultura.pr.gov.br>>. Acesso em: 01 jul. 2015.

TOLEDO, M.Z.; CAVARIANI, C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; NAKAGAWA, J. Imbibition damage in soybean seeds as affected by initial moisture content, cultivar and production location. *Seed Science and Technology*, v.38, n.2, p.399-408, 2010.

VENGAIAH, P. C. et al. Hydration characteristics of wheat grain. **Agricultural Engineering International: CIGR Journal**, v. 14, n. 1, 2012.

VOLPE, T. C.; SANTOS, A. M. R.; JORGE, L. M. M.; JORGE, R. M. M.; “Estudo da cinética de hidratação e propriedades do grão de arroz durante o processo de parboilização”, p. 2950-2957. In: **Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ 2014 [ Blucher Chemical Engineering Proceedings, v.1, n.2]**. São Paulo: 2015. ISSN 2359-1757, DOI 10.5151/chemeng-cobeq2014-0013-27548-189071.

## Capítulo 2: Utilização da pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius raddi*) como antioxidante em linguiça suína

Adriana Régia Marques de Souza

Clarissa Damiani

Deivis de Moraes Carvalho

Letícia Fleury Viana

Vânia Maria Alves

A oxidação lipídica é o processo primário de deterioração da qualidade da carne e se manifesta por mudanças de cheiro, cor, textura, valor nutritivo, e possível produção de compostos tóxicos (JENSEN et al. 1998), o que afeta sua aceitabilidade para o consumo (NOGALA-KALUCKA et al. 2005).

Além disso, a oxidação lipídica afeta o valor nutricional dos alimentos pela perda de vitaminas e ácidos graxos insaturados essenciais por oxidação, e pode originar compostos prejudiciais à saúde humana (ANSORENA; ASTIASARÁN, 2004).

Aldeídos e cetonas são os principais aromas derivados da oxidação lipídica, no entanto os hidrocarbonetos (alcanos, alcenos) e álcoois, principalmente álcool vinil, também desempenham papel de off flavors (BELITZ et al. 2009).

Antioxidante é a substância que retarda o aparecimento de alteração oxidativa no alimento (MELO; BOAS, 2010). Consideram-se antioxidantes certas substâncias presentes de forma natural ou adicionadas intencionalmente às gorduras ou aos alimentos para retardar o aparecimento dos fenômenos de oxidação e manter intactas suas características sensoriais (SANTOS; CRUZ 2001). A grande preocupação em estudar antioxidantes se justifica pelos efeitos maléficos que os radicais livres geram ao organismo. O fato de a oxidação ser importantíssima à vida aeróbica faz com que os radicais livres sejam produzidos naturalmente. Os radicais livres gerados in vivo estão envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas de grande importância (ROSA et al., 2012).

Os principais antioxidantes sintéticos são compostos fenólicos, como BHA (hidroxianisol butilado), BHT (hidroxitolueno butilado), TBHQ (terc-butil hidroquinona), e PG (galato de propila). Esses são denominados antioxidantes primários e atuam na etapa da iniciação da oxidação lipídica. Ainda possuem ampla utilização pela indústria de alimentos, pois contém alto poder antioxidante e são de baixo custo (HUANG et al. 2011), mas, por motivo de risco potencial à saúde humana, vêm sendo substituídos por antioxidantes naturais provenientes de várias fontes vegetais, considerados mais seguros à saúde (CONEGLIAN et al. 2011).

*Schinus terebinthifolius* Raddi é popularmente chamado de pimenta rosa ou pimenta brasileira e “pimenta-rosa” no Brasil (PIRES et al. 2004). Seu fruto é conhecido como pimenta rosa, que pode ser comercializado in natura ou na forma de óleo essencial, este produz um subproduto gerado pela extração do óleo assim como de frutos refugados para comercialização que pode ser alternativa para a alimentação animal. Lima et al. (2006) e Zanini et al. (2009) observaram a presença de compostos fenólicos como os taninos, além de alcalóides, saponinas, esteróis e terpenos na *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Essa pimenta é importante fonte de goma-resina da família Anacardiaceae; seus frutos são numerosos, pequenos, de coloração vermelho-brilhante e portadores de secreção pegajosa. Tem sido amplamente utilizada na culinária internacional, o que tem causado considerável aumento da procura dessa espécie pela indústria de condimentos. A pequena semente do fruto da aroeira, conhecida na culinária européia como pimenta-rosa, apresenta sabor suave e levemente apimentado, sendo empregada em várias preparações, na forma de grãos inteiros ou moídos (GOMES et al. 2009). Dessa maneira, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antioxidante da pimenta rosa e seu emprego como antioxidante em linguças suínas.

## **Materiais e métodos**

As amostras de pimenta rosa in natura foram colhidas em plantas localizadas na Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, Goiânia/GO. Para a determinação da capacidade antioxidante, estudou-se a pimenta in natura, a pimenta seca e moída e o óleo da pimenta rosa, e para a formulação da linguça somente foi utilizada a pimenta rosa seca e moída.

### **Obtenção da amostra de pimenta rosa seca e moída**

A pimenta rosa in natura foi seca em estufa com circulação de ar (MA035), à temperatura de 60° C e triturada em moinho do tipo faca.

### **Obtenção da amostra de óleo da semente de pimenta rosa**

O óleo da pimenta rosa foi obtido de acordo com o método de Soxhlet, descrito por SCHONS et al. (2017) com algumas modificações. A pimenta foi previamente moída e em seguida diluída em éter de petróleo. A solução foi deixada em repouso sob ultrassom por cerca de seis horas e em seguida filtrada. O filtrado foi colocado em roto-evaporador por tempo suficiente para que se retirasse o éter de petróleo. Ao fim, a solução foi deixada em repouso em estufa para retirar quaisquer resíduos do solvente.

### **Análise da capacidade antioxidante das amostras**

A atividade antioxidante da pimenta rosa in natura, pimenta rosa seca e moída e do óleo essencial da pimenta foi realizada pelo método in vitro de sequestro do radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila), conforme descrito por Roesler et al. (2007). A capacidade de sequestrar o radical DPPH é expressa como percentual de inibição de oxidação do radical livre com base no decréscimo da absorbância do extrato da amostra medida no espectrofotômetro a 517nm. A capacidade antioxidante também foi avaliada em relação ao valor de IC<sub>50</sub>, o qual é definido com a concentração final em mg/mL do extrato seco presente na cubeta, requerido para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (Roesler et al. 2007).

O teor de fenólicos foi realizado segundo Genovese et al. (2003) para determinação dos fenóis totais com o reagente de Folin-Ciocalteu. A determinação desses fenóis foi segundo Zieliski & Kozowaska (2000) e os resultados expressos em mgEAG.100g<sup>-1</sup>.

## Formulação da linguiça

Foram utilizados lombo suíno (80%) e toucinho (20%) como matéria-prima para o preparo da linguiça. Na formulação, utilizou-se 2% de sal e diferentes concentrações da pimenta rosa seca e moída (0; 0,5; 1,0 e 1,5%) em relação ao peso da matéria-prima. Após o preparo das linguiças foram realizadas análises físico-químicas para acompanhar a oxidação das amostras.

A matéria-prima foi previamente moída (lombo e toucinho), em seguida foi efetuada sua homogeneização manualmente; nessa etapa adicionou-se o sal e a pimenta nas três diferentes concentrações. Por fim, as linguiças foram embutidas manualmente em tripas naturais suínas e resfriadas. Após o processamento as linguiças foram embaladas a vácuo e armazenadas sob refrigeração (6±2 °C) para realização de análises físico-químicas em diferentes tempos de estocagem (0, 4, 8, 12 e 16 dias).

## Análises físico-químicas

### Análise de pH

A análise de pH foi realizada de acordo com AOAC (2010). O medidor de pH foi inicialmente calibrado em duas soluções padrão. Pesaram-se 5 g de cada amostra de linguiça e diluíram-se em 50 mL de água destilada a fim de se obter uma solução 1:10. Foram realizadas três leituras de cada amostra.

### Análises de ranço na gordura

Foi utilizada a metodologia do Instituto Adolf Lutz (IAL), (2008). Primeiramente são extraídos da amostra 5 mL de gordura e colocados em estufa a 110° C por 10 minutos retirando-se o óleo que se desprende da linguiça. O material coletado foi fundido em 5 mL de ácido clorídrico e em seguida a solução foi agitada por 30 segundos. Foram adicionados 5 mL de solução de floroglucina a 0,1% em éter. Agitou-se novamente por três segundos e deixou-se em repouso por 10 minutos. Na presença de substâncias rançosas, a camada inferior apresenta coloração rósea ou vermelha.

### Análises do índice de peróxidos

Foi utilizada a metodologia aprovada pelo IAL (2008). Foram pesadas 5 g de gordura previamente extraída e diluída em 30 mL de solução de ácido acético – clorofórmio (3:2 v/v) e agitou-se o frasco. Adicionou-se 1,5 mL da solução de iodeto de potássio. Deixou-se a solução em repouso por exatamente 10 minutos no escuro. Adicionou-se 0,5 mL da solução de amido a 1% em 30 mL de água destilada. Se a coloração ficasse azul, o índice de peróxido seria

positivo. Quando isso ocorreu, titulou-se com a solução de tiosulfato de sódio 0,01 N até que a coloração azul desaparecesse. Caso a coloração fosse branca, o índice seria negativo.

## Análise de cor

As amostras de linguiças com diferentes concentrações de pimenta rosa seca e moída foram trituradas em liquidificador até que apresentassem aspecto de cor uniforme. Os parâmetros instrumentais de cor foram determinados utilizando-se colorímetro (Color Quest, XE, Reston, EUA), de acordo com o sistema CIELab. Os resultados foram expressos em valores  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , sendo  $L^*$  (luminosidade ou brilho), variando do preto (0) ao branco (100),  $a^*$  variando do verde (-60) ao vermelho (+60) e  $b^*$  variando do azul (-60) ao amarelo (+60). A partir dos resultados de  $a^*$  e  $b^*$  foram calculados os parâmetros de  $C^*$  (croma) para indicar a saturação da amostra, ou seja, para descrever o brilho da cor, pela equação 3:

$$C = \sqrt{a^2 + b^2} \quad C = \sqrt{a^2 + b^2} \quad \text{Equação 1}$$

## Análise estatística

Os dados foram analisados de acordo com o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições. Foi realizado o teste estatístico de Tukey empregando-se o pacote estatístico SISVAR 4.06 ao nível de significância de 5% (FERREIRA, 2000).

## Resultados e discussão

Os resultados obtidos para a capacidade antioxidante das pimentas estão elucidados na Tabela 1 e indicam que a pimenta seca e moída apresenta maior efetividade de efeito antioxidante entre as outras amostras.

**Tabela 1.** Potencial antioxidante (%) da pimenta rosa *in natura*, seca e moída e do óleo da pimenta obtido através do método do DPPH.

Extratos	Óleo	Amostras Pimenta Seca e Moída	Pimenta <i>In Natura</i>
Etéreo	0,28%	21,49%	22,04%
Alcoólico	0,28%	55,65%	13,22%
Aquoso	7,16%	12,67%	20,11%
Total	7,72%	89,81%	55,37%

**Fonte:** Elaborado pelo autor.

De acordo com a Tabela 1, a pimenta seca e moída apresenta maior potencial para ser empregada como possível agente antioxidante em produtos cárneos, isso se deve ao fato de a pimenta não ter passado por nenhum tratamento de conservação, pois quando há emprego de tratamentos de conservação, como pasteurização, esterilização e desidratação, são

realizados de maneira inadequada e podem causar sérios danos às características sensoriais e principalmente nutricionais do produto conservado (SILVA; SOUZA, 2006).

Para evitar a ação do tempo nos alimentos, as indústrias se valem de agentes que preservam a integridade do produto e aumentam sua data de validade (STADLER, 1999).

Shahidl e Wanasundara (1992) consideram a adição de compostos antioxidantes uma das práticas mais importantes devido ao baixo custo de obtenção, facilidade de emprego, eficácia, termo-resistência, neutralidade organoléptica e ausência reconhecida de toxicidade, o que facilita sua seleção e utilização em nível industrial. Lira et al. (2003) afirmam que o antioxidante nitrito de sódio é um aditivo intencional utilizado em produtos cárneos com o objetivo de fixar a cor, conferir sabor e aroma característicos e retardar a oxidação lipídica.

A Tabela 2 apresenta os valores do pH durante o período de armazenamento das linguças com diferentes concentrações de pimenta rosa seca e moída. Os pH's obtiveram considerável alteração em relação ao tempo para a amostra controle (0%) e tratamentos 0,5% e 1,0% de pimenta moída, sendo a amostra de 1,5% a que apresentou as menores variações.

**Tabela 2.** Análise de pH de linguças suínas com diferentes concentrações da pimenta rosa seca e moída em diferentes tempos (dias) de estocagem sob refrigeração ( $6 \pm 2$  °C).

Tempo (Dias)	Concentrações de pimentas			
	0,00%	0,50%	1,00%	1,50%
0	5,86 <sup>aA*</sup>	5,72 <sup>aB</sup>	5,66 <sup>aBC</sup>	5,61 <sup>aC</sup>
4	7,06 <sup>bA</sup>	6,72 <sup>bB</sup>	6,06 <sup>bC</sup>	5,43 <sup>aD</sup>
8	7,24 <sup>cA</sup>	7,04 <sup>cB</sup>	6,44 <sup>cC</sup>	6,63 <sup>cD</sup>
12	7,63 <sup>dA</sup>	7,03 <sup>cB</sup>	6,66 <sup>dC</sup>	6,40 <sup>bD</sup>
16	7,38 <sup>eA</sup>	7,23 <sup>dB</sup>	6,69 <sup>dC</sup>	6,55 <sup>cD</sup>

\*As letras minúsculas diferentes entre as linhas indicam que há diferença estatística entre os tempos de armazenamento e as letras maiúsculas diferentes entre as colunas indicam diferença estatística entre os tratamentos.

**Fonte:** Elaborado pelo autor.

A adição de antioxidantes à carne eleva o pH de 0,2 a 0,5 unidades e por isso aumenta seu poder de retenção de água deslocando o pH da zona isoelétrica. Os antioxidantes ajudam a solubilizar as proteínas musculares e a diminuir a acidez (elevam o pH) da carne, na qual incrementam o espaço ao redor das proteínas e, assim, maior quantidade de água pode manter-se entre as proteínas. As carnes para fabricação de produtos embutidos têm um pH compreendido, em geral, entre 5,4 e 5,8, a zona isoelétrica das proteínas constituintes dessas carnes (ponto isoelétrico),

Pardi et al. (1996) apontam evidências de que bactérias que auxiliam na deterioração da carne cresçam em pH um pouco mais elevado, o que coincide com os resultados obtidos pelo pH para as amostras de 0,0% e 0,5%. Porém não é possível afirmar que alguma bactéria que auxilia na deterioração da carne cresça nesse meio, já que não foram realizadas análises microbiológicas para a linguça, além de a presença da pimenta rosa poder também inibir o

crescimento e desenvolvimento de bactéria, pois autores como Bendaoud, et al., 2010 relatam que seu óleo essencial é usado para tratar distúrbios respiratórios, micose e infecções por candidíase invasiva. Segundo Lima et al. (2009), essas propriedades são atribuídas à presença de altos níveis de monoterpenos nessas espécies.

Diversos estudos avaliaram a atividade antimicrobiana in vitro do extrato hidroalcoólico ou tinturas de *S. terebinthifolius* contra microrganismos patogênicos na cavidade bucal. Um estudo de rastreamento desenvolvido por Pereira et al. (2011) avaliou a susceptibilidade de microrganismos patogênicos orais, como *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, a etanol, hexano e butano extraídos de *S. terebinthifolius*.

A análise de rancificação (Tabela 3) tem teor qualitativo, assim podemos saber se houve ou não rancificação da amostra.

**Tabela 3.** Análise da rancidez das linguiças suínas com diferentes concentrações de pimenta rosa seca e moída em diferentes tempos (dias) de estocagem sob refrigeração ( $6\pm 2$  °C).

Tempo (Dias)	Concentrações de pimentas			
	0,00%	0,50%	1,00%	1,50%
0	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
4	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
8	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
12	Presença	Ausência	Ausência	Ausência
16	Presença	Presença	Ausência	Ausência

Fonte: Elaborada pelo autor

Os resultados observados mostram que a partir do 12° dia apenas a amostra controle (0% de pimenta moída) apresentou rancificação, enquanto no 16° dia confirmou-se que a amostra controle estava realmente rancificada e que a amostra 0,5% começava a rancificar. Portanto, pôde-se observar que, além de ter evitado a rancificação, a concentração da pimenta influenciou sobre o tempo em que o produto ficou sem rancificar.

Os óleos essenciais de *S. terebinthifolius* contêm  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno,  $\beta^3$ -careno, limoneno,  $\alpha$  e  $\beta$ -fellandrene, *p*-cimeno e terpinoleno como principais compostos, além de pequenas quantidades de álcoois mono e triterpênicos, hidrocarbonetos sesquiterpênicos e cetonas. Os principais constituintes dos óleos essenciais extraídos dos frutos de *S. terebinthifolius* coletados em Dourados/MS foram:  $\alpha$ -pineno (22,56%), sabineno (15,78%), *Z*-salvênio (10,69%),  $\beta$ -pineno (10,52%),  $\alpha$ -funebre (8,82%) e limoneno (5,52%) (ROVEDA, 2010)

Dentre os tocoferóis, o  $\alpha$ -tocoferol é o composto que apresenta maior capacidade antioxidante. Representam a vitamina E, que é lipossolúvel (BARREIROS et al., 2006) e está presente naturalmente em óleos vegetais, sendo responsáveis por doar seus átomos de hidrogênio aos radicais livres de origem lipídica interrompendo, assim, a fase da propagação na autoxidação (RAMALHO ;JORGE, 2006).

O  $\alpha$ -tocoferol pode ser regenerado pelo ácido ascórbico, conhecido como vitamina C, que também possui propriedades antioxidantes por remover de maneira estável o oxigênio que age como propagador da autooxidação (DUARTE; ALMEIDA et al. 2006; CERQUEIRA et al. 2007). O ascorbato solúvel em água possui também propriedades pró-oxidantes, pois os íons  $Fe^{2+}$  e  $Cu^{2+}$  reagem com o peróxido de hidrogênio e geram o radical hidroxila, induzindo as reações de radicais livres (BARREIROS et al. 2006).

Os valores de peróxido para as linguças elaborados com diferentes concentrações de pimenta rosa seca e moída são mostrados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Análises de peróxidos das linguças suínas com diferentes concentrações de pimenta rosa seca e moída em diferentes tempos (dias) de estocagem sob refrigeração.

Tempo (Dias)	Concentrações de pimentas			
	0,00%	0,50%	1,00%	1,50%
0	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>
4	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>
8	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>
12	3,93 <sup>bA</sup>	0 <sup>aB</sup>	0 <sup>aB</sup>	0 <sup>aB</sup>
16	6,21 <sup>cA</sup>	3,97 <sup>bB</sup>	0 <sup>aC</sup>	0 <sup>aC</sup>

\*As letras minúsculas diferentes entre as linhas indicam que há diferença estatística entre os tempos de armazenamento e as letras maiúsculas diferentes entre as colunas indicam diferença estatística entre os tratamentos.

**Fonte:** Elaborada pelo autor

Foi observado que, na amostra 0%, após o início da rancificação que ocorreu apenas no 12° dia (Tabela 3), foi obtido o valor de 3,92% de peróxidos. Entretanto, já no 16° dia, o índice quase dobrou de valor, chegando a 6,21%. A amostra de 0,5% apresentou somente no 16° dia valor similar ao índice de peróxido da amostra 0% no 12° dia. Nas demais amostras, não houve qualquer detecção de peróxidos no intervalo de 16 dias. Essa taxa de rancificação varia de produto para produto e, portanto, pode-se inferir que a pimenta rosa foi eficiente para retardar a oxidação lipídica da linguça.

Os resultados das análises de cor das amostras de linguça elaboradas com pimenta rosa seca e moída são apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Análise colorimétrica L (luminosidade) das linguiças suínas com diferentes concentrações de pimenta rosa seca e moída em diferentes tempos (dias) de estocagem sob refrigeração ( $6 \pm 2$  °C).

Tempo (Dias)	Concentrações de pimentas			
	0,00%	0,50%	1,00%	1,50%
0	51,94 <sup>aA</sup>	52,66 <sup>aA</sup>	47,81 <sup>aB</sup>	44,89 <sup>aC</sup>
4	59,88 <sup>bB</sup>	47,11 <sup>bA</sup>	46,26 <sup>aA</sup>	47,03 <sup>bA</sup>
8	45,25 <sup>cB</sup>	41,48 <sup>cA</sup>	41,26 <sup>bA</sup>	42,74 <sup>cA</sup>
12	52,98 <sup>aA</sup>	39,49 <sup>cB</sup>	46,17 <sup>aC</sup>	44,26 <sup>aD</sup>
16	58,62 <sup>bA</sup>	50,22 <sup>aB</sup>	42,54 <sup>bC</sup>	45,77 <sup>cA</sup>

\*Letras minúsculas diferentes entre as linhas indicam que há diferença estatística entre os tempos de armazenamento e as letras maiúsculas diferentes entre as colunas indicam diferença estatística entre os tratamentos.

**Fonte:** Elaborada pelo autor

Comparando-se todos os tratamentos em todos os tempos, percebeu-se que o parâmetro luminosidade ( $L^*$ ) apresentou maiores valores para o controle atingindo o maior valor de luminosidade no tempo 4, que foi de 59,88.

**Tabela 6.** Análise colorimétrica  $a^*$  (cor de vermelho ao verde) das linguiças suínas com diferentes concentrações de pimenta rosa seca e moída em diferentes tempos (dias) de estocagem sob refrigeração ( $6 \pm 2$  °C).

Tempo (Dias)	Concentrações de pimentas			
	0,00%	0,50%	1,00%	1,50%
0	4,04 <sup>aA</sup>	4,97 <sup>aA</sup>	6,72 <sup>aB</sup>	5,89 <sup>aC</sup>
4	2,48 <sup>bB</sup>	3,35 <sup>bA</sup>	4,03 <sup>bA</sup>	3,78 <sup>bA</sup>
8	4,08 <sup>aA</sup>	3,84 <sup>bA</sup>	4,89 <sup>bA</sup>	4,49 <sup>cA</sup>
12	2,74 <sup>bB</sup>	5,52 <sup>aC</sup>	4,91 <sup>bA</sup>	4,65 <sup>cA</sup>
16	2,05 <sup>bB</sup>	3,17 <sup>bC</sup>	4,92 <sup>bA</sup>	4,08 <sup>cA</sup>

\*Letras minúsculas diferentes entre as linhas indicam que há diferença estatística entre os tempos de armazenamento e as letras maiúsculas diferentes entre as colunas indicam diferença estatística entre os tratamentos.

**Fonte:** Elaborada pelo autor

A variável  $a^*$  (vermelha - verde) apresentou variação muito grande entre os tratamentos, apresentando seu pico máximo no tempo 0 com a linguiça com 1% de concentração de pimenta, com o valor 6,72. A variável  $b^*$  (amarelo - azul) não apresentou grande variação entre as amostras, sendo a ocorrência mais expressiva no tempo 12 referente à linguiça com 0,5% de pimenta.

**Tabela 7.** Análise colorimétrica  $b^*$  (cor de amarelo ao azul) das linguiças suínas com diferentes concentrações de pimenta rosa seca e moída em diferentes tempos (dias) de estocagem sob refrigeração ( $6 \pm 2$  °C).

Tempo (Dias)	Concentrações de pimentas			
	0,00%	0,50%	1,00%	1,50%
0	15,84 <sup>aC</sup>	18,54 <sup>aB</sup>	20,08 <sup>aA</sup>	20,47 <sup>aA</sup>
4	19,79 <sup>bB</sup>	18,60 <sup>aB</sup>	17,59 <sup>bA</sup>	17,43 <sup>bA</sup>
8	20,42 <sup>bA</sup>	20,86 <sup>bA</sup>	20,40 <sup>aA</sup>	19,17 <sup>cB</sup>
12	21,44 <sup>cA</sup>	22,14 <sup>cA</sup>	19,28 <sup>aB</sup>	18,90 <sup>cC</sup>
16	19,82 <sup>bA</sup>	19,58 <sup>aA</sup>	20 <sup>aB</sup>	17,00 <sup>Bc</sup>

\*Letras minúsculas diferentes entre as linhas indicam que há diferença estatística entre os tempos de armazenamento e as letras maiúsculas diferentes entre as colunas indicam diferença estatística entre os tratamentos.

**Fonte:** Elaborada pelo autor

A que apresentou menor valor para essa variável foi a linguiça com 1,5% de pimenta no tempo 16. Esse fato pode ser explicado devido à capacidade antioxidante da pimenta, pois, segundo Ogawa e Maia (1999), quando o músculo é exposto ao ar, ocorre oxigenação do pigmento mioglobina, formando então a oximioglobina (vermelho vivo), quando a exposição é mais prolongada, ou seja, durante o tempo de vida útil do produto, ocorre oxidação do pigmento causada pela modificação do íon ferroso ( $Fe^{++}$ ) para o íon férrico ( $Fe^{+++}$ ). Com essa oxidação, forma-se o pigmento metamioglobina, que apresenta coloração marrom claro, quase amarelada, que pode ser evidenciada nas demais linguiças, pois apresentaram valores de  $b^*$  superiores.

A cor é o primeiro estímulo percebido pelo consumidor ao adquirir ou rejeitar um produto alimentício. Possui, portanto, altíssima força de decisão, levando até mesmo ao esquecimento momentâneo das características nutricionais do produto. Para o consumidor brasileiro, carne de qualidade é sinônimo de carne vermelha (SANTOS, 2006).

Concluindo, a pimenta rosa apresenta poder antioxidante e pode ser utilizada para prolongar a vida de prateleira de produtos cárneos.

## Referências

- ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Effect of storage and packaging on fatty acid composition and oxidation in dry fermented sausages made with added olive oil and antioxidants. **Meat Science**, v.67, p.237-244, 2004. DOI: 10.1016/j.meatsci.2003.10.011.
- AOAC - Association Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18th ed., rev.3, Gaithersburg: AOAC, 2010.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVIS, J. M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**; Berlim: Springer Verlag, 2009, 1070 p.
- BENDAOUD, H.; ROMDHANE, M.; SOUCHARD, JP; CAZAUX, S.; BOUJILIA, J. Composição química e atividades anticancerígena e antioxidante dos óleos essenciais de *Schinus Molle L.* e *Schinus terebinthifolius* Raddi berries. **Jornal de Alimentos e Ciência**. v. 75, p. 466-72, 2010.
- CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.
- CONEGLIAN, S. M.; LIMA, B. S.; SILVA, L. G.; LAZZARI, C. M.; SERRANO, R. D. C.; TONELLO, C. L. Utilização de antioxidantes nas rações. **PUBVET**, Londrina, v. 5, n. 5, Ed. 152, Art. 1026, 2011.
- DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.
- FERREIRA, D.F. **Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0**. In. 45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, julho de 2000. p.255-258.
- GENOVESE, M. I.; HASSIMOTTO, N. M. A.; LAJOLO, F. M. Determinação do conteúdo de fenólicos totais em frutos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 39, supl. 3, p. 167-169, 2003.
- HUANG, B.; HE, J.; BAN, X.; ZENG, H.; YAO, X.; WANG, Y. Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome knot and leaf. **Meat Science**, Barking, v. 87, n. 1 p. 43-56, 2011.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p. Disponível em: Acesso em: 15 dez. 2008.
- JENSEN, C.; LAURIDSEN, C.; BERTELSEN, G. Dietary Vitamin E: Quality and Storage Stability of Pork and Poultry. **Trends in Food Science and technology**, v.9, n.2, p.62-72, 1998.
- LIRA, G. M.; NETA, M. L. S.; SOUZA, J. B.; BARROS, E. S. Teores de nitrito de sódio em produtos cárneos comercializados em Maceió - AL. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 62(3): 165 - 170, 2003.

MELO, A. A. M.; BOAS, E. V. de B. Inibição do escurecimento enzimático de banana maçã minimamente processada. **Ciênc Tec Alim**, v. 23, n. 01, p. 28-32, 2010.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NUNEZ, M.J; PARAJO, J. C. Natural antioxidants from residual sources **Food Chemistry** – Review – n 72, p 145-171, 2001.

NOGALA-KALUCKA, M.; KORCZAK, J.; DRATWIA, M.; LAMPART-SZCZAPA, E.; SIGER, A.; BUCHOWSKI, E. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. **Food Chemistry**, v.93, p.227- 235, 2005.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F. dos; SOUZA, E. R. de; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: CEGRAF-UFG/Niterói: EDUFF, v.2,1110, 1993.

PEREIRA, E. M.; GOMES, R. T.; FREIRE, N. R.; AGUIAR, E. G.; BRANDAO, M. G.; SANTOS, V. R. Atividade antimicrobiana in vitro de extratos de plantas medicinais brasileiras contra microrganismos patogênicos de interesse para a odontologia. **Planta Medica**, v. 77, p. 401-4, 2011.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes usados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.4, p 755-760, jul./ago 2006.

ROESLER, R.; MALTA, L.G.; CARRASCO, L.C.; HOLANDA, R.B.; SOUSA, C.A.S.S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v2, n.1, p. 53-60, 2007.

ROSA, J. S.; GODOY, R. L. de O.; NETO-OIANO, J.; CAMPOS, R. da S.; MATTA, de. V. M.; FREIRE, C. A.; SILVA, da. A.S.; SOUZA, de. R.S. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciê Tec. Alim**, v. 24, n.01, p.87-93, 2012.

ROVEDA, LM; FORMAGIO, ASN; BALDIVIA, DS; SANTOS, LAC; VIEIRA, MC; FOGLIO, MA; CARDOSO, CAL; CARVALHO, JE; FORMAGIO NETO, F. Composição química e avaliação da atividade antitumoral do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Em Anônimos Anais do X Simpósio Brasil-Japão**, 2010.

SANTOS, H. S.; CRUZ, de W. M. S. A terapia nutricional com vitaminas antioxidantes e o tratamento quimioterápico oncológico. **Rev Bras de Canc**, v. 47, n.03, p.303-307, 2001.

SANTOS, O. J.; RIBAS FILHO, J. M.; CZECHKO, N. G.; BRANCO NETO, M. L. C.; NAUFEL JÚNIOR, C.; FERREIRA, L. M.; CAMPOS, R. P.; MOREIRA, H.; PORCIDAS, R. D.; DOBROWOLSKI, S. Avaliação do extrato de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de gastrorrafias em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, p.39-45, 2006.

SCHONS, I. J.; FIORI, K. P.; RIBEIRO, E. B.; ANDRIGHETTI, C. R.; ROBERTA NOGUEIRA, R.; VALLADÃO, DE D. M. S. Extração assistida por ultrassom e caracterização do Óleo da castanha-do-brasil (*bertholletia excelsa* H.B.K.). **Interciência**, v.42, n. 9, 2017.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P. K. J. P. D. **Phenolic antioxidants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Amherst, v. 32, n. 1, 1992.

SILVA, E. C.; SOUZA, R. J. **Cultura da Pimenta**. 2005. Disponível em: <[http://www.editora.ufla.br/boletimpdfextensãobol\\_68.pdf](http://www.editora.ufla.br/boletimpdfextensãobol_68.pdf). > Acesso em: 18/03/2018.

STADLER, ZECLIZ. **Determinação do Teor de Vitamina C em Alimentos**. Curitiba, 1999.27f. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Ensino de Química Experimental para o 2o. Grau, Setor de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná.

ZIELINSKI, H.; KOZLOWSKA, H. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, p. 2008-2016, 2000.

## Capítulo 3: Determinação do calor específico do murici (*byrsonima crassifólia*) a diferentes concentrações de sólidos solúveis para aplicabilidade a temperaturas entre 20 e 60°C.

*Fabriele de Sousa Ferraz*

*Ana Caroline Pereira Dias*

*João Carlos Soto Riva de Oliveira*

*Eloane Daise Gomes Dallastra*

*Manoel Messias Alvino de Jesus*

*Lina Maria Grajales Agudelo*

O Brasil tem se destacado em âmbito mundial como grande produtor de frutas e hortaliças. Atualmente ocupa o terceiro lugar como maior produtor de frutas do mundo, com uma produção de 41,5 milhões de toneladas ao ano, ficando atrás apenas da China e da Índia (SEBRAE, 2016). O país possui grandes extensões territoriais e apresenta climas e solos muito variados. Em função dessas características, há diversidade de biomas, o que favorece e evidencia o potencial de crescimento do setor.

Entre os biomas brasileiros, depois da Amazônia o Cerrado se destaca como a segunda maior formação vegetal e apresenta variedade riquíssima em frutos, alguns de caráter medicinal, alto potencial nutricional e com sabores intrínsecos e inconfundíveis (BELISÁRIO; CONEGLIAN, 2013; FALEIRO et al., 2008).

Diversas espécies frutíferas do Cerrado produzem frutos com excelente potencial nutricional, sensorial e funcionalidades específicas. A maioria desses frutos ainda permanece pouco explorada pela comunidade científica (LIMA et al., 2015), como o murici (*Byrsonia crassifólia*), fruto típico do cerrado que possui elevado valor nutricional, diversas propriedades funcionais (SANNOMYA et al., 2007) e está entre os frutos de maior potencial de exploração sustentável da região. Já vem sendo comercializado in natura e pode ser consumido na forma de sucos, picolés, licores, sorvetes, geleias, entre outros (MURICI, 2010).

O fruto do murici é alimento perecível e é necessário processá-lo para aumentar sua vida útil. Diversos tipos de processos térmicos, como congelamento, concentração por evaporação, escaldado, branqueamento, pasteurização, esterilização, secagem e desidratação (KNOERZER et al., 2016), são utilizados na indústria de alimentos para sua conservação. O conhecimento de algumas propriedades térmicas se faz necessário para o projeto de equipamentos. Entre as propriedades térmicas, destaca-se o calor específico, definido como a quantidade de calor necessária para que a temperatura de uma substância seja elevada em um grau Celsius pela unidade de massa. O calor específico é uma grandeza intrínseca das substâncias, sendo assim, esse parâmetro depende da composição do alimento.

Tendo em vista o potencial do murici para a indústria de processamento de alimentos e a falta de dados que relatem esses valores para frutas da região do Cerrado, fica evidente a importância de pesquisas na área. Por esse motivo, este estudo tem como objetivo determinar experimentalmente o calor específico do murici (*Byrsonima crassifólia*).

## Metodologia

O trabalho experimental desta pesquisa foi realizado nos laboratórios de tecnologia de frutas e hortaliças, operações unitárias e análises de alimentos da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Câmpus Palmas, em parceria com a Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), em Apucarana/PR, no laboratório de pesquisa II.

## Processamento do murici

Os frutos de murici foram adquiridos em feiras locais em Palmas/TO, no estágio de maturação comercial, de 1,5 cm de diâmetro, e foram acondicionados e transportados para o Laboratório de Tecnologia de Frutas e Hortaliças na UFT, Câmpus de Palmas.

Os frutos foram lavados em água corrente para remoção das sujidades superficiais e em seguida despulpados em despulpadeira bonina 0.25 DF. A pasta obtida foi dividida em porções de 500g. Posteriormente prepararam-se amostras com diferentes concentrações de sólidos solúveis a partir da polpa natural (6,67 °Brix). Para a obtenção das concentrações desejadas (10; 20; 40 e 60 °Brix), utilizou-se a adição de sacarose (açúcar refinado).

As amostras foram aquecidas a  $65^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  até a homogeneização completa. Em seguida as polpas foram acondicionadas e colocadas em sacos plásticos de polietileno selados a quente com seladora de pedal. Depois de embaladas, as polpas foram armazenadas sob refrigeração a  $5^{\circ}\text{C}$ , onde permaneceram até o momento da determinação do calor específico.

## Caracterização físico-química do murici

Devido a que não foram encontrados registros de calores específicos para o murici, decidiu-se realizar a caracterização físico-química do fruto e posteriormente compará-la com algumas frutas de composição similar, conforme análises descritas nos itens subsequentes.

Análises físico-químicas foram realizadas para a matéria seca. A secagem foi realizada em estufa a  $70^{\circ}\text{C}$  até peso constante. Uma vez seca, a amostra foi triturada em processador Arno (Magiclean Duetto) até a obtenção de pó.

O murici foi caracterizado considerando-se umidade, proteína, lipídeos, fibra bruta, cinzas, carboidrato, pH e sólidos solúveis totais. As análises foram realizadas seguindo os métodos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) para análise de alimentos.

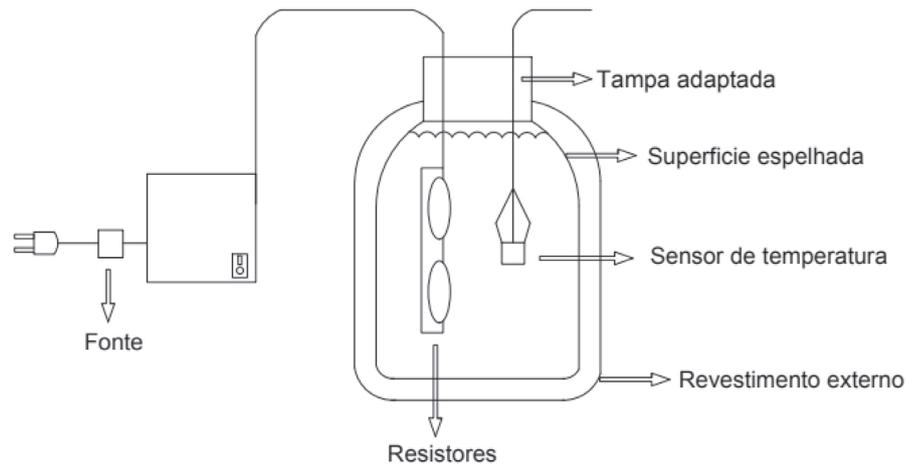
## Construção do calorímetro

Para a determinação experimental do calor específico do murici, foi construído um calorímetro modificando-se uma garrafa térmica de capacidade volumétrica de 250mL. Para a montagem, utilizou-se o método descrito por Almeida (2012), o qual se baseia no Efeito Joule. A energia fornecida ao sistema é proveniente de resistores conectados a uma fonte de energia elétrica. Essa energia é aplicada a um elemento resistivo e convertida em energia térmica.

Com a potência fornecida é possível determinar a quantidade de calor que o sistema recebe por unidade de tempo.

Na tampa da garrafa térmica, foram feitas perfurações para a passagem dos fios de cobre esmaltado conectado aos resistores e ao sensor de temperatura, conforme ilustrado na Figura 1.

**Figura 1.** Esquema do calorímetro

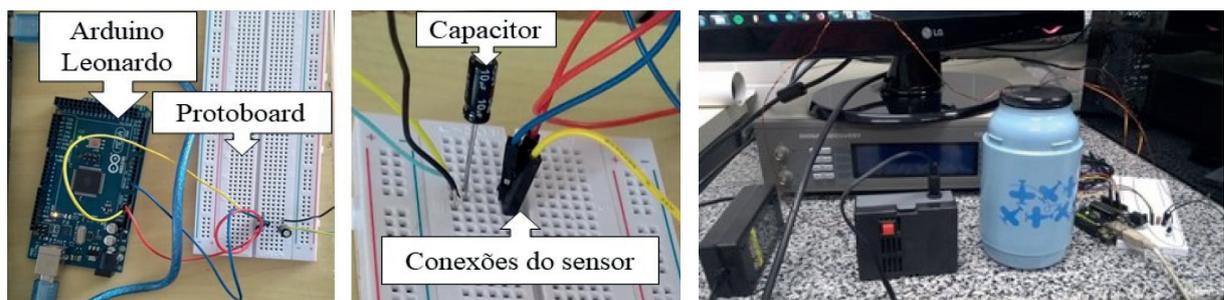


**Fonte:** Elaborado pelo autor.

Foram utilizados dois resistores de  $10\Omega$  conectados em série, alimentados por uma fonte de tensão de 12,3 V. O sensor de temperatura foi um termômetro eletrônico LM 35 DZ isolado com filme de PVC para diminuir a sensibilidade. Esse sensor foi adaptado a uma protoboard (placa de ensaio) conectada a um microcontrolador. O microcontrolador utilizado foi Arduino Leonardo, que controla e monitora as temperaturas utilizando uma linguagem de programação padrão (C/C++). O Arduino Leonardo é executado na plataforma Arduino, que é gratuita e não exige licença para uso.

Na placa protoboard, foi inserido um capacitor de leve capacitância que filtra os picos de leituras naturais do termômetro. Dessa forma foram realizadas leituras e registros de tempo e temperatura durante os experimentos. A Figura 2 ilustra o sistema.

**Figura 2.** Esquema montado para a realização das leituras de temperatura.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

## Determinação da capacidade calorífica do calorímetro

Posteriormente à montagem, determinou-se a capacidade calorífica do calorímetro a fim de verificar a quantidade de calor trocada no seu interior. Uma massa de 100g de água a temperatura ambiente de 28°C foi colocada no interior da garrafa térmica e aguardou-se cerca de 40 minutos para que o sistema entrasse em equilíbrio térmico. Em seguida foram adicionados mais 100g de água a 0,8°C e aguardou-se até que o novo equilíbrio térmico fosse atingido. A capacidade calorífica do calorímetro foi determinada pelo princípio de conservação da energia, em que o balanço está dado por:

$$-Q_{\text{água}} = +Q_{\text{cal}} \quad (1)$$

$$Cp_{\text{cal}} (T_{\text{eq.}} - T_i) = -Cp_{\text{água1}} (T_{\text{eq.}} - T_i) - Cp_{\text{água2}} (T_{\text{eq.}} - T_i) \quad (2)$$

Rearranjando a Equação (2):

$$Cp_{\text{cal}} = \frac{Cp_{\text{água}} (T_{i1} - 2T_{\text{eq.}} + T_{i2})}{(T_{\text{eq.}} - T_i)} \quad (3)$$

Onde:

$Q_{\text{água}}$  = calor fornecido pela água (cal);

$Q_{\text{cal}}$  = calor absorvido pelo calorímetro (cal);

$Cp_{\text{cal}}$  = calor específico do calorímetro (cal/g°C);

$Cp_{\text{água1}}$  = calor específico da água (cal/g°C);

$Cp_{\text{água2}}$  = calor específico da água (cal/g°C);

$T_{\text{eq.}}$  = temperatura de equilíbrio (°C);

$T_i$  = temperatura inicial (°C).

Para o valor do calor específico da água, foi utilizado o valor para água pura de 1 cal/g°C obtido na literatura (SANTOS; ROSA; FERNANDES, 2014).

## Avaliação do calorímetro

Para que o calorímetro fornecesse dados confiáveis, após a determinação de sua capacidade calorífica determinou-se o calor específico de três substâncias conhecidas: água, álcool etílico e acetona. Para as três substâncias se utilizaram massas de 200g colocadas no calorímetro a uma temperatura inicial de 20 °C. Em seguida, a tampa do calorímetro foi fechada e a resistência que fornece calor ao sistema foi acionada. As amostras foram aquecidas a uma taxa constante de 1 °C/s até atingir os respectivos pontos de ebulição. O calor específico foi determinado através do balanço de energia descrito a seguir para o murici.

## Determinação do calor específico do murici

Para a determinação do calor específico do murici foram utilizadas entre 170g a 206g de polpa a  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . A polpa foi colocada no interior do calorímetro aguardando-se cerca de cinco minutos para adaptação da polpa ao meio. A tampa do calorímetro foi fechada e em seguida a fonte de energia foi ligada dando início ao experimento. Cada experimento durou em torno de 1h40min e as amostras foram aquecidas a uma taxa constante de  $1^{\circ}\text{C/s}$  até que a temperatura no interior do calorímetro fosse igual a  $80^{\circ}\text{C}$  (temperatura em que a polpa começa a mudar de fase). O experimento foi repetido para cada concentração.

O calor específico do murici foi determinado pela lei da conservação de energia.

$$Q_{res} = Q_{cal} + Q_{am}. \quad (4)$$

Onde:

$Q_{res}$  = é o calor gerado pela corrente que percorre a resistência elétrica em determinado tempo;

$$Q_{res} = R \int_{t_1}^{t_2} I^2 dt \quad (5)$$

$R$  = resistência elétrica do condutor, em  $\Omega$ ;

$I$  = Intensidade da corrente elétrica que percorre o condutor com resistência  $R$ , em A;

$t$  = tempo em segundos;

Pela lei de Ohm:

$$IR = V \quad (6)$$

$V$  = diferença de potencial elétrico, em volts (V);

$$Q_{res} = \frac{V^2}{R} (t_2 - t_1) \quad (7)$$

Para o calorímetro:

$Q_{cal}$  = é o calor absorvido pelo calorímetro,

$$Q_{cal} = Cp_{cal} \int_{T_1}^{T_2} dT \quad (8)$$

Integrando a equação (8):

$$Cp_{cal}(T_2 - T_1) \quad (9)$$

Para a amostra:

$Q_{am}$  = é o calor ganho pela amostra na faixa de temperatura, sem atingir a mudança de fase (calor sensível):

$$Q_{am.} = Cp_{am.} \int_{T_1}^{T_2} dT \quad (10)$$

Integrando a equação (13):

$$Q_{am.} = Cp_{am.}(T_2 - T_1) \quad (11)$$

$Cp_{am}$  = capacidade calorífica da amostra, a pressão constante, em cal/°C;

Rearranjando a equação linear (5):

$$Q_{res} - Q_{cal} = Q_{am.} \quad (12)$$

Substituindo as equações (7), (9) e (11) na equação (12), tem-se:

$$\underbrace{\frac{V^2}{R}(t_2 - t_1) - Cp_{cal}(T_2 - T_1)}_Y = \underbrace{Cp_{am.}}_M \underbrace{(T_2 - T_1)}_X \quad (13)$$

A quantidade de calor absorvida pela amostra é a diferença entre a energia total fornecida ao sistema e a absorvida pelo calorímetro. Com esses dados realizou-se uma regressão linear do calor absorvido pela amostra por unidade de massa (Y) e em função da diferença temperatura (X), e o calor específico é o coeficiente angular da reta (M).

## Resultados e discussão

### Caracterização físico-química do murici

A caracterização do murici foi realizada considerando os teores de umidade, carboidratos, proteínas, lipídeos, cinzas e fibra bruta, conforme apresentado na Tabela 1. Os dados da Tabela 1 mostram que o teor de umidade do murici com 6,67 °Brix foi de 86,72%, sendo esse valor superior ao encontrado por Silva et al., (2008) que relatam um teor de umidade de 80,64%.

**Tabela 1.** Composição centesimal dos frutos de murici.

Componentes (g/100g)	(%)
Umidade	86,72 ± 2,36
Proteína	0,50 ± 0,02
Fibra bruta	3,94 ± 0,23
Lipídeos	3,00 ± 0,06
Cinzas	0,19 ± 0,04
Carboidratos	5,62 ± 0,30
pH	3,75 ± 0,05
Sólidos solúveis	6,67 ± 0,03

**Fonte:** Elaborado pelo autor.

Com relação ao teor de lipídeos e proteínas, foram encontrados percentuais de 3,0% e 0,50%, respectivamente, sendo o primeiro próximo ao relatado em pesquisa por Guimarães (2007) ao analisar murici in natura.

O teor de fibras apresentado pelo murici foi de 3,9%, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 1996) especifica que para murici o teor de fibra encontrado foi de 2,20%. O conteúdo de cinzas foi de 0,19%, valor inferior ao relatado por Monteiro et al., (2015), para quem o conteúdo de cinzas no murici é de 0,69%.

O valor encontrado para a análise de pH foi de 3,75%. O teor de sólidos solúveis totais (°Brix) é importante fator de qualidade quanto ao sabor e grau de doçura. Menezes et al., (2001) afirmaram que desde o ponto de vista comercial é bastante desejável que o conteúdo médio de sólidos solúveis totais seja superior a 9%; desse modo, o valor encontrado durante a realização desta pesquisa está abaixo do desejável (6,67%).

Essas variações na composição do fruto de murici podem ser compreendidas se fatores como variedade, época de colheita e grau de maturação forem levados em consideração.

A composição centesimal encontrada experimentalmente para o murici é parecida com a de frutas como ameixa, figo e umbu (TACO, 2011), as quais serão usadas para posterior comparação do calor específico do fruto.

## Capacidade calorífica do calorímetro

Pela lei da conservação da energia, pode-se afirmar que, quando a água entra em equilíbrio térmico com o calorímetro, a quantidade de calor cedida pela água é igual à quantidade absorvida pelo calorímetro. Portanto, substituindo os valores obtidos experimentalmente na Equação (4), temos:

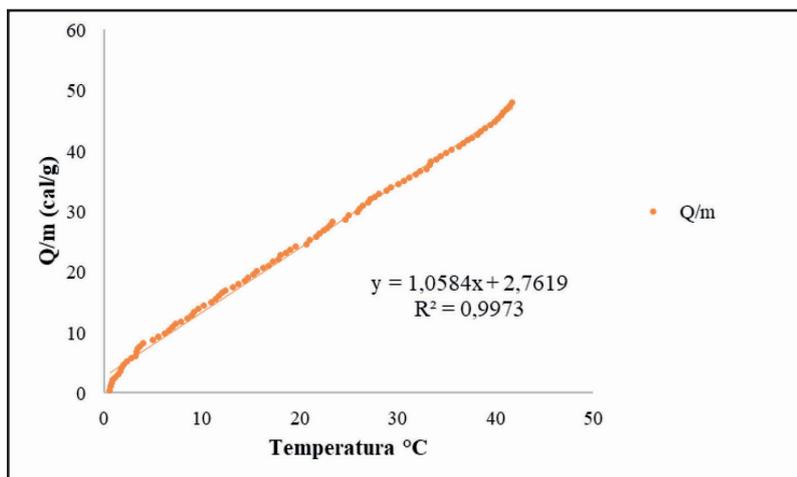
$$Cp_{cal} = \frac{(1 \frac{cal}{g^{\circ}C} (28 - 2 * 16,3 + 0,8)^{\circ}C)}{((16,3 - 28,3)^{\circ}C)}$$

$$Cp_{cal} = 0,3167 \frac{cal}{g^{\circ}C}$$

### Validação do calorímetro

Conhecida a capacidade calorífica do calorímetro, foi possível validar o método determinando o calor específico da água utilizando a Equação (13). A quantidade de calor absorvida pela amostra é a diferença entre a energia total fornecida ao sistema e a absorvida pelo calorímetro. A Figura 3 mostra a quantidade de calor por unidade de massa de água em função da temperatura.

**Figura 3.** Quantidade de calor por unidade de massa em função da temperatura.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A relação  $Q/m$  vs.  $T$  é descrita por um ajuste linear em que o calor específico da água equivale ao coeficiente angular da reta,  $1,058 \text{ cal/g}^\circ\text{C}$ . O resultado é muito próximo ao encontrado por Almeida (2012), que encontrou o valor de  $1,04 \text{ cal/g}^\circ\text{C}$  ao determinar o calor específico da água utilizando o mesmo método descrito neste trabalho, indicando, portanto, a eficiência do método e do sistema desenvolvido.

Com o objetivo de melhorar a confiabilidade dos dados também foram determinados os calores específicos de duas substâncias mais: álcool etílico e acetona. Os resultados para ambas as substâncias são apresentados na Tabela 2. Os cálculos foram realizados da mesma forma que para a água.

**Tabela 2.** Calor específico para álcool etílico e acetona.

Substâncias	Calor específico experimental	Calor específico da literatura	Erro (%)
Acetona	0,58 $\text{cal/g}^\circ\text{C}$	0,51 $\text{cal/g}^\circ\text{C}$	7
Álcool etílico	0,66 $\text{cal/g}^\circ\text{C}$	0,65 $\text{cal/g}^\circ\text{C}$	1

Fonte: Elaborado pelo autor.

Ambos apresentaram valores condizentes com a literatura:  $0,51 \text{ cal/g}^\circ\text{C}$  para acetona e  $0,65 \text{ cal/g}^\circ\text{C}$  para o álcool etílico (SANTOS; ROSA; FERNANDES, 2014). Para o calor específico da acetona, encontrou-se um erro experimental de 7 %; e para o calor específico do álcool etílico,

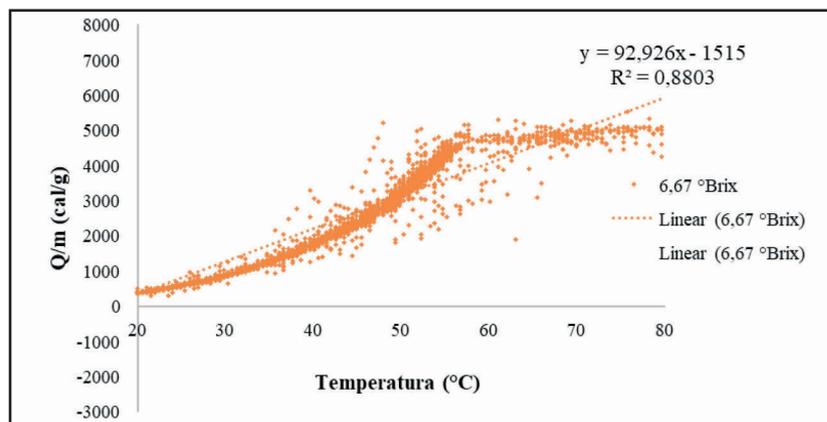
foi encontrado um erro experimental de 1%. Com esses percentuais de erro experimental é possível observar a eficiência do calorímetro.

O calorímetro construído forneceu medidas aproximadas às encontradas na literatura com erro máximo de 7% nos cálculos, podendo ser considerado um método eficiente para líquidos. Neste ponto, o equipamento está pronto para determinar o calor específico do murici.

### Calor específico do murici

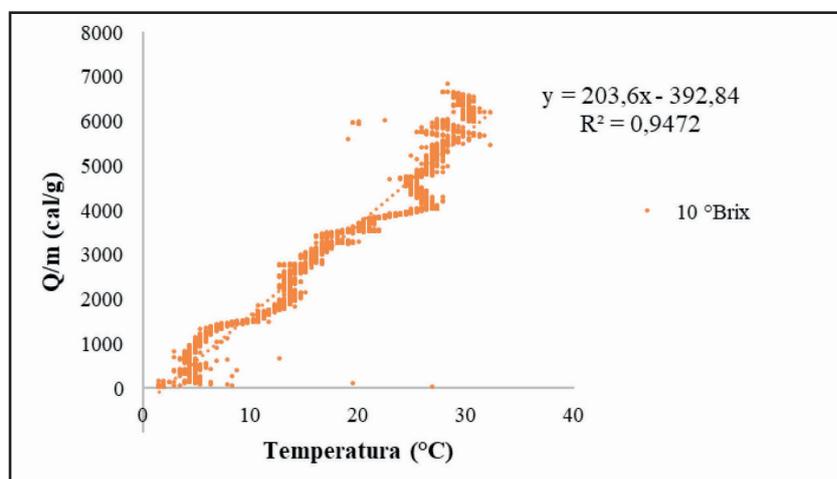
O calor específico ( $C_p$ ) das amostras de murici para as diferentes concentrações de sólidos em função da temperatura está ilustrado da Figura 4 à Figura 8. Assim como para a determinação do calor específico de água, acetona e etanol, também foi realizada regressão linear de ( $Q/m$ ) vs.  $T$ , em que o coeficiente angular da reta corresponde ao calor específico da substância analisada.

**Figura 4.** Quantidade de calor por unidade de massa em função da temperatura para o murici a 6,67°Brix.



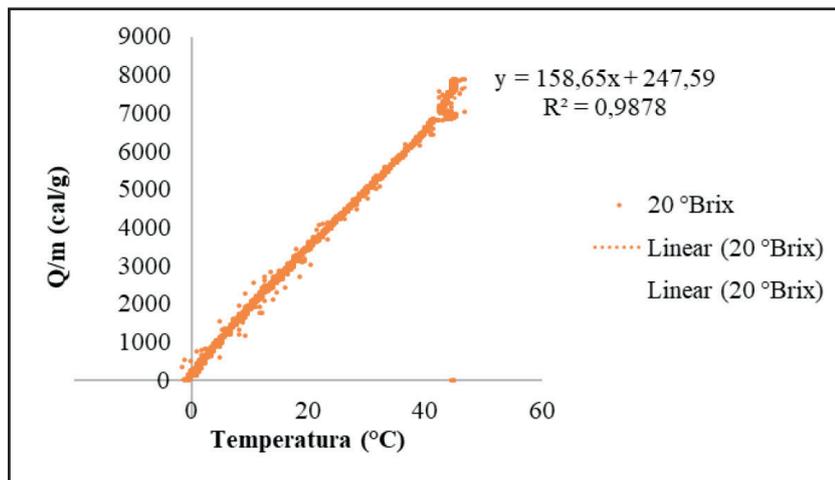
Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 5.** Quantidade de calor por unidade de massa em função da temperatura para murici a 10°Brix.



Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 6.** Quantidade de calor por unidade de massa em função da temperatura para murici a 20°Brix.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

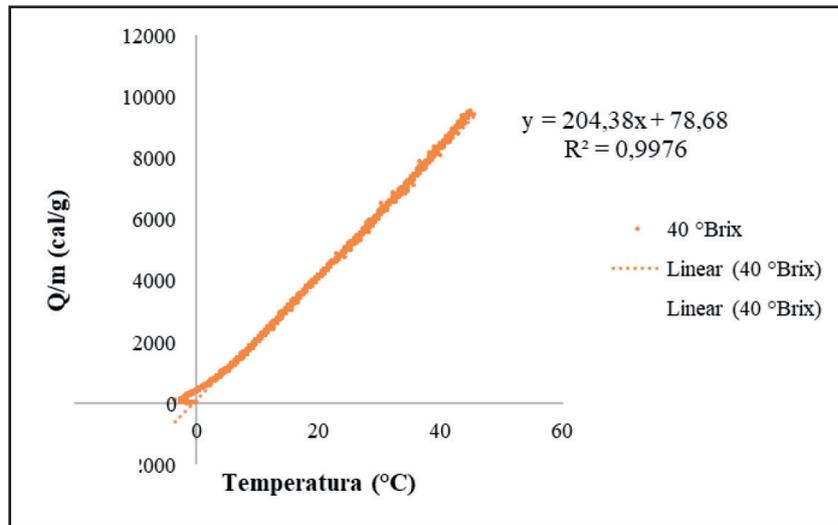
Na Figura 4, nota-se que a polpa de murici com a concentração natural da fruta não é claramente linear, porém realizou-se um ajuste a fim de determinar o calor específico da polpa do murici a 6,67°Brix através do coeficiente angular da região linear. As medidas foram tomadas na faixa de 20 a 80°C de temperatura. O valor obtido para a polpa de murici nessa concentração foi de 0,546 cal/g°C. Da Figura 4 é possível inferir que a partir dos 60 °C de temperatura há uma mudança física na estrutura do murici, provavelmente começa a mudança de fase. A partir daqui os próximos experimentos foram realizados em faixas de temperaturas menores, entre 20 e 60 °C.

O comportamento da quantidade de calor por unidade de massa de polpa de murici em função da temperatura para a concentração de 10 °Brix encontra-se na Figura 5. Observando as informações obtidas, é possível notar que o comportamento nessa concentração também não é linearmente bem definido, pois deve ter ocorrido um erro experimental para o qual será necessário realizar mais experimentos que indiquem onde o problema. Foi realizado o ajuste linear e determinou-se o calor específico com um valor de 0,916 cal/g°C para uma faixa de temperaturas entre 20 e 40°C. Em relação à concentração natural da polpa de murici, foi observado um aumento do calor específico como aumento da concentração.

De acordo com a Figura 6, para a concentração de 20 °Brix, o comportamento da quantidade de calor por unidade de massa em função da temperatura apresentou comportamento linear, semelhante ao encontrado para os líquidos puros avaliados. O calor específico para a concentração de 20 °Brix foi de 1,202 cal/g°C para uma faixa de temperatura de 20 a 60 °C. O calor específico também sofreu influência positiva do aumento da concentração de sólidos solúveis.

Para a concentração de 40 °Brix (Figura 7), o calor específico foi de 1,087 cal/g°C. Para essa amostra, observou-se que o valor de calor específico teve redução em relação à concentração de 20 °Brix para uma faixa de temperatura de 20 a 50°C. Essa Figura 7 apresentou um comportamento linear bem definido, conforme o esperado pela teoria para uma substância líquida pura.

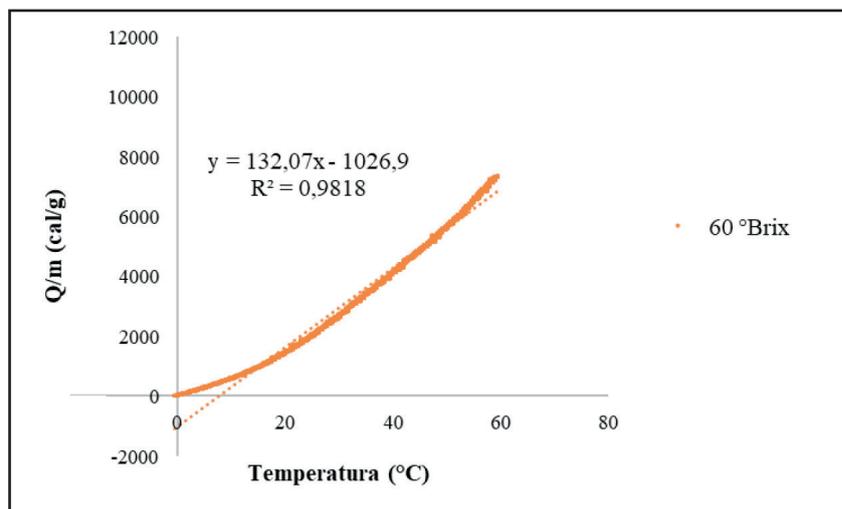
**Figura 7.** Quantidade de calor por unidade de massa em função da temperatura para murici a 40°Brix.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Observando a Figura 8, o valor de calor específico para a concentração de 60 °Brix foi igual a 0,641 cal/g°C para uma faixa de temperatura de 20 a 60°C. Para essa amostra, nota-se que o calor específico foi menor que da concentração de 40 °Brix. A amostra também obedeceu a um comportamento linear.

**Figura 8.** Quantidade de calor por unidade de massa em função da temperatura para murici a 60°Brix.



Fonte: Elaborado pelo autor.

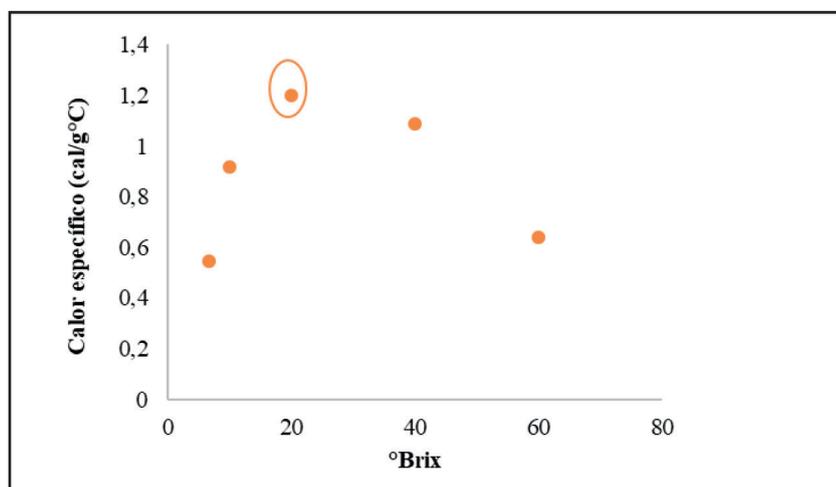
Com os resultados obtidos é possível constatar que o calor específico sofre variação em função da concentração de sólidos solúveis e da variação de temperatura. O máximo calor específico foi registrado para a amostra com teor de sólidos solúveis de 20°Brix.

É possível encontrar na literatura muitos outros estudos de determinação de propriedades físicas com outras frutas que variam, além da temperatura, a concentração

de sólidos solúveis totais, a composição química e a textura do material (SOUZA, 2008). A ameixa, o figo e o umbu são frutas de composição centesimal semelhante à encontrada para o murici neste trabalho. O calor específico encontrado para umbu foi de 0,875 cal/g°C (SOUZA, 2008). Para ameixa e figo os valores de calor específicos foram de 0,88 cal/g°C e 0,92 cal/g°C, respectivamente (ASHAE, 1981). Esses valores de calores específicos foram determinados para temperaturas acima do ponto de congelamento, assim como neste trabalho.

A Figura 9 mostra o gráfico do calor específico em função da concentração expressa como °Brix para todas as amostras. Houve aumento do calor específico para as concentrações até 20°Brix e posteriormente ocorreu decréscimo dos valores de calor específico para as maiores concentrações. Já que não foi encontrada uma tendência claramente marcada, pode-se sugerir que há erros de experimentação envolvidos, dado que as diferentes concentrações analisadas foram preparadas por adição de açúcar e é possível que as amostras não estivessem completamente homogêneas no momento de realizar o experimento, podendo haver aglomerados de sacarose caramelizados na superfície do sensor de temperatura interferindo nas medidas. Também é possível que o equipamento desenvolvido seja preciso unicamente para substâncias líquidas e não para amostras semissólidas, pois elas não são completamente homogêneas e o calor fornecido ao sistema pode estar se dissipando com gradientes de temperaturas radiais que levam a leituras errôneas. Para comprovar essas teorias, será necessário realizar experimentos adicionais com outras substâncias semissólidas ou substituir o sensor de temperaturas por algum outro revestido com material cerâmico que evite incrustações na sua superfície.

**Figura 9.** Calor específico do murici em relação à concentração em °Brix.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

Resumindo, as medidas foram ajustadas para cada amostra e cada uma apresentou uma faixa de temperaturas de aplicação diferente para que o método funcionasse. Os valores das concentrações de 40 e 60 °Brix podem ter sofrido interferência devido à alta aderência da polpa ao sensor de temperatura durante o experimento, o que provocou acúmulo do material e seu enrijecimento, permitindo, assim, leitura equivocada. A eficiência do método para meios líquidos como a água, álcool etílico e acetona é evidente; no entanto são sugeridos mais testes para meios semissólidos como é o caso do murici.

Para melhor desempenho do método, pode ser sugerido o desenvolvimento de um isolamento para o sensor de temperatura e para as resistências a fim de evitar que as amostras analisadas adiram à superfície e as leituras sejam do material incrustado-solidificado e não da polpa em si.

Concluindo, vimos que os resultados da montagem e determinação da capacidade calorífica do calorímetro foram satisfatórios. Foi possível elaborar e construir um calorímetro simples com uma garrafa térmica e posteriormente determinar sua capacidade calorífica, a qual foi utilizada para os demais cálculos. O calorímetro foi utilizado para a determinação de calor específico de líquidos conhecidos: água, acetona e álcool etílico, obtendo-se valores com erros inferiores a 7 %.

Para a determinação do calor específico do murici, observou-se que esse fruto sofre influência da concentração de sólidos solúveis e apresenta comportamento variado frente às diferentes concentrações. Os valores encontrados para a polpa natural da fruta se aproximam dos encontrados para frutas como ameixa, figo e umbu. Com relação às demais concentrações, os valores podem ter sido influenciados pela alta aderência do fruto que pode ter se incrustado na superfície do sensor de temperatura e das resistências causando, assim, algum tipo de interferência nas medidas.

## Referências

ALMEIDA, D. S. **Determinação experimental do calor específico de matéria mole (soft matter)**. 2012. 35f. TCC (Graduação) - Curso de Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, 2012.

ASHRAE. 1981. *ASHRAE Handbook—Fundamentals*. Atlanta, Georgia: American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers.

BELISÁRIO, C. M.; CONEGLIAN, R. C. C. Qualidade de frutos de murici (*Byrsonima crassifolia*, Malpighiaceae) armazenados sob refrigeração. **Gl. Sci Technol**, Rio Verde, v. 2, n. 6, p.95-101, 2013.

FALEIRO, F. G.; GAMA, L. C.; FARIAS-NETO, A. L.; SOUSA, E. S. O simpósio nacional sobre o cerrado e o simpósio internacional sobre savanas. In: FALEIRO, F. G.; FARIAS-NETO, A. L. (Ed.). *Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais*. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. p. 32-46.

GUIMARÃES, M. M. **Utilização de frutos de murici-passa no processamento e qualidade nutricional de barras de cereais**. 2007. 68 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Estudo nacional de despesa familiar. Tabelas de composição de alimentos. 4. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 1996. 137p.

KNOERZER, K.; JULIANO, P.; SMITHERS, G. W. *Innovative Food Processing Technologies: Extraction, Separation, Component. Modification and Process Intensification*. First Edition. Abington, England: Woodhead Publishing Elsevier, 2016.

KNOERZER, K.; JULIANO, P.; ROUPAS, P.; VERSTEEG, C. Innovative Food Processing Technologies: Advances in Multiphysics Simulation. First Edition. San Francisco, USA: John Wiley & Sons, 2011.

LIMA, J. P.; RODRIGUES, L. F.; MONTEIRO, A. G. D. P.; VILAS BOAS, E. V. B. Climacteric pattern of mangaba fruit (*Hancorniaspeciosa* Gomes) and its responses to temperature. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 197, n. 2, p.399-403, 2015.

LUTZ, I. A. Métodos físico-químico para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

MENEZES, J. B. et al. Armazenamento de dois genótipos de melão amarelo sob condições ambiente. **Horticultura Brasileira**, v. 19, n.1, p.42-49, março. 2001.

MONTEIRO, D. C. B. et al. **Caracterização Físico-química do Fruto e da Geleia de Murici (*Brysonima crassifolia*)**. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.11 n. 21, p.3356. 2015.

MURICI. 2010. Disponível em: <[www.sindfrutas.com.br](http://www.sindfrutas.com.br)>. Acesso em: 23 fev. 2018.

OETTERER, M; REGITANO-D´ARCE, M. A. B; SPOTO, M H. F. Fundamentos de ciência e tecnologias de alimentos. Barueri: Manole Ltda, 2006. 612p.

SANTOS, José A. L.; ROSA, M. de F. C.; F., M. C. S. TABELAS. 2014. Disponível em: <[https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/downloadFile/845043405428630/TABELAS\\_2014.pdf](https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/downloadFile/845043405428630/TABELAS_2014.pdf)>. Acesso em: 28 maio 2018.

SANNOMIYA, M.; CARDOSO, C. R. P.; FIGUEIREDO, M. E.; RODRIGUES, C. M.; SANTOS, L. C.; SANTOS, F. V.; SERPELONI, J. M.; CÓLUS, I. M. S.; VILEGAS, W.; VARANDA, E. A. Mutagenic evaluation and chemical investigation of *Byrsonima intermedia* A. Juss. Leaf extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, São Paulo, v. 112, n. 2, p.319-326, 2007.

SEBRAE. 2016. Disponível em: <[www.sebraemercados.com.br/fruticultura](http://www.sebraemercados.com.br/fruticultura)>. Acesso em: 31 mar. 2018.;

SILVA, M. R. I.; LACERDA, D. B. C. L.; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 6, p.1790-1793. set. 2008.

SOUZA, M. A. **Determinação das propriedades termofísicas de polpas de frutas tropicais: jaca (*Artocarpus Heterophilus Lamk*) e umbu (*Spondias Tuberosa Arr. Cam.*)**. 2008. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Uesb, Itapetinga- Ba, 2008.

TACO. Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP.- 4. ed.rev. e ampl.. -- Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p.

# 2

## CONTROLE DE QUALIDADE E SEGURANÇA ALIMENTAR

### Capítulo 1: Controle biológico de aflatoxinas em amendoim

Mirelle Ribeiro Araujo  
Geovanka Marcelle Aguiar Leão  
Juliana Fonseca Moreira da Silva

O amendoim (*Arachis hypogae* L.) é originário da América do Sul, uma planta dicotiledônea, herbácea, ramificada, de porte ereto ou rasteiro pertence à família *Fabacea* (*Leguminosae*), subfamília *Papilonoideae*, gênero *Arachis*, a quarta oleaginosa mais cultivada no mundo.

O Brasil colheu em torno de 433,4 toneladas de amendoim em grãos, na safra 2016/2017, o que corresponde a um aumento de 6.7% comparado com a safra anterior (SNA, 2017). A região Sudeste do Brasil é a maior produtora, destacando-se o estado de São Paulo, que responde por 90% da produção nacional. Estima-se que cerca de 80% da produção destina-se à exportação para a Europa e o restante para o consumo interno, principalmente na forma de doces (IBGE, 2016; SNA, 2017).

As aflatoxinas são um dos principais problemas associados à produção de amendoim, pois podem comprometer a qualidade do grão e depreciam seu valor comercial. Elas são metabolitos secundários tóxicos produzidos pelos fungos pertencentes ao gênero *Aspergillus*, especialmente por *A. flavus*, *A. parasiticus*, e *A. nomius* (KENSLE et al., 2011). Devido à natureza altamente tóxica das aflatoxinas, sua contaminação em produtos alimentares é rigorosamente controlada com um limite máximo permitido para diferentes alimentos em todo o mundo. No Brasil, a RDC n°. 07 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Anvisa/MS) estabeleceu 20 mg kg<sup>-1</sup> como o limite máximo permitido para a aflatoxina total (ANVISA, 2011).

Segundo Pereira 2017, micotoxicologia é a área que estuda a produção de micotoxinas por fungos filamentosos. Programas de controle e monitoramento são importantes e devem ser mantidos tanto para as matérias-primas como para os produtos acabados, visando à obtenção de um produto de qualidade, pois várias micotoxinas exercem seus efeitos de diferentes formas e sua toxicidade varia em função de suas características.

A contaminação de um alimento por parte dos fungos depende de muitos aspectos, como a atividade de água, oxigênio, temperatura, tipo de substrato e pressão osmótica. A formação de micotoxinas pode começar antes ou depois da colheita e durante o armazenamento. A identificação das micotoxinas e respectiva avaliação quantitativa requer preparação das amostras, utilização de métodos de extração e técnicas de análise quantitativa (PEREIRA, 2017).

Em climas tropicais e subtropicais, como no Brasil, o desenvolvimento de fungos produtores de micotoxinas é favorecido, pois há inúmeros alimentos passíveis de contaminação, principalmente grãos amplamente utilizados na fabricação de rações para diversas espécies animais (OSWALD 2018; MINAFRA, et al., 2018).

Os que apresentam maior risco de contaminação por fungos são o amendoim, o milho e sementes de algodão. No Brasil, a maior incidência de contaminação tem sido descrita em milho e amendoim em grãos, alimentos destinados ao consumo humano e a outros animais (IMMAMURA et al., 2014).

A intoxicação por aflatoxinas é conhecida como aflatoxicose e pode ser aguda ou crônica. A síndrome tóxica aguda caracteriza-se por perda de apetite, febre baixa, depressão, hepatite aguda, icterícia, hemorragias e necrose; já a aflatoxicose crônica em seres humanos está associada ao carcinoma hepatocelular, efeito causado pela ingestão de baixas doses de aflatoxinas por um período prolongado (PRADO, 2014).

As aflatoxinas são metabólitos extremamente tóxicos e entre eles a aflatoxina B1 é considerado o mais tóxico, classificado pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC, 1993) como pertencente à classe 1, composto carcinogênico responsável pela aflatoxicose crônica. (FUNG, 2016).

Como é alarmante a preocupação relacionada à contaminação com aflatoxina, principalmente para amendoim brasileiro, novos estudos colaboram para a avaliação de métodos confiáveis para a detecção dessa contaminação (MARTINS et al., 2017).

O gênero *Aspergillus* sp. é patógeno de plantas que infectam culturas agrícolas (milho, algodão, amendoim e nozes) e produtor de aflatoxinas (YU E CLEVELAND, 2004; KENSLER et al., 2011). A toxina é considerada potencial ameaça biológica pela OMS e também é um conhecido agente cancerígeno. A espécie de *A. parasiticus* é predominante na América do Sul e produtor das principais aflatoxinas (GREAVES, et al., 2010).

A contaminação de alimentos por essa micotoxina é uma preocupação mundial tendo em vista suas propriedades toxicológicas. Existem mais de 20 aflatoxinas conhecidas, porém as quatro principais são AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2, sendo a AFB1 a de maior importância por sua atividade carcinogênica (DOMINGUES, 2015) e comumente identificada a partir de amostras de amendoim (PITT E HOCKING, 2009).

As aflatoxinas foram identificadas pela primeira vez como o agente causador de uma doença aguda e fatal em perus, chamada Doença X dos Perus. Um surto dessa doença ocorreu na Inglaterra em 1960 e afetou mais de 100 mil aves que foram alimentadas com farinha de amendoim proveniente do Brasil (HASCHEK; KENNETH, 2013).

Temperatura elevada e estresse hídrico são os fatores predominantes que condicionam a suscetibilidade do amendoim à contaminação por aflatoxinas. (PAYNE, 2016). Diante disso, os fungos produzem durante a esporulação micotoxinas e contaminam os alimentos e consequentemente os animais que os consomem (MARTINS et al., 2017).

## Métodos de controle

O controle biológico consiste no uso de organismos vivos para o manejo de pragas e doenças em população específica. O foco do controle biológico é controlar as enfermidades no campo, sejam doenças, pragas ou insetos vetores, baseando-se no estudo da relação entre os seres vivos no meio ambiente. Esses inimigos naturais são originados de vários tipos de seres, como insetos predadores e parasitoides, microrganismos como fungos, vírus e bactérias, específicos para determinadas enfermidades. O uso desse tipo de controle se torna aliado do ser humano, pois contribui para a melhoria da qualidade do produto agrícola e não deixa resíduos nos alimentos, além de ser inofensivo ao meio ambiente (EMBRAPA, 2008).

## Controle a base de microrganismos

### Probióticos

O termo probiótico origina-se do grego e significa “para a vida”; embora essa definição tenha origem nos anos 1990, o interesse por microrganismos potencialmente benéficos à saúde é de tempos antigos. A expressão probiótico foi inicialmente utilizada por Lilly e Stillwell, em 1965, e vem ganhando muitas denominações conceituais, no entanto a definição aceita é que os “Probióticos são microrganismos vivos que, se consumidos de maneira correta, trazem benefícios à saúde do consumidor” (RAIZEL et al., 2011).

Os probióticos possuem vários mecanismos de ação descritos, por exemplo, antagonismo pela produção de substâncias que inibem o crescimento ou eliminam o microrganismo patogênico, inibição da produção ou da ação de toxinas microbianas, competição por sítio de adesão ou fonte nutricional, imunomodulação do hospedeiro, que a resistência à infecção com o microrganismo patogênico, entre outros (CHONG, 2014; AMBALAM et al., 2016).

Os microrganismos mais comumente utilizados como probióticos são bactérias e leveduras, mas diferenciam-se nos mecanismos de ação, metabolismo e resistência aos antibióticos (NOGUEIRA; GONÇALVES, 2011). Basicamente, um gênero de levedura e quatro gêneros bacterianos são a base para a maioria dos probióticos: *Saccharomyces* (levedura), *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* e *Escherichia* (bactérias) (MORAIS; JACOB, 2006).

Silva et al (2015a) conseguiram reduzir significativamente a esporulação e a produção de micotoxinas do *Aspergillus parasiticus* utilizando microrganismos probióticos.

Gerbaldo et al. 2012 avaliaram as atividades antifúngicas e a redução da aflatoxina B1 promovida por duas espécies de *Lactobacillus* em *Aspergillus* aflatoxigênicos, sugerindo que os mecanismos de ação pudessem ser explicados pela degradação da aflatoxina por enzimas produzidas pelos *Lactobacillus*, por competição por nutrientes e espaço ou pela absorção de aflatoxina na parede celular dos *Lactobacillus*.

Estudo realizado em condições laboratoriais por Prado et al. (2011) permitiu verificar a eficiência da levedura *S. cerevisiae* em reduzir a produção de aflatoxinas.

Sendo assim, esta revisão propõe uma nova aplicação desses microrganismos que, além da atividade probiótica, poderão ser utilizados como agentes de controle da produção de aflatoxinas. Esses microrganismos são encontrados comercialmente na forma liofilizada, o que facilitaria seu uso no controle das micotoxinas.

## Microrganismos endofíticos

Os microrganismos endofíticos incluem principalmente fungos e bactérias que vivem no interior das plantas, habitando de modo geral suas partes aéreas, como folhas e caules, sem causar aparentemente nenhum dano a seus hospedeiros (AZEVEDO, 1998; PEIXOTO NETO, et al 2002; PEIXOTO NETO, et al 2004; ASSUMPÇÃO et al., 2009). Isso os diferencia dos microrganismos fitopatogênicos, que são prejudiciais às plantas e causam-lhes doenças. Eles são também distintos dos microrganismos epifíticos, que vivem na superfície dos órgãos e tecidos vegetais (AZEVEDO, 1998; SOUZA et al., 2004).

Microrganismos endofíticos possuem funções importantes para seus hospedeiros, pois apresentam interações simbióticas com o mesmo e são capazes de proteger as plantas do ataque de insetos, de doenças e do ataque de mamíferos herbívoros por meio da produção de toxinas (AZEVEDO, 1998; AZEVEDO, 1999; AZEVEDO et al., 2000; PEIXOTO NETO; et al. 2002).

Os microrganismos endofíticos produzem metabólitos secundários que possuem atividade biológica similar à atribuída à planta que colonizam (ROSA, 2003; PINTO et al., 2011). São conhecidos por produzirem substâncias de grande relevância, capazes de inibir ou matar uma variedade de agentes causadores de doenças (DEMAIN, 1999). Essas substâncias podem ser altamente tóxicas, como as micotoxinas, ou bastante úteis, por serem utilizadas como fármacos para tratamento de várias patologias.

Soares et al. (2015) utilizaram fungos endofíticos associados à *Costus spiralis* produtores de compostos voláteis com atividade antimicrobiana para avaliar seu potencial contra as bactérias de importância médica *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae*, que são as causas mais comuns de pneumonia bacteriana.

Em 2012, Pimenta et al. obtiveram resultados contra o patógeno *M. fructicola* e *C. gloeosporioides* trabalhando com fungos endofíticos isolados de ameixa e descrevendo o efeito de compostos voláteis e difusíveis sobre esses fitopatógenos.

Santos e Varavallo (2011) apresentaram um panorama sobre potenciais aplicações de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico em que mostram que o taxol é um poderoso anticancerígeno e que pode ser obtido de diferentes gêneros de fungos endofíticos.

Estratégias que permitam a utilização de metabólitos secundários produzidos por microrganismos endofíticos nas sementes ou plântulas de amendoim talvez possam atuar como forma de prevenção da infecção do amendoim com os fungos micotoxigênicos.

## Controle à base de substâncias “GRAS”

### Quitosana

A quitosana é um polímero linear que pode ser obtido pela desacetilação parcial da quitina, que é composta por cadeias de polissacarídeos de glucosamina e N-acetilglucosamina e possui grupos amino livres que podem interagir com outras moléculas biológicas. A quitosana é um polímero catiônico sensível ao pH e pode ser moldado em várias formas, incluindo grânulos, hidrogéis, nanofibras ou nanopartículas. Como hidrogel, a quitosana tem propriedades superiores de absorção de água, o que a torna valiosa como hidratante. A quitosana tem grande valor na cicatrização de feridas, pois é excelente material formador de

filme naturalmente bioadesivo. Além disso, a quitosana tem efeito antioxidante e de inibição da metaloproteinase. Outro atributo é sua ampla atividade antimicrobiana que inclui bactérias, fungos e leveduras (DRAELOS, 2016).

Na indústria alimentícia, a quitosana oferece amplo espectro de aplicação, pois as maiores perdas são provenientes de contaminações microbiológicas. A quitosana tem sido descrita como potencial conservante de alimentos principalmente devido à sua atividade antimicrobiana contra grande variedade de fungos filamentosos, leveduras e bactérias (FAI et al., 2008; SILVA et al., 2015b).

Os mecanismos de atividade antimicrobiana da quitosana não foram ainda bem elucidados e há várias hipóteses sobre eles. A mais provável é a mudança na permeabilidade celular devido a interações entre cargas positivas das moléculas de quitosana e cargas negativas das membranas das células microbianas. Essa interação leva à quebra de constituintes proteicos e outros componentes intracelulares (FAI et al., 2008; SILVA et al., 2015b).

Os maiores problemas relacionados a perdas em pós-colheita de alimentos dizem respeito à degradação por fitopatógenos, alteração fisiológica e injúrias físicas. Um tratamento que pode ampliar o tempo de armazenamento desses produtos é a aplicação de filmes comestíveis na superfície, seguido de armazenamento a baixa temperatura. Os filmes representam uma barreira para reduzir os processos de respiração e transpiração pela superfície do vegetal. Com isso dificultam o crescimento microbiano, mudanças de cor e outras características de interesse (SÉBASTIEN et al., 2006).

A utilização de quitosana associada ao ácido acético para a formação de um biofilme comestível utilizada em massa de pizza foi capaz de reduzir o crescimento de fungos como *Alternaria* sp., *Penicillium* sp. e *Cladosporium* sp., aumentando dessa maneira sua vida de prateleira (RODRIGUEZ et al., 2003).

Em 2015, Silva et al desenvolveram um biofilme de quitosana, aplicaram-no em amendoim e obtiveram redução na concentração de esporos e aflatoxinas produzidas pelo *A. parasiticus*.

A necessidade de impedir a produção de aflatoxinas em alimentos tornou-se importante, especialmente para grãos como o amendoim, e considerando as características da quitosana, como biocompatibilidade, maleabilidade, biodegradabilidade e perfil atóxico, conferem a essa substância grande perspectiva de utilização no controle de fungos aflatoxigênicos.

## Referências

- ALVES, L. de S. Desempenho agrônomo do Amendoim cv. BR1 submetido a diferentes níveis de salinidade sem e com aplicação de biofertilizante. Universidade Estadual da Paraíba – Catolé do Rocha; 2014.
- AMBALAM, P.; RAMAN, M.; PURAMA, R. K.; DOBLE, M. Probiotics, prebiotics and colorectal cancer prevention. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, v. 30, n. 1, p. 119-131, 2016.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. *Diário Oficial da União*, 22 fev. 2011. Seção 1, p.72-73.

ASSUMPÇÃO, L. C.; LAÇAVA, P. T.; DIAS, A. C. F.; AZEVEDO, J. L.; MENTEN, J. O. M. Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 5, p. 503-510, 2009.

AZEVEDO, J. L. Botânica: uma ciência básica ou aplicada? Revista brasileira de Botânica, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 225-229, 1999. AZEVEDO, J. L. **Microrganismos endofíticos**. In: MELO, I. S.;

AZEVEDO, J. L. (Ed.) Ecologia microbiana. Jaguariúna: **EMBRAPA**, 1998. p. 117-137.

AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI JUNIOR, W.; PEREIRA, J. O.; ARAÚJO, W. L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, Chile, v. 3, n. 1, p. 40-65.

CONCEIÇÃO, G. M.; ARAGÃO J. G. Diversidade e importância econômica das Myrtaceae do Cerrado, Parque Estadual do Mirador, Maranhão. **Sci. Ple.**, v. 6, p. 1-8, 2010.

CHONG, E. S. L. A potential role of probiotics in colorectal cancer prevention: review of possible mechanisms of action. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 2, p. 351-374, 2014.

DEMAIN, A.L. Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v.52, p.455-463, 1999.

DOMINGUES, JÉSSICA MARI. Fermentação em estado sólido de *Aspergillus parasiticus*, produção de aflatoxinas e sua pesquisa em alimentos consumidos regularmente no Brasil. **Dissertação mestrado**, UFPR, Paraná. 2015.

DRAELOS, ZOE DIANA. Cosmecêuticos. **Elsevier Brasil**, 7 de set de 2016 - 240 páginas.

EMBRAPA. Controle Biológico. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Aaa\Parque Estação Biológica**. Brasília. p. 2. 2008.

FAI, A. E. C.; STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD, T. L. M. Potencial biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos. **Rev. Iberoamer. Polim.**, v. 9, p. 435-451, 2008.

FILHO, VENTURINI; GASTONI, WALDEMAR. Bebidas alcoólicas: **ciência e tecnologia**. Editora Blucher, 25 de mai de 2018 - 575 páginas

FUNG, FREDERICK; Aflatoxina (Espécie *Aspergillus*) Ataque - **Disaster Medicine (segunda edição) de Ciottone**, 2016.

GERBALDO, G. A. et al. Antifungal activity of two *Lactobacillus* strains with potential probiotic properties. **FEMS Microbiology Letters**, v. 332, n.1, p 27–33, 2012.

GREAVES, IAN; FRCP; FCEM; FIMC; RCS (Ed), DTM & H; DMCC; DipMedEd, RAMC , Paul Caça MBBS, DipIMC (RCSEd); MCEM; MRCSEd; DMCC; RAMC; **Em resposta ao Terrorismo - Agentes Biológicos**, 2010.

GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; PATRÍCIA L.; MORELLATO C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. Artigo de revisão. **Rev. Brasil. Bot.**, v.29, p.509-530, 2006.

HASCHEK, WANDA M.; KENNETH A. Avaliação de segurança, incluindo questões atuais e emergentes em patologia toxicológica - **Manual de Patologia Toxicológica (terceira edição)**, 2013.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola**. 2016. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> . Acesso em 02 de Setembro de 2018

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER – IARC. Some naturally occurring 12 substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. **Lyon: IARC Press**, 1993. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, v. 56).

IMMAMURA KB, TONI JCV, BOCHE MAL, SOUZA DA, GIANNONI JA. Incidência de aflatoxinas no amendoim (*Arachis hypogaea* L) cru em casca da região da Alta Paulista-SP, durante o período de 2011 a 2012. **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo, 2014; 73(2):178-87.

JUNIOR, ARY CORRÊA; FERNANDES, GERALDO WILSON; ROSA, CARLOS AUGUSTO. Distribuição da comunidade de fungos endofíticos em folhas de *Bauhinia brevipes* (Fabaceae). **Acta Bot. Bras.** vol.25 no.4 Feira de Santana out./dez. 2011.

KENSLER, TW; ROEBUCK, BD; Wogan, GN; Groopman, JD Aflatoxina: a odisséia da toxicologia mecanicista e de transição de 50 anos. **Ciências toxicológicas**, v.120, p.28- 48, 2011. DOI: 10.1093 / toxsci / kfq283.

LIMA, T. M. Cultivo do Amendoim Submetido a Diferentes Níveis de Adubação Condições Edafoclimáticas no Sudoeste de Goiás. 2011. 133 f. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Universidade Federal de Goiás, Jatai, GO, 2011.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES A. T.; MENUT, C.; BESSIÈRE J. M.. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. **Quim. Nova**, v. 27, p. 916-919, 2004.

LUGHADHA, E.; SNOW, N. Biology and evolution of the Myrtaceae: A Symposium. **Kew Bulletin** v. 55, p. 591-592.

MARIN, DE; TARANU, I.; BUNACIU, RP. Changes in performance, blood parameters, humoral and cellular immune responses in weanling piglets exposed to low doses of aflatoxin. **J Anim Sci** 2002; 1(80); 1250 - 1257.

MARTINS, F. S.; BARBOSA, F. H. F.; PENNA, F. J.; ROSA, C. A.; NARDI, R. M. D.; NEVES, M. J.; NICOLI, J. R. Estudo do potencial probiótico de linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* através de testes in vitro. **Rev. Biol. Cienc. Terra**, v.5, 2005.

MARTINS, L.M.; SANT’ANA, A.S.; FUNGARO, M.H.P.; SILVA, J.J.; NASCIMENTO, M. da S. do; FRISVAD, J.C.; TANIWAKI, M.H. The biodiversity of *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxins in the Brazilian peanut production chain. **Food Research International**, v.94, p.101-107, 2017.

MINAFRA, C. S.; RODRIGUES, D R.; VACCARI, I. C. M; DUARTE, V.; DOS SANTOS, F. R.; SILVA, W. J. DA; GOUVEIA, ALISON B. V. S.; DE PAULO, L. M.; DOS SANTOS, J. B.; SILVA, J. M. S. Lesões orais em frangos de corte provocadas por micotoxinas do milho: Revisão. **PUBVET – Medicina veterinária e zootecnia**. v.12, n.7, a134, p.1-11, Jul., 2018.

MORAIS MB DE, JACOB CMA. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice. **J Pediatr.**82 (5): S189-S197, 2006.

NASCIMENTO, RODRIGO P. D.; RIBEIRO, BERNARDO D.; PEREIRA, KAREN S. C.; MARIA A. Z.; Microbiologia Industrial: Bioprocessos. **Elsevier Brasil**, 22 de nov de 2017 - 704 páginas.

NOGUEIRA, JANAÍNA C R.; GONÇALVES, MARIA DA C R. Probióticos - Revisão da Literatura. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. Volume 15 Número 4 Páginas 487-492. ISSN 1415-2177. 2011.

OSWALD, ISABELLE P. Impacto de las micotoxinas en la salud intestinal de los cerdos. **Dialnet**. Suis, ISSN 1699-7867, N°. 145, págs. 16-20. 2018.

PAYNE, GARY A. Micotoxinas e Segurança do Produto em amendoim - **Patogenicidade e Epidemiologia**, 2016.

PEIXOTO NETO, P.A. S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. **Microrganismos endofíticos. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 29, p. 62-77, 2002.

PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; CAETANO, L. C. Microrganismos endofíticos em plantas: status atual e perspectivas. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, Santiago, v. 3, n. 4, p. 69-72, 2004.

PEREIRA, ANA VANESSA ANDRADE. Estudo e implementação de um sistema de testes rápidos para a avaliação de micotoxinas em aperitivos, frutos secos e desidratados em indústria alimentar. **Instituto Superior de Engenharia de Coimbra**. Coimbra, janeiro 2017.

PIMENTA, R. S.; SILVA, J. F. M.; BUYER, J. S.; JANISIEWICZ, W. J. . Endophytic fungi from plums (*Prunus domestica*) and their antifungal activity against *Monilinia fructicola*. **J. Food Protec.** v. 75, p. 1883-1889, 2012.

PINTO, W. S.; ROSA, L. H.; SILVA, J. F. M.; PERIM, M. C.; BORGES, J. C.; JANIEWICZ, W. J. ; PIMENTA, R. S. Diversity and Antimicrobial Activities of Endophytic Fungi Isolated from *Myrcia Sellowiana* in Tocantins, Brazil. **Hortscience**, v.905, p.283-286, 2011. DOI:10.17660/ActaHortic.2011.905.31

PITT, J.I.; HOCKING, A.D. **Fungi and food spoilage**. 3rd ed. New York: Springer, 2009. DOI: 10.1007/978-0-387-92207-2.

PRADO, G.; MADEIRA, J. E. G. C. ; MORAIS, V. A. D. ; OLIVEIRA, M. S. ; PELUCIO J M ; SILVA, J. F. M.; PIMENTA, R. S.. Reduction of aflatoxin B1 in peanuts (*Arachis hypogaea* L.) using *Saccharomyces cerevisiae*. **J. Food Protec.**, v. 74, p. 1003-1006, 2011.

PRADO G. Contaminação de alimentos por micotoxinas no Brasil e no mundo. GERAIS; SUS/ mg. **Journal of public health**, v. 2, p. 11-24, 2014.

RAIZEL, R. et al. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Revista Ciência & Saúde**, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 66-74, jul./dez. 2011.

ROCHA, LUIZ A. O.; BACKE, NÊMORA F.; GRAEF, IVAN R.; FILHO, WOLMAR A. S. Biodiesel, um combustível renovável não poluente: E o que fazer com o glicerol?. **Anais do Salão Internacional de Ensino**, Pesquisa e Extensão. ISSN: 2317-3203. Universidade Federal do Pampa, 2011.

RODRIGUEZ, M. S.; RAMOS, V.; AGUILÓ, E. Antimicrobial action of chitosan against spoilage organisms in precooked pizza. **Journal Food Science.**, v. 68, p. 271-274, 2003.

ROSA, L.H.; MACHADO, K.M.G.; JACOB, C.C.; CAPELARI, M.; ROSA, C.A.; ZANI, C.L. Screening of brazilian basidiomycetes for antimicrobial activity. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.98, n.7, p.967-974, 2003. DOI:10.1590/s0074-02762003000700019

ROSA, C.S.; K.S. VERAS; P.R. SILVA; J.J. LOPES NETO; H.L.M. CARDOSO; L.P.L. ALVES; M.C.A. BRITO; F.M.M. AMARAL; J.G.S. MAIA; O.S. MONTEIRO; D.F.C. MORAES. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Volume 18, Number 1, 2016, pp. 19-26(8).

SANTANA, C B; SOUZA, J G DE L; CORACINI, MIRIAN D A; WALERIUS, ADRIANA H; SOARES, VANESSA D; COSTA, WILLIAN F D; PINTO, FABIANA G DA S. Composição química do óleo essencial de *myrcia oblongata* dc e potencial atividade antimicrobiana, antioxidante e acaricida contra *dermanyssus gallinae* (DEGEER, 1778) - *DERMYSYSUS GALLINAE* (DEGEER, 1778). **REVISTA DE BIOCIÊNCIA**. Uberlândia, MG, Brasil, 2018.

SANTOS, TAIDES T. D; VARAVALLO, MAURILIO A.; Aplicação de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**. v. 32, n. 2 (2011).

SÉBASTIEN, F.; STÉPHANE, G.; COPINET A.; COMA V. Novel biodegradable films made from chitosan and poly (lactic acid) with antifungal properties against mycotoxinogen strains. **Carbohy. Polym.**, v. 65, p. 185-193, 2006.

SCIGLIANO, SONIA CESARINO. Família Myrtaceae. **Jardim Cor**, PAISAGISMO E JARDINAGEM. 2017.

SCUSSEL, VM. Micotoxinas em alimentos. Florianópolis: **Insular**, 1998. p.144.

SIQUEIRA, HUMBERTO F. DE; SOUZA, LUZIA F. D.; AMARAL, ÉRICA V. E. J.; JUNIOR, VILSON Q. DE S. A família Myrtaceae no Brasil. **64º Congresso Nacional de Botânica, Belo Horizonte**, 10-15 de Novembro de 2013.

SILVA, J.F.M.; et al. Use of probiotics to control aflatoxin production in peanut grains. *Sci. World Journal* v.1, p1-8, 2015 a, doi:10.1155/2015/959138.

SILVA, J.F.M.; et al. Utilização de filme de quitosana para o controle de aflatoxinas em amendoim. *Bragantia*, v. 74, n 4, p.467-475, 2015b.

SNA – SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA SP produz 90% da safra de amendoim estimada em 433 mil toneladas, 2017. Disponível em: <http://www.sna.agr.br/sp-produz-90-da-safra-de-amendoim-estimada-em-433-mil-toneladas/>. Acessado em 06-09-2018.

SOUZA, A. Q. L.; SOUZA, A. D. L.; ASTOLFI FILHO, S.; BELÉM PINHEIRO, M. L.; SARQUIS, M. I. M.; PEREIRA, J. O. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens* bentham. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, n. 2, p. 185- 195, 2004.

SOARES, DEYZE ALENCAR; ASCENCIO, POLIANA GUERINO MARSON; LEÃO, GEOVANKA MARCELLE AGUIAR; RODRIGUES, KATARINA MIRNA TENÓRIO MARINHO; PIMENTA, RAPHAEL SANZIO. Detecção de compostos voláteis com atividade antibacteriana por fungos endofíticos associados à *Costus spiralis*. *J. Bioen. Food Sci*, 02 (4): 156-159, 2015.

SMITH, TK, SEDDON, IR. Synergism demonstrated between fusarium mycotoxins. **Feedstuffs** 1998; 12 - 16.

YU, JIUJIANG; CLEVELAND, T. E.; em *Micologia Aplicada e Biotecnologia - Genômica Fúngica*, 2004.

## Capítulo 2: Controle biológico integrado de *penicillium roqueforti* em queijo parmesão

Xu Yinsheng;

Eskálath Morganna Silva Ferreira;

Raul da Conceição Alves da Silva,

Valdir Francisco Odorizzi;

Raphael Sanzio Pimenta,

Juliana Fonseca Moreira da Silva.

*Penicillium roqueforti* é um fungo empregado durante o processo de maturação de alguns queijos, como Roqueforti, Danish Blue e Gorgonzola (FONTAINE et al. 2015). No entanto, também é um agente deteriorante bastante comum em matérias-primas e em alimentos processados. Sua alta atividade proteolítica o identifica como o principal problema em armazenamento de queijos, podendo alterar sua textura e propriedades organolépticas, principalmente sobre queijos maturados semiduros, como o Parmesão, Jarlsberg e outros (KURE et al., 2014; BODEGA et al., 2009). Algumas cepas de *P. roqueforti* podem durante seu desenvolvimento produzir micotoxinas, como roquefortine C e ácido micofenólico, com atividades neurotóxicas e mutagênicas, respectivamente (HYMERY et al., 2014).

A contaminação de queijos por *P. roqueforti* pode ocorrer nas fases de produção, maturação e/ou armazenamento (ROPARS et al., 2015), pois seus esporos podem estar presentes na circulação do ar, na superfície de equipamentos e outros locais (KURE et al., 2004). Para minimizar essa contaminação, as indústrias podem utilizar métodos de controle, como a aplicação de análise de perigos e pontos críticos de controle durante o processo de fabricação, além de tratamentos físicos, térmicos e químicos (LAY et al., 2016). O controle biológico realizado por microrganismos como as bactérias e leveduras tem se destacado como alternativa eficaz, prolongando a vida útil desses produtos (PARAFATI et al. 2015; PRICE et al., 2014). Algumas leveduras, como *Debaryomyces hansenii* e *Yarrowia lipolytica*, já foram utilizadas para reduzir o crescimento de *P. roqueforti* em queijo, sendo que a *D. hansenii* conseguiu uma redução de 50% em comparação com o controle e a *Y. lipolytica* conseguiu impedir a formação de esporos (LIU; TSAO, 2009; PRICE et al., 2014) e, segundo o FDA, algumas leveduras são consideradas seguras para o consumo humano, além de ter vasta utilização nas indústrias químicas, alimentícias, farmacêuticas e nutracêuticas (SWINNEN et al., 2016).

O controle biológico pode ainda ser potencializado pela consorciação dos agentes biológicos com o emprego de substância GRAS, compostos químicos considerados como aditivos alimentares seguros para o consumo humano e que podem possuir efeitos antimicrobianos (GENG et al., 2012; PALOU et al., 2016). O bicarbonato de sódio, benzoato de sódio e cloreto de cálcio possuem efeitos antifúngicos, pois têm a capacidade de reduzir a germinação de esporos (GENG et al., 2011; YU et al., 2012; HERRERO et al., 2016).

Considerando o interesse na aplicação do controle biológico para a redução do crescimento desse fungo deteriorante em queijo parmesão, este estudo teve como objetivo avaliar in vitro e no produto final a atividade de quatro isolados de *S. cerevisiae* e *S. boulardii* no controle de *Penicillium roqueforti*, além de testar substâncias GRAS na inibição do crescimento fúngico.

## Materiais e método

### Obtenção dos microrganismos

O fungo filamentosos *P. roqueforti* (PV L 049) foi cedido pelo Laboratório de Laticínios da Universidade Federal de Goiás. As leveduras *S. cerevisiae* linhagem YEF 186, UFT 5962, UFT 5976 e UFT 5992 foram obtidas da coleção de cultura Carlos Augusto Rosa do Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada da Universidade Federal do Tocantins e a *S. boulardii* foi obtida a partir da Coleção de Cultura do Laboratório de Ecologia e Fisiologia de Microrganismos, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

### Reativação do *Penicillium roqueforti* e preparo do inóculo

A reativação dos esporos liofilizados da linhagem de *P. roqueforti* foi realizada primeiramente em um erlenmeyer contendo 30 mL de caldo Batata Dextrose (extrato de batata 4%, glicose 20%) inoculado por sete dias a 25°C sobre agitação a 100 rpm. A concentração dos esporos foi estimada através de Câmara de Neubauer e ajustada para a concentração de  $2 \times 10^6$  esporos/mL (SILVA et al., 2015).

### Reativação das leveduras e preparo dos inóculos

As linhagens de leveduras *S. cerevisiae* e *S. boulardii* foram reativadas em placa de Petri contendo meio YMA (glicose 1%, peptona 0,5%, extrato de malte 0,3%, ágar 2%, extrato de levedura 0,3% e cloranfenicol 200 mg/L) por 48h a 25°C. A concentração celular foi estimada através de Câmara de Neubauer e ajustada para a concentração de  $2 \times 10^8$  células/mL em 10 mL de solução salina a 0,85% (SILVA et al., 2015).

### Verificação da inibição do crescimento do *P. roqueforti* pelas leveduras

Foram inoculados 10 µl da solução com as leveduras na concentração de  $2 \times 10^8$  células/mL no centro da placa de Petri contendo meio YMA por 48h a 25°C. Após esse período o experimento in vitro foi dividido em: tratamento 1: (leveduras viáveis) e tratamento 2: (levedura inativada por vapor de clorofórmio por 30 min.), de acordo com a metodologia proposta por Silva et al.(2015). Todos os tratamentos foram realizados em triplicata e comparados com controle positivo.

### Verificação da redução e alterações morfológicas dos esporos de *P. roqueforti* pelas leveduras antagônicas

Após a verificação da inibição do crescimento do patógeno foi realizada a contagem dos esporos produzidos pelos tratamentos 1 e 2.

O número de esporos foi determinado através de Câmara de Neubauer. O experimento foi realizado em triplicata e as imagens capturadas por microscópio óptico (Modelo O500 Inverter, Opticam) (SILVA et al.,2015).

## Avaliação da inibição do crescimento do *Penicillium roqueforti* por substâncias GRAS

As substâncias GRAS utilizadas para o teste de sensibilidade foram bicarbonato de sódio, carbonato de sódio, carbonato de cálcio, cloreto de cálcio e cloreto de potássio, selecionadas a partir das listas disponíveis pela FAO/FDA. Os meios de culturas foram elaborados a partir de YMA acrescidos de 1, 3 e 5% das substâncias anteriormente citadas; exceto cloreto de potássio, que foi adicionado nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0%, todas as concentrações utilizadas estavam de acordo com as recomendações da FAO/FDA.

Os halos de inibição foram medidos com auxílio de um paquímetro digital (mm) após 3, 5 e 7 dias de crescimento. Todas as análises foram realizadas em triplicata e comparadas com o controle positivo (FERREIRA et al., 2015).

## Verificação da resistência das leveduras à substância GRAS

Para a realização do teste de resistência das leveduras às substâncias GRAS, foram preparados erlenmeyer contendo caldo GYMP (1% extrato de levedura; 0,5% peptona; 1% glicose; 0,02% fosfato de sódio monobásico) e adicionada concentração de 1%, 3% e 5% de bicarbonato de sódio ao meio de cultura. Após a inoculação foi realizado o plaqueamento das leveduras para a contagem populacional através de equipamento Eddy Jet Spiral plater (IUL, INSTRUMENTS) e a contagem do número de colônias através de equipamento Flash & gol (IUL, INSTRUMENTS); os resultados foram expressos em log (UFC/g).

As análises do crescimento das leveduras foram realizadas a cada dois dias por um período de 40 dias. Após esse período as análises foram realizadas a cada 10 dias (FERREIRA et al., 2015).

## Ensaio de controle biológico

### Teste de controle biológico

Para realização dos testes de controle biológico com as leveduras em queijos tipo parmesão, foram adquiridas 30 peças de queijo no comércio local de Palmas/TO, na forma fracionada e com formato triangular, de forma similar à utilizada para venda.

Os queijos foram inoculados com as leveduras *S. boulardii*, *S. cerevisiae* YEF 186 e *S. cerevisiae* UFT 5992 através da imersão em salina (0,85%) contendo  $2 \times 10^8$  células/mL de cada levedura durante o período de cinco minutos. O experimento foi dividido em: tratamento 1 - controle negativo (apenas a levedura *S. boulardii*); tratamento 2 - controle negativo (apenas a levedura *S. cerevisiae* YEF 186); tratamento 3 - controle negativo (apenas a levedura *S. cerevisiae* UFT 5992); tratamento 4 - (*S. boulardii* + *P. roqueforti*); tratamento 5 - (*S. cerevisiae* YEF 186 + *P. roqueforti*); tratamento 6 - (*S. cerevisiae* UFT 5992 + *P. roqueforti*); tratamento 7 - controle positivo (apenas o fungo deteriorante). Todos os tratamentos foram incubados a 12 °C por até 13 dias. Para avaliar a área de contaminação do queijo nos tratamentos foi utilizado o programa QUANT v.1.0.1 (VALE et al., 2003; SILVA et al., 2015). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

## Teste de controle biológico integrado

Trinta amostras de queijo foram inoculadas com as leveduras *S. boulardii* e *S. cerevisiae* UFT 5992 através de imersão em uma solução de bicarbonato de sódio (BS) na concentração de 1% contendo  $2 \times 10^8$  células/mL de cada levedura durante cinco minutos. O experimento foi dividido em : tratamento 8 - controle negativo (BS + *S. boulardii*) ; tratamento 9 - (BS + *S. cerevisiae* UFT 5992) ; tratamento 10 - controle negativo (apenas a levedura *S. boulardii*) ; tratamento 11 - controle negativo (apenas a levedura *S. cerevisiae* UFT 5992) ; tratamento 12 - (*S. boulardii* + BS + *P. roqueforti*) ; tratamento 13 - (*S. cerevisiae* UFT 5992 + BS + *P. roqueforti*) ; tratamento 14 - controle negativo (apenas o BS) ; tratamento 15 - controle positivo (apenas *P. roqueforti*). Todos os tratamentos foram incubados a 12°C por até 21 dias e realizados em triplicata (SILVA et al., 2015).

## Avaliação da severidade da contaminação de *P. roqueforti* em queijo parmesão

A severidade da contaminação de *P. roqueforti* em queijo tipo parmesão foi avaliada através do cálculo das médias das áreas (mm<sup>2</sup>) de crescimento do fungo obtidas pelo programa QUANT v.1.0.1. (VALE et. al., 2003). Para tanto, foram analisadas as imagens da parte superficial dos queijos de todos os tratamentos citados anteriormente.

Para o cálculo da severidade, foi inicialmente definida uma área média triangular (35 mm de comprimento e 8 mm de altura) a partir das imagens obtidas dos queijos tratados e posteriormente calculada a porcentagem de contaminação pelo programa. A porcentagem de redução de severidade (RS) foi calculada através da equação (ASSIS et al., 1999).

$$RS \% = \frac{RSc - RSt \times 100}{RSc}$$

Onde: RSc a área do controle positivo (somente com fungo) e RSt a área dos tratamentos.

## Dinâmica populacional das leveduras em queijo parmesão

A dinâmica populacional das leveduras na superfície dos queijos foi analisada pelo período de 60 dias. Foram retirados pequenos pedaços de queijo de cerca de 1cm<sup>3</sup> e colocados em tubos contendo 9 mL de água destilada. Após homogeneização a solução foi plaqueada pelo equipamento Eddy Jet Spiral plater nas placas de Petri contendo meio YMA e incubada a temperatura de 25 °C por 48h. Após esse período foi contado o número de colônias através do equipamento Flash & gol (SILVA et al., 2015).

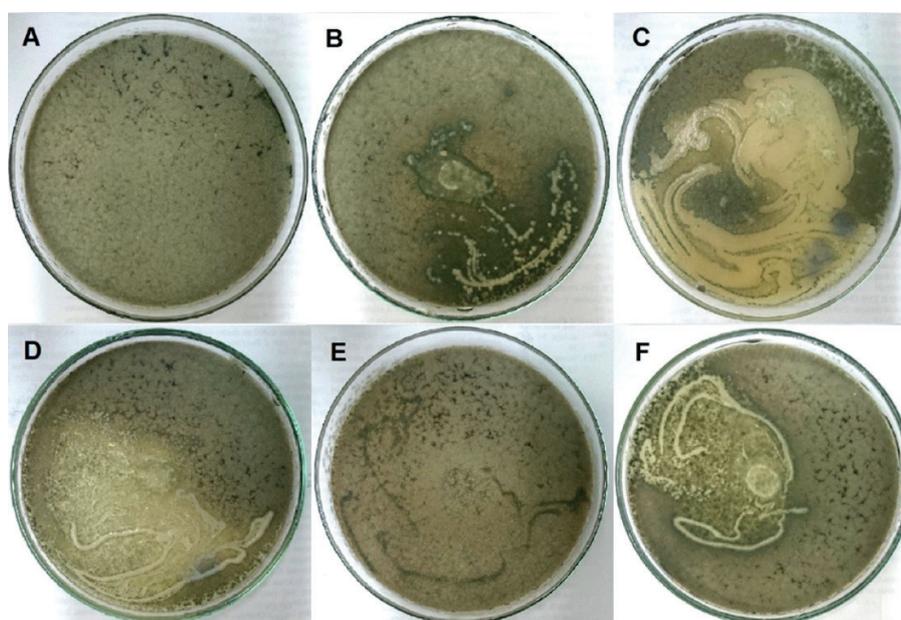
## Análises estatísticas

Os dados relacionados à redução da produção de esporos e inibição do crescimento do deteriorante foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando-se o programa estatístico ASSISTAT 7.7. Para testar a inibição do fungo pelo *P. roqueforti*, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk a fim de verificar a normalidade da distribuição dos dados. Posteriormente foi utilizado o teste Scott-Knott utilizando-se o programa estatístico ASSISTAT 7.7.

## Resultados e discussão

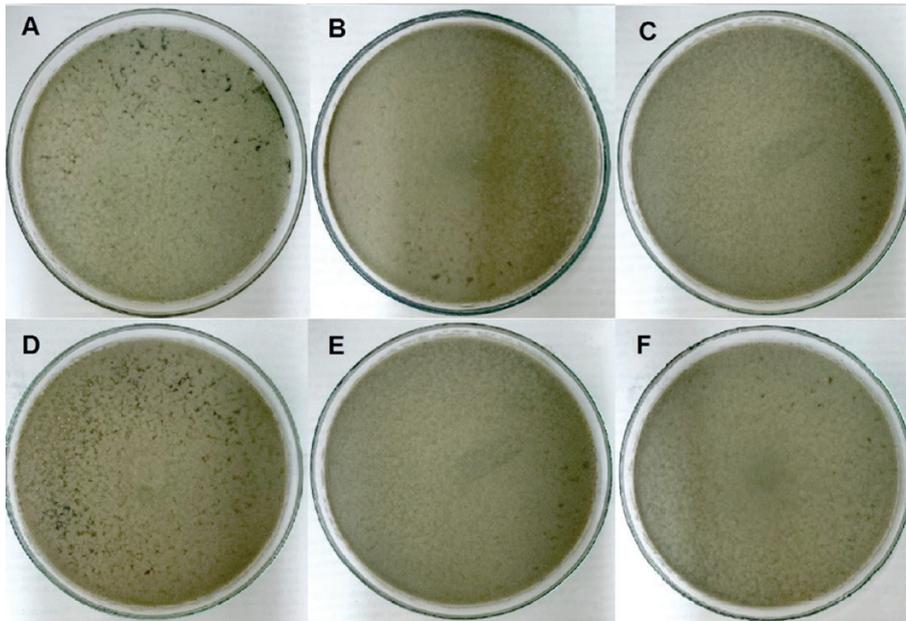
Os resultados dos experimentos de inibição do crescimento do deteriorante in vitro do tratamento 1 (leveduras viáveis) não demonstraram diferenças significativas quando comparadas com o controle positivo, porém, quando comparamos a coloração do crescimento do controle positivo (apenas o *P. roqueforti*), podemos observar que no tratamento 1 a coloração foi mais clara sugerindo menor esporulação do deteriorante (Figura 1). Supõem-se que ocorreu uma competição por espaço entre a levedura e o deteriorante. No tratamento 2 (leveduras inativadas com vapores de clorofórmio), não foi observada diferença significativa em relação à coloração quando comparadas ao controle positivo (Figura 2). Estudos prévios realizados por Silva et al. (2015) verificaram essas mesmas alterações produzidas pelas leveduras *S. boulardii* e *S. cerevisiae* (UFMG 905) durante o crescimento do *Aspergillus parasiticus*, corroborando os resultados apresentados neste trabalho. A análise das estruturas morfológicas dos esporos do *P. roqueforti* nos dois tratamentos não evidenciou alterações (Figuras 3 e 4).

**Figura 1.** Aspecto de placas contendo meio YMA inoculadas com *P. roqueforti* e leveduras antagonistas viáveis após sete dias de incubação. (A) Controle positivo; (B) *S. cerevisiae* UFT 5962 x *P. roqueforti*; (C) *S. cerevisiae* UFT 5992 x *P. roqueforti*; (D) *S. boulardii* x *P. roqueforti*; (E) *S. cerevisiae* YEF 186 x *P. roqueforti*; (F) *S. cerevisiae* UFT 5976 x *P. roqueforti*.



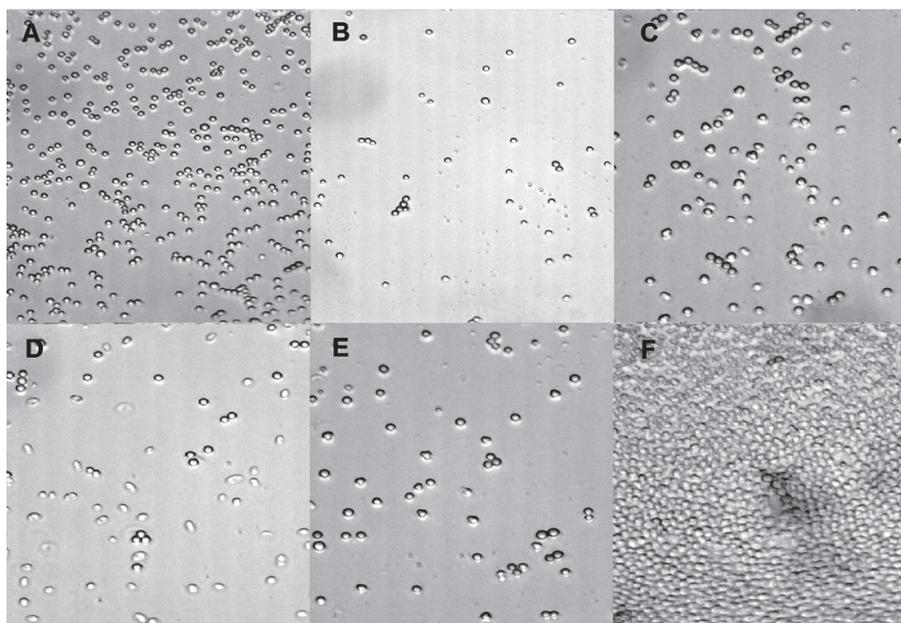
Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 2.** Aspecto de placas contendo meio YMA inoculadas com *P. roqueforti* e leveduras antagonistas inativadas por vapor de clorofórmio após sete dias de incubação. (A) Controle positivo; (B) *S. cerevisiae* UFT 5962 x *P. roqueforti*; (C) *S. cerevisiae* UFT 5992 x *P. roqueforti*; (D) *S. boulardii* x *P. roqueforti*; (E) *S. cerevisiae* YEF 186 x *P. roqueforti*; (F) *S. cerevisiae* UFT 5976 x *P. roqueforti*.



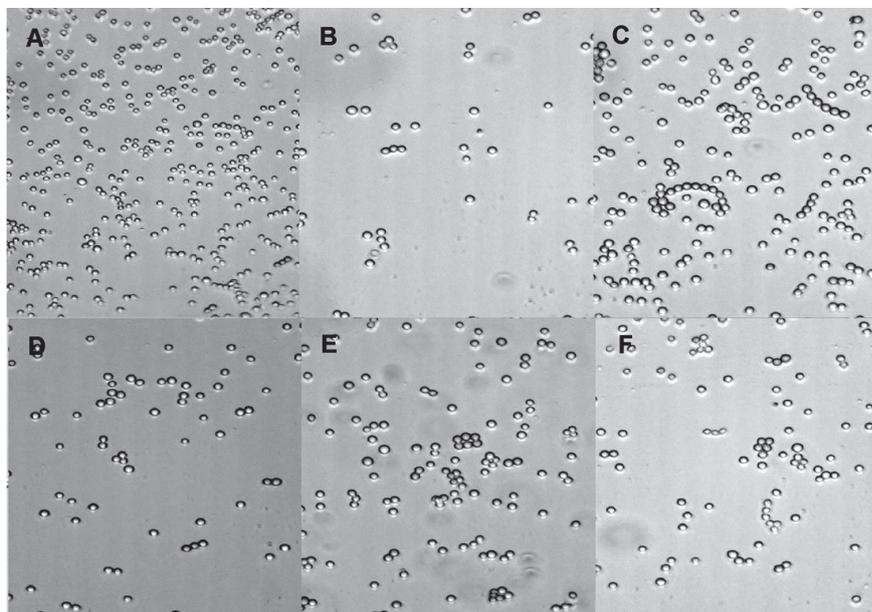
Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 3.** Esporos de *Penicillium roqueforti* recuperados da solução contendo as leveduras antagonistas viáveis. (A) Controle positivo; (B) *S. cerevisiae* YEF 186 x *P. roqueforti*; (C) *S. cerevisiae* UFT 5962 x *P. roqueforti*; (D) *S. boulardii* x *P. roqueforti*; (E) *S. cerevisiae* UFT 5992 x *P. roqueforti*; (F) *S. cerevisiae* UFT 5976 x *P. roqueforti*.



Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 4.** Esporos de *Penicillium roqueforti* recuperados da solução contendo as leveduras antagonistas inativas. (A) Controle positivo; (B) *S. cerevisiae* YEF 186 x *P. roqueforti*; (C) *S. cerevisiae* UFT 5962 x *P. roqueforti*; (D) *S. boulardii* x *P. roqueforti*; (E) *S. cerevisiae* UFT 5992 x *P. roqueforti*; (F) *S. cerevisiae* UFT 5976 x *P. roqueforti*.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Ao analisar os dados estatísticos através de ANOVA apresentados na Tabela 1, observamos redução significativa na concentração de esporos. As leveduras *S. boulardii*, *S. cerevisiae* YEF186 e *S. cerevisiae* UFT 5992 foram selecionadas para o teste de resistência à substância GRAS devido à capacidade de redução acima de 80%, da produção de esporos do *P. roqueforti*.

**Tabela 1.** Porcentagem de redução de esporos do *P. roqueforti* pelas leveduras antagônicas viáveis e inativas.

Tratamentos	MO VIÁVEIS		MO INATIVAS	
	Média (esporos/mL)	Redução de esporos (%)	Média (esporos/mL)	Redução de esporos (%)
Controle <i>P. roqueforti</i>	26,2 <sup>a</sup>	—	26,2 <sup>a</sup>	—
<i>S. cerevisiae</i> YEF186	5,0 <sup>d</sup>	80,9	5,8 <sup>c</sup>	77,7
<i>S. boulardii</i>	3,1 <sup>e</sup>	88,2	15,2 <sup>b</sup>	41,9
<i>S. cerevisiae</i> UFT 5962	5,9 <sup>d</sup>	77,3	12,3 <sup>b</sup>	53,2
<i>S. cerevisiae</i> UFT 5976	5,6 <sup>d</sup>	78,8	11,3 <sup>b</sup>	57,0
<i>S. cerevisiae</i> UFT 5992	2,1 <sup>e</sup>	92,0	13,4 <sup>b</sup>	48,7

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ )

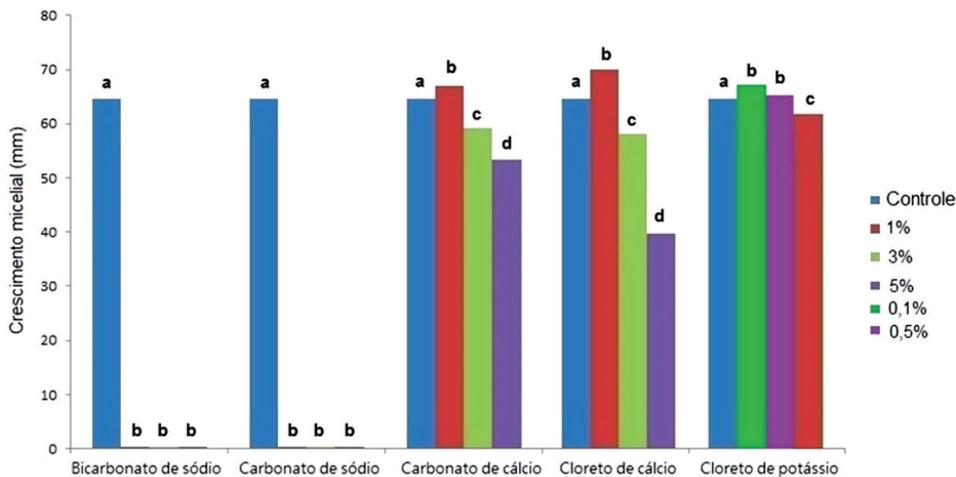
\*Médias seguidas de letras minúsculas demonstram diferenças estatísticas em relação ao controle positivo (letra a) pelo teste de Scott-knott ( $p \leq 0,05$ ).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Yao et al. (2004) e Silva et al. (2015) obtiveram resultados semelhantes. Yao et al. (2004) utilizaram leveduras antagônicas *Cryptococcus laurentii* e *Trichosporon pullulans* para testar a capacidade de inibição do crescimento de *Penicillium expansum* e conseguiram reduzir 59,5 e 72,1% a produção de esporos em relação ao controle; já Silva et al. (2015) utilizaram as leveduras *S. boulardii* e *S. cerevisiae* (UFMG 905) para verificar a capacidade antifúngica sobre a produção de esporos de *Aspergillus parasiticus* e obtiveram redução de 24,9% e 22,6% em comparação ao controle.

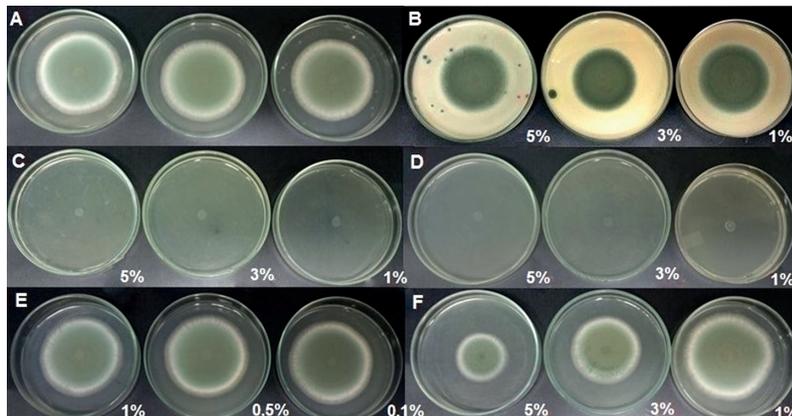
O *P. roqueforti* foi submetido ao teste de sensibilidade a substâncias GRAS (bicarbonato de sódio, carbonato de sódio, carbonato de cálcio, cloreto de potássio e cloreto de cálcio) e os dados mostraram que o bicarbonato de sódio e o carbonato de sódio conseguiram inibir 100% do crescimento do *P. roqueforti* nas concentrações de 1%, 3% e 5% (Figuras 5 e 6). As outras substâncias GRAS utilizadas não apresentaram redução satisfatória.

**Figura 5.** Efeito das diferentes substâncias GRAS em diferentes concentrações sobre o crescimento de *P. roqueforti* após sete dias de incubação a 25°C. Médias seguidas de letras distintas nas barras diferem entre si pelo teste de Scott-knott ( $p \leq 0,05$ ).



Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 6.** Crescimento micelial do *P. roqueforti*. (A) = controle positivo. (B) = carbonato de cálcio. (C) = carbonato de sódio. (D) = bicarbonato de sódio. (E) = cloreto de potássio. (F) = cloreto de cálcio.



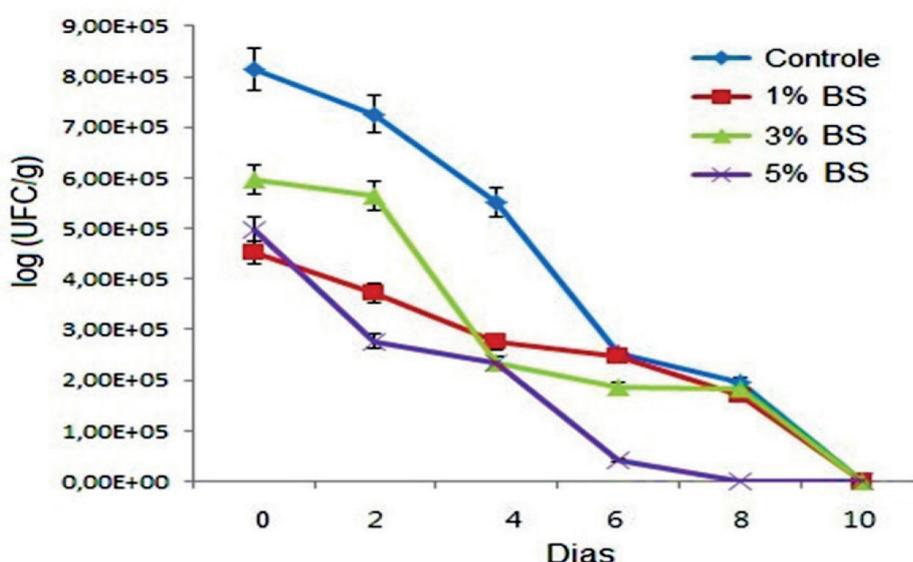
Fonte: Elaborado pelo autor.

Youssef et al. (2012) e Ferreira et al. (2015) obtiveram resultados semelhantes quando utilizaram o bicarbonato de sódio para o controle do *Penicillium digitatum* e *P. italicum* e *Colletotrichum gloeosporioides*, respectivamente. A capacidade de inibição do bicarbonato de sódio pode estar relacionada à alteração do pH do meio, afetando assim a atividade enzimática de fungos (FALLANAJ et al., 2016). Segundo Lai et al. (2015), a utilização desse sal pode ainda alterar a transferência de prótons através da membrana plasmática, promovendo a redução do crescimento micelial.

Tanto o bicarbonato de sódio quanto o carbonato de sódio mostraram eficiência no controle do crescimento *P. roqueforti*; ambos foram eficazes em todas as concentrações utilizadas no estudo, inclusive na menor concentração testada (1%). Devido a sua utilização em produtos alimentícios, o bicarbonato de sódio pode ser boa alternativa para o controle de *P. roqueforti*, pois não altera o sabor e textura do produto final. É uma estratégia já estudada para aumentar o tempo de prateleira de frutas. Além de ser facilmente encontrado no mercado, é mais acessível quando comparado a outras substâncias GRAS, por esses motivos foi selecionado para a realização do teste de resistência com as leveduras antagonistas (LAI et al., 2015; BRU et al., 2013; FALLANAJ et al., 2016).

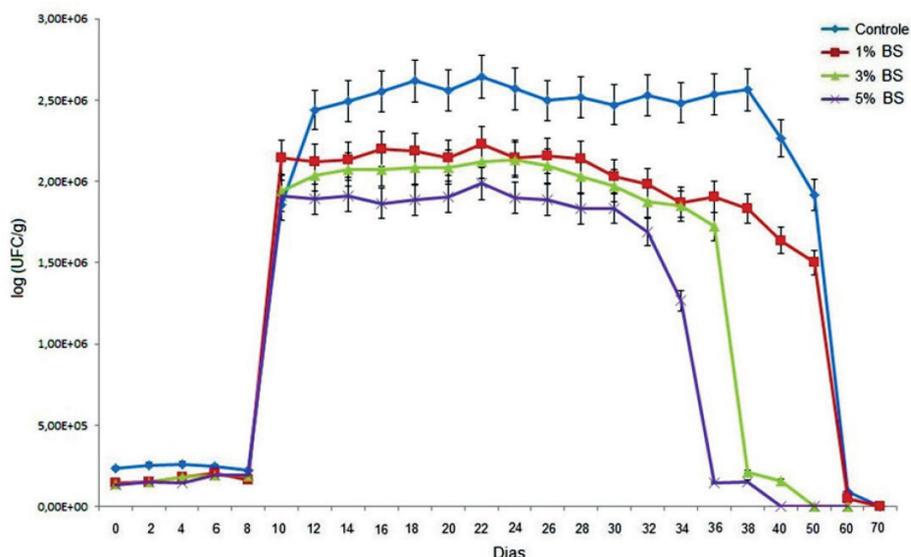
O teste de resistência das leveduras *S. cerevisiae* YEF 186, *S. boulardii* e *S. cerevisiae* UFT 5992 in vitro em diferentes concentrações de bicarbonato de sódio demonstrou que a levedura *S. cerevisiae* YEF 186 conseguiu sobreviver somente por oito dias nas concentrações de 1 e 3% de bicarbonato de sódio e na concentração de 5% permaneceu viável durante seis dias (Figura 7). *S. boulardii* sobreviveu durante 60 dias na concentração de 1% de bicarbonato de sódio, e nas concentrações de 3 e 5% permaneceu viável durante 40 dias (Figura 8). Esse resultado também foi obtido pela levedura *S. cerevisiae* UFT 5992 (Figura 9).

**Figura 7.** Efeito de diferentes concentrações de bicarbonato de sódio (BS) no crescimento do *S. cerevisiae* YEF 186 in vitro.



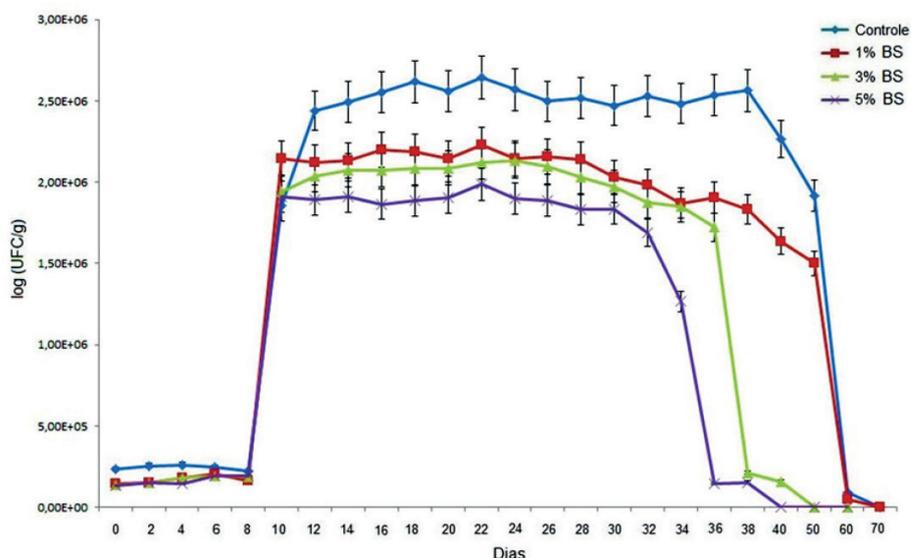
Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 8.** Efeito de diferentes concentrações de bicarbonato de sódio (BS) no crescimento do *S. boulardii in vitro*.



Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 9.** Efeito de diferentes concentrações de bicarbonato de sódio (BS) no crescimento do *S. cerevisiae* UFT 5992 *in vitro*



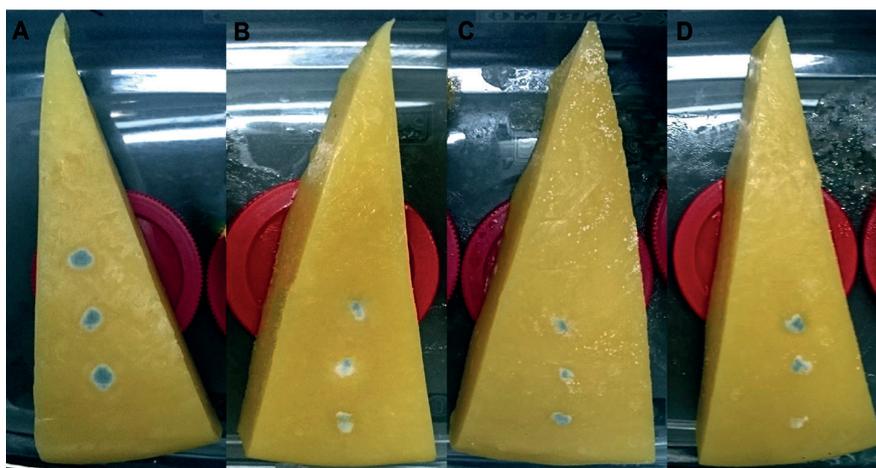
Fonte: Elaborado pelo autor.

Utilizando a mesma metodologia para testar a capacidade de sobrevivência da levedura UFT 5852 no caldo GYMP contendo bicarbonato de sódio, Ferreira et al. (2015) obtiveram resultados semelhantes aos obtidos pela levedura *S. cerevisiae* YEF 186, conseguindo sobreviver por apenas sete dias em concentrações de 1, 3 e 5% de bicarbonato de sódio. Pimenta et al. (2010) utilizaram a levedura antagônica *Saccharomycopsis crataegensis* em

testes in vitro e conseguiram nos sete dias analisados manter concentração celular igual à inicial nas concentrações de 1%, 2% e 5% de bicarbonato de sódio. As leveduras *S. boulardii* e *S. cerevisiae* UFT 5992 utilizadas neste estudo demonstraram resistência a essa substância nas diferentes concentrações, pois permaneceram viáveis na mesma concentração celular durante 40 dias. Devido a isso, essas duas espécies foram selecionadas para a realização dos ensaios de controle biológico integrado com BS.

No teste de controle biológico no queijo tipo parmesão, no tratamento 7 (controle positivo), foi detectado crescimento da colônia de *P. roqueforti* após o quinto dia de incubação, e nos tratamentos 4, 5 e 6, com as leveduras *S. boulardii*, *S. cerevisiae* YEF 186 e *S. cerevisiae* UFT 5992, o aparecimento da colônia típica foi observado a partir do sétimo dia, o que demonstra que as leveduras apresentaram capacidade inibitória, pois conseguiram reduzir o desenvolvimento do fungo por dois dias (Figura 10).

**Figura 10.** Peças de queijo parmesão inoculadas com os esporos de *P. roqueforti* após sete dias de incubação. (A) Controle positivo; (B) *S. boulardii*+ *P. roqueforti*; (C) *S. cerevisiae* UFT 5992 + *P. roqueforti*; (D) *S. cerevisiae* YEF 186 + *P. roqueforti*.

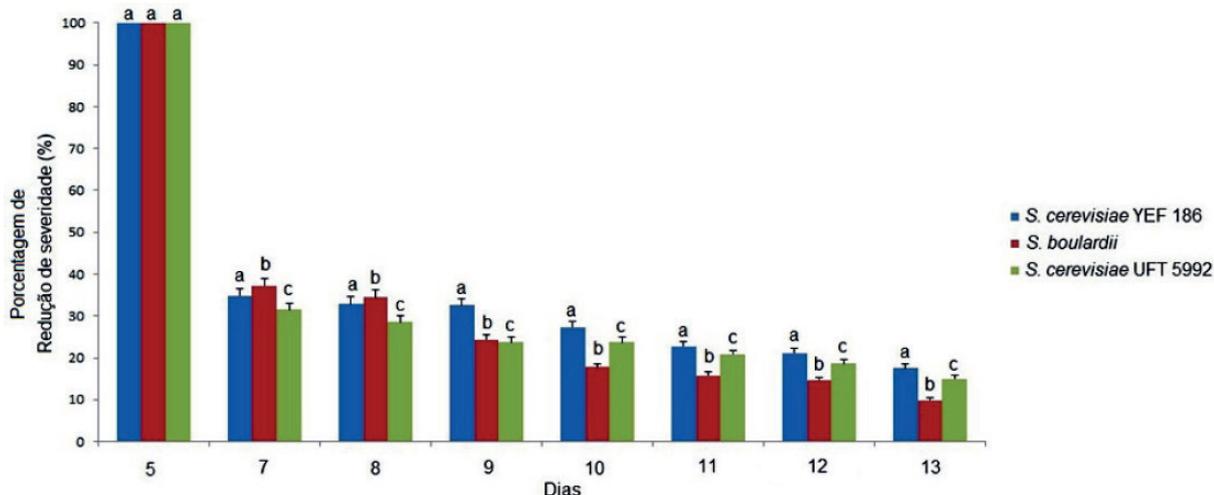


Fonte: Elaborado pelo autor.

Após o aparecimento das colônias iniciou-se a determinação das áreas de contaminação na parte superficial do queijo e os dados das médias das áreas obtidas foram submetidos à análise estatística. Porém, devido à falta de normalidade dos dados detectada pelo teste de Shapiro-Wilk, foi necessária a transformação para log X e posterior avaliação estatística através do teste de Scott-Knott, que divide as severidades em grupos e demonstra se esses grupos dos tratamentos com leveduras apresentaram diferença estatística em relação ao controle positivo.

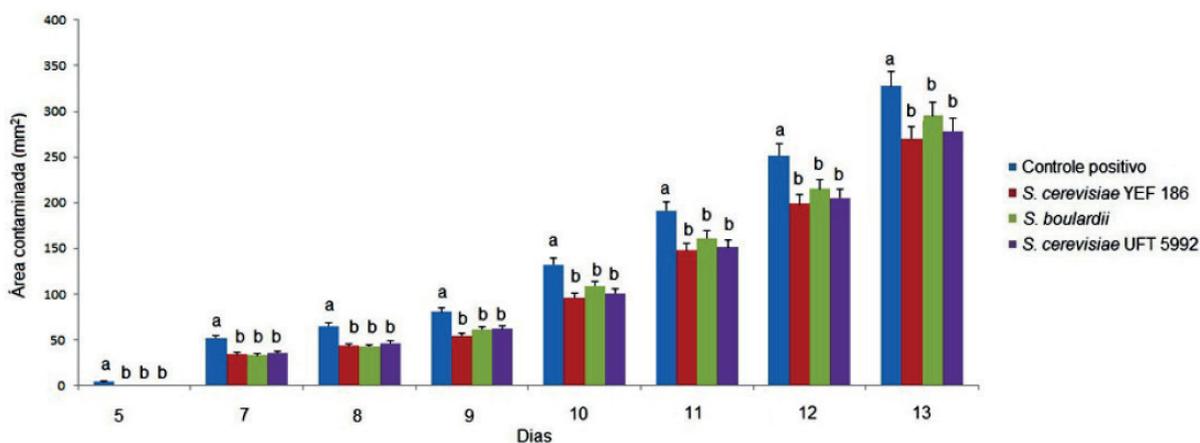
O teste de Shapiro-Wilk associado ao Scott-Knott dividiu os resultados em dois grupos, sendo o controle positivo (Grupo a) e as leveduras antagonistas representadas no Grupo b. Nesse processo, as leveduras *S. boulardii*, *S. cerevisiae* YEF 186 e *S. cerevisiae* UFT 5992 (Grupo b) foram avaliadas somente por 13 dias e apresentaram-se estatisticamente diferentes do controle, o que pode ser observado na Figura 11. As leveduras *S. boulardii*, *S. cerevisiae* YEF 186 e *S. cerevisiae* UFT 5992 conseguiram no 13º dia redução de severidade da contaminação desse fungo em 9,9%, 17,5% e 15% (Figura 12).

**Figura 11.** Área contaminada por *P. roqueforti* em queijo tipo parmesão controlado pelas leveduras *S. boulardii*, *S. cerevisiae* YEF 186 e *S. cerevisiae* UFT 5992. Teste Shapiro-Wilk e Scott-Knott significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0.05$ ) com controle positivo como Grupo a e as leveduras antagonistas como Grupo b.



Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 12.** Porcentagem de redução de severidade da contaminação causada pelo *P. roqueforti* controlado pelas leveduras *S. boulardii*, *S. cerevisiae* YEF 186 e *S. cerevisiae* UFT 5992. Teste Scott-Knott significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0.05$ ).



Fonte: Elaborado pelo autor.

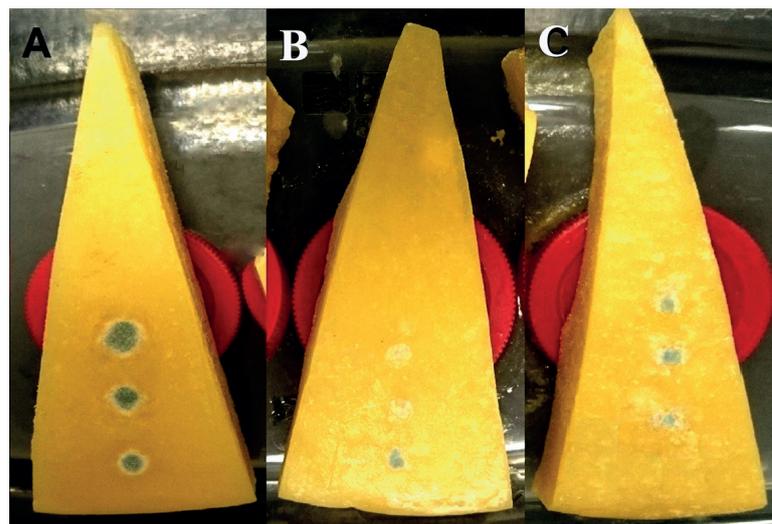
Ao serem submetidos ao método com embalagem a vácuo, os queijos parmesão têm sua durabilidade estabelecida em até seis meses, mas nos comércios são vendidos em forma de fatias pequenas, triangulares, recobertas por filme plástico, dessa forma têm sua vida de prateleira reduzida para apenas sete dias. Porém, utilizando-se o método de controle biológico com as leveduras *S. boulardii*, *S. cerevisiae* YEF 186 e *S. cerevisiae* UFT

5992, foi possível estender a vida de prateleira por mais seis dias. Isso pode ter ocorrido devido à formação de biofilme pela reprodução das leveduras, criando uma proteção na parte superficial do produto.

Outra possibilidade seria o mecanismo de controle que essas espécies podem exercer através da competição por espaços e nutrientes (PLATANIA et al., 2012; PARAFATI et al. 2015). Liu e Tsao (2009), estudando o controle biológico de *P. roqueforti* em queijo utilizando a levedura *Debaryomyces hansenii* na concentração de  $10^6$  células/mL, conseguiram reduzir o crescimento do fungo por 14 dias analisados. Esses resultados corroboram com os obtidos neste estudo.

No controle biológico integrado, o crescimento da colônia do *P. roqueforti* no tratamento 15 (controle positivo) foi detectado no 7º dia; nos tratamentos 12 (*S. boulardii* + BS + *P. roqueforti*) e 13 (*S. cerevisiae* UFT 5992 + BS + *P. roqueforti*), iniciaram somente no 10º dia, demonstrando que esses tratamentos conseguiram adiar por três dias o crescimento desse fungo (Figura 13).

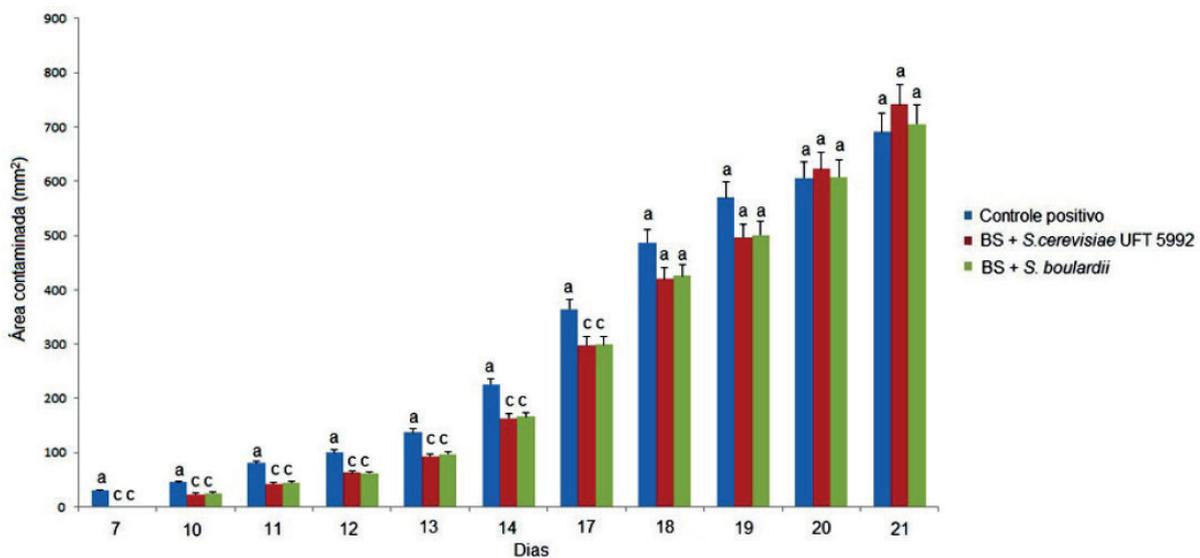
**Figura 13.** Queijos parmesãos do 10º dia com o controle biológico integrado e inoculado com os esporos de *P. roqueforti*. (A) Controle positivo; (B) *S. boulardii* + BS + *P. roqueforti*; (C) *S. cerevisiae* UFT 5992 + BS + *P. roqueforti*.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

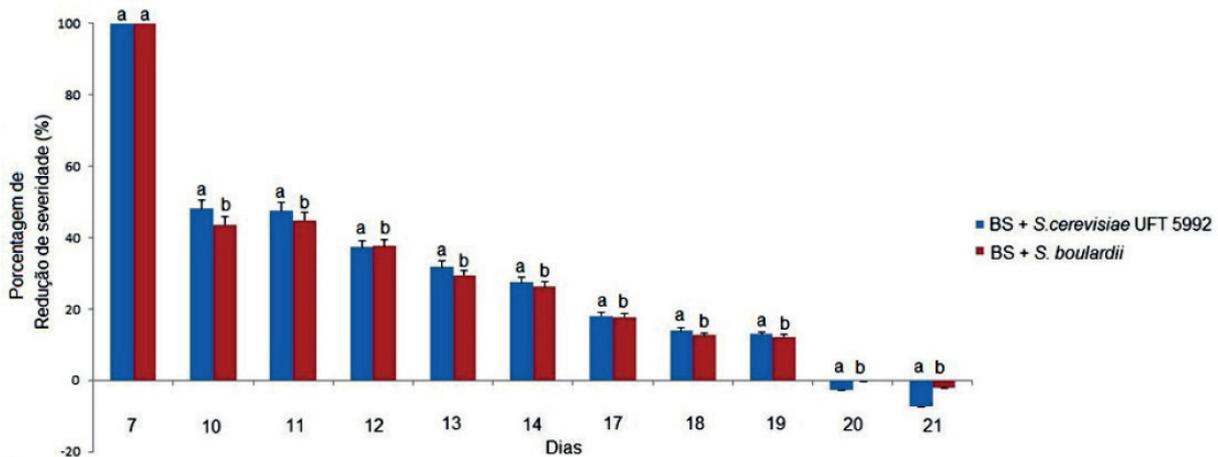
Após o aparecimento da colônia do deteriorante realizou-se o cálculo das médias das áreas de contaminação e posteriormente a análise estatística com o teste de Shapiro-Wilk, transformação dos dados em log X e posteriormente teste de Scott-Knott (Figura 14). Foi observada diferença estatística até o 17º dia, aumentando a vida de prateleira em 10 dias. Além disso, as leveduras *S. boulardii* e *S. cerevisiae* UFT 5992 em associação com o BS obtiveram redução da severidade da área de contaminação em relação ao controle positivo de 17,7 e 18%, respectivamente (Figura 15).

**Figura 14.** Médias da área contaminada por *P. roqueforti* em queijo tipo parmesão controlado pelas leveduras *S. boulardii* e *S. cerevisiae* UFT 5992 em combinação com bicarbonato de sódio (BS) na concentração de 1%. Teste Scott-Knott significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0.05$ ).



Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 15.** Porcentagem de redução de severidade da contaminação causada pelo *P. roqueforti* no processo da combinação das leveduras *S. boulardii* e *S. cerevisiae* UFT 5992 com bicarbonato de sódio (BS) na concentração de 1%. Teste Scott-Knott significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0.05$ ).



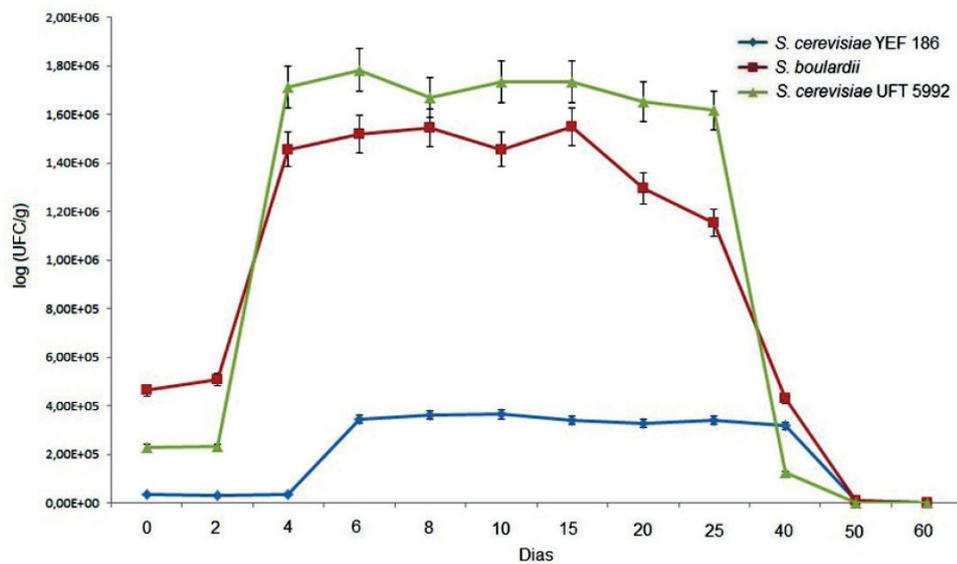
Fonte: Elaborado pelo autor.

O bicarbonato de sódio pode ter capacidade de inibir a germinação dos esporos devido à alteração do pH do meio afetando a atividade enzimática, a disponibilidade de nutrientes e a transferência de prótons através da membrana plasmática dos microrganismos (BRU et al., 2013; PIMENTA et al., 2010).

Os queijos utilizados como controle negativo (leveduras em associação ao bicarbonato de sódio) no teste de controle biológico foram submetidos ao teste de contagem populacional das leveduras para verificar o período de permanência delas sobre o produto. As figuras 16 e 17 mostram os resultados da permanência das leveduras na superfície dos queijos analisados.

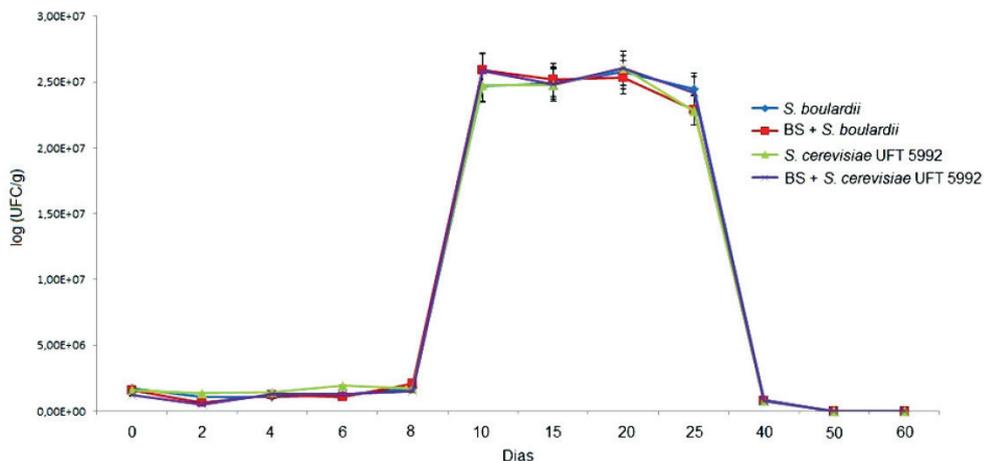
No processo de controle biológico utilizando as leveduras *S. boulardii*, *S. cerevisiae* YEF 186 e *S. cerevisiae* UFT 5992, foi possível recuperá-las por até 50 dias (Figura 16). Mesmo resultado foi obtido no controle biológico integrado com bicarbonato de sódio a 1% em que as leveduras, *S. boulardii* e *S. cerevisiae* UFT 5992 conseguiram sobreviver por 50 dias (Figura 17), mesmo com a presença do bicarbonato de sódio.

**Figura 16.** Curva de crescimento das leveduras *S. boulardii*, *S. cerevisiae* YEF 186 e *S. cerevisiae* UFT 5992 na superfície do queijo.



Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 17.** Curva de crescimento das leveduras *S. boulardii* e *S. cerevisiae* UFT 5992 e com a associação com o bicarbonato de sódio (BS) na superfície do queijo.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As leveduras antagônicas *S. boulardii* e *S. cerevisiae* UFT 5992 conseguiram permanecer viáveis na superfície do queijo por 50 dias protegendo-o, provavelmente, através da formação do biofilme. Portanto, a levedura *S. boulardii* já é considerada um probiótico por trazer benefício à saúde do consumidor, além de prolongar a vida de prateleira do queijo parmesão, como se viu neste trabalho.

Assim, as leveduras *S. boulardii*, *S. cerevisiae* YEF 186 e *S. cerevisiae* UFT 5992 apresentaram maior redução de esporos de *Penicillium roqueforti*. As substâncias GRAS bicarbonato de sódio e carbonato de sódio apresentaram 100% de controle do crescimento do fungo. Dessa forma, as leveduras selecionadas, juntamente com o bicarbonato de sódio, demonstram a possibilidade de serem empregadas em testes de controle biológico em queijo parmesão para a redução do crescimento desse fungo deteriorante.

O controle biológico integrado mostrou-se mais eficiente do que o controle biológico clássico devido ao aumento do tempo de vida de prateleira do produto e à redução por aproximadamente 18% da incidência de contaminação.

As leveduras *S. boulardii*, *S. cerevisiae* YEF 186 e *S. cerevisiae* UFT 5992 conseguiram permanecer viáveis na superfície do queijo por um período de 50 dias, reduzindo o crescimento do *P. roqueforti*.

A levedura *S. cerevisiae* YEF 186 permaneceu viável por apenas sete dias no bicarbonato de sódio, mas essa levedura reduziu em aproximadamente 18% a incidência de contaminação.

Para finalizar, vimos que a contaminação do amendoim por aflatoxinas tem causado importantes perdas econômicas, principalmente no que se refere à exportação. Sendo assim, qualquer técnica que minimize essa contaminação pode ser considerada estratégica, tanto para a saúde pública quanto para a economia. Atualmente, as metodologias mais frequentemente utilizadas para a prevenção da produção de aflatoxinas se baseiam na utilização de cultivares mais resistentes ao fungo, aplicação de defensivos agrícolas e monitoramento das condições ambientais de estocagem. No entanto, o uso de cultivares resistentes não tem sido capaz de reduzir a contaminação pós-colheita e o uso de defensivos químicos vem sendo cada vez mais limitado devido ao surgimento de cepas resistentes. O controle das condições de estocagem, apesar de reduzir a contaminação por patógenos, implica investimentos consideráveis para sua implantação e manutenção. Esta revisão buscou estabelecer novas técnicas de controle da produção de aflatoxinas durante o armazenamento do amendoim, sempre levando em consideração a sustentabilidade dos processos. Sendo assim, a utilização de métodos de controle eficientes e seguros poderá preencher a lacuna entre a eficiência de métodos dispendiosos, como o controle das condições de estocagem; e tóxicos, como a utilização de defensivos agrícolas, e ampliar as alternativas de controle disponíveis na atualidade.

## Referências

- ASSIS, S.M.P.; MARIANO, R.L.R.; MICHEREFF, S.J.; SILVA, G.; MARANHÃO, E.A.A. Antagonism of yeasts *Xanthomonas campestris* PV. *Campestris* on *Cabbage phylloplane* in field. *Rev. Microbiol.*, 30, p. 191-195, 1999.
- BODEGA, F.M.A., MAURIZ, E.; GÓMEZ, A., MARTÍN, J.F. Proteolytic activity, mycotoxins and andrastin A in *Penicillium roqueforti* strains isolated from Cabrales, Valdeón and Bejes–Tresviso local varieties of blue-veined cheeses. *International Journal of Food Microbiology*. 136, nº1, p.18-25, 2009.
- BRU, L.V., OBSZYNSKI, C.M., SAMSOEN, M., SABOU, M., WALLER, J., CANDOLFI, E. Antifungal Activity of Sodium Bicarbonate Against Fungal Agents Causing Superficial Infections. *Mycopathologia*. 173, p. 153-158, 2013.
- FALLANAJ, F., IPPOLITO, A., LIGORIO, A., GARGANESE, F., ZAVANELLA, C., SANZANI, S.M. Electrolyzed sodium bicarbonate inhibits *Penicillium digitatum* and induces defence responses against green mould in citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 115, p. 18-29, 2016.
- FERREIRA, E.M.S., MALTA, C.M., COELHO, C.M., PIMENTA, R.S. Substâncias GRAS no controle do crescimento de *Colletotrichum Gloeosporioides* e *Fusarium guttiforme* *in vitro*. *Journal of Bioenergy and Food Science*. 2, nº 4, p. 183-188, 2015.
- FONTAINE, K., HYMERY, N., LACROIX, M., PUEL, O., RIGALMA, K., GAYDOU, V.; COTON, E., MOUNIER, J. Influence of intraspecific variability and abiotic factors on mycotoxin production in *Penicillium roqueforti*. *International Journal of Food Microbiology*. 215, p.187-193, 2015.
- GENG, P., CHEN, S., HU, M., HAQ, M.R., LAI, K., QU, F., ZHANG, Y. Combination of *Kluyveromyces marxianus* and sodium bicarbonate for controlling green mold of citrus fruit. *International Journal of Food Microbiology*., 151: 190-194, 2011.
- HERRERO, C.M., RAMÍREZ, P.A.M., PALOU, L. Evaluation of sodium benzoate and other food additives for the control of citrus postharvest green and blue molds. *Postharvest Biology and Technology*, 115, p. 72-80, 2016.
- HYMERY, N., VASSEUR, V., MONIKA, C., MOUNIER, J., JANY, J.L., BARBIER, G., COTON, E. Filamentous Fungi and Mycotoxins in Cheese: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, nº4, p. 437-456, 2014.
- KURE, C.F., SKAAR, I., BRENDEHAUG, J. Mould contamination in production of semi-hard cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 93, nº1, p. 41-49, 2004.
- LAI, T., BAI, X., WANG, Y., ZHOU, J., SHI, N., ZHOU, T. Inhibitory Effect Of Exogenous Sodium Bicarbonate On Development and Pathogenicity Of Postharvest Disease *Penicillium expansum*. *Scientia Horticulturae*, 187, p.108-114, 2015.
- LAY, C.L., MOUNIER, J., VASSEUR, V., WEILL, A.; BLAY, G., BARBIER, G., COTON, E. *In vitro* and *In situ* Screening of Lactic Acid Bacteria and Propionibacteria Antifungal Activities Against Bakery Product Spoilage Molds. *Food Control*. 60, p. 247-255, 2016.

LIU, S.Q. e TSAO, M. Biocontrol of Dairy Moulds by Antagonistic Dairy Yeast *Debaryomyces hansenii* in Yoghurt and Cheese at Elevated Temperatures. Food Control. 20, nº 9, p. 852-855, 2009.

PALOU, L., ALI, A., FALLIK, E., ROMANAZZI, G. GRAS, Plant- And Animal-Derived Compounds as Alternatives To Conventional Fungicides for the Control of Postharvest Diseases of Fresh Horticultural Produce. Postharvest Biology and Technology. 122, p. 41-52, 2016.

PARAFATI, L., VITALE, A., RESTUCCIA, C., CIRVILLERI, G. Biocontrol Ability and Action Mechanism of Food-Isolated Yeast Strains Against *Botrytis cinerea* Causing Post-Harvest Bunch Rot of Table Grape. Food Microbiology. 47, p. 92-95, 2015.

PIMENTA, R.S.; SILVA, J.F.M.; COELHO, C.M.; MORAIS, P.B.; ROSA, C.A.; CORRÊA, A.J. Integrated Control Of *Penicillium digitatum* By The Predacious Yeast *Saccharomycopsis Crataegensis* And Sodium Bicarbonate On Oranges. Brazilian Journal of Microbiology. 41, p. 404-410, 2010.

PLATANIA, C.; RESTUCCIA, C.; MUCCILLI, S.; CIRVILLERI, G. Efficacy of killer yeasts in the biological control of *Penicillium digitatum* on Tarocco orange fruits (*Citrus sinensis*). Food Microbiology. 30 nº1, p. 219-225, 2012.

PRICE, E.J., LINFORTH, R.S.T., DODD, C.E.R., PHILIPS, C.A., HEWSON, L., HORT, J., GKATZIONIS, K. Study of the Influence of Yeast Inoculum Concentration (*Yarrowia lipolytica* and *Kluyveromyces lactis*) on Blue Cheese Aroma Development Using Microbiological Models. Food Chemistry. 145, p 464-472, 2014.

ROPARS, J., VEGA, R.C.R., VILLAVICENCIO, M.L., GOUZY, J., SALLET, E., DUMAS, E., LACOSTE, S., DEBUCHY, R., DUPONT, J., BRANCA, A., GIRAUD, T. Adaptive Horizontal Gene Transfers between Multiple Cheese-Associated Fungi. Current Biology. 25, nº19, p 2562-2569, 2015.

SILVA, J.F.M., PELUZIO, J.M., PRADO, G., MADEIRA, J.E.G.C., SILVA, M.O., MORAIS, P.B., ROSA, C.A., PIMENTA, R.S., NICOLI, J.R. Use of Probiotics to Control Aflatoxin Production in Peanut Grains. Hindawi Publishing Corporation. p.1-8, 2015. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/959138>.

SWINNEN, S., HO, P.W., KLEIN, M., NEVOIGT, E. Genetic Determinants for Enhanced Glycerol Growth of *Saccharomyces cerevisiae*. Metabolic Engineering. 36, p. 68-79, 2016.

VALE, F.X.R.; FERNANDES, F.E.I.; LIBERATO, J.R. QUANT – A Software for Plant Disease Severity Assessment. 8th International Congress of Plant Pathology, Christchurch, New Zealand. 2003.

YAO, H., TIAN, S., WANG, Y. Sodium bicarbonate enhances biocontrol efficacy of yeasts on fungal spoilage of pears. International Journal of Food Microbiology; 93 p. 297-304, 2004.

YOUSSEF, K., LIGORIO, A., SANZANI, S.M., NIGRO, F., IPPOLITO, A. Control of storage diseases of citrus by pre- and postharvest application of salts. Postharvest Biology and Technology. 72, p. 57-63, 2012.

YU, T., TU, C.; LU, H., ZUNUN, M., CHEN, F., ZHOU, T., SHENG, K., ZHENG, X. Effect of *Cryptococcus laurentii* and calcium chloride on control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* infections in pear fruit. Biological Control. 61, nº2, p. 69-175, 2012.

## Capítulo 3: Processamento preliminar para extração do gel da folha de *aloe vera*

Julliany Lopes Dias

Gabriela Eustáquio Lacerda

Guilherme Nobre Lima do Nascimento

Géshica Soares Souza

Rodolfo Castilho Clemente

A *Aloe vera* (L) Burm. f. pertence à família *Xanthorrhoeaceae* e ao gênero *Aloe* que inclui mais de 400 espécies. Suas folhas são verdes, grossas, dispostas de forma alternada simples, alongadas, acuminadas, suculentas, com bordas envoltas de fortes dentes espinhosos. Medem de 30 a 60 centímetros de comprimento e suas flores são vistosas, apresentam tonalidade branco-amarelada em formato tubular (LORENZI; MATOS, 2008; PARENTE *et al.*, 2013).

Popularmente chamada de babosa, aloe, aloe-de-barbados e aloe-de-curaçao, na literatura científica é encontrada com as sinonímias *Aloe barbadensis* Mill. *Aloe barbadensis* var. *chinensis* Haw. *Aloe perfoliata* var. *vera* L., *Aloe chinensis* Bak. e *Aloe vera* var. *chinensis* Berger (LORENZI; MATOS, 2008; PALHARIN *et al.*, 2008).

De acordo com parente *et al.* (2013), a *A. vera* é nativa do norte da África, onde habita desertos e estepes africanas e adota a forma de cacto. Ela precisa de luz solar direta e de solo bem drenado. Como é uma planta originária de regiões desérticas, ela consegue sobreviver bem em habitats hostis. Por isso se adaptou bem a diversas outras regiões do mundo, especialmente ao Cerrado brasileiro.

Suas folhas são estratificadas em duas partes principais: uma exterior, composta pela casca verde que inclui os feixes vasculares; e outra que forma o tecido interior de aspecto mucilaginoso e incolor (LORENZI; MATOS, 2008; FREITAS; RODRIGUES; GASPI, 2014).

O extrato do parênquima de reserva dessa planta, denominado gel de *A. vera*, apresenta vasta gama de compostos que possuem atividades farmacológicas de interesse medicinal, entre as quais: ação cicatrizante, antibacteriana, antifúngica, antivirótica, antitumoral e hipoglicemiante (BRASIL, 2010; GODINHO, 2014; RAMOS, PIMENTEL, 2011).

Muitas substâncias foram identificadas no gel de *A. vera*, além de aproximadamente 99,5% de água. As substâncias incluem uma combinação de polissacarídeos e derivados acetilados de polissacarídeos, glicoproteínas, antraquinonas, flavonoides, taninos, esteroides, aminoácidos, enzimas, saponinas, proteínas, vitaminas e minerais, como ferro, potássio, manganês e sódio (FOSTER; HUNTER; SAMMAN, 2014; HAMMAN, 2008).

As folhas apresentam também um exsudato amarelado formado principalmente por derivados antraquinônicos, como a aloína e a emodina (SACCÙ; BOGONI; PROCIDA, 2001).

Numerosas atividades biológicas foram atribuídas a *A. vera* ao longo dos anos; isso provavelmente se deve à combinação dos diversos ativos em sua composição (FREITAS; RODRIGUES; GASPI, 2014; PEREIRA *et al.*, 2014).

Entretanto é importante ressaltar que a sazonalidade interfere em sua composição. Assim, ocorrem diferenças na constituição química dependendo das condições climáticas, da região, do tempo de colheita e do estado de crescimento da planta. Denotam-se discrepâncias

entre os resultados dos estudos quanto às atividades biológicas de folhas de diferentes localidades (ALCÂNTARA; BEZERRA; CARVALHO, 2014; HAMMAN, 2008).

A planta possui mais de 75 componentes com potencial ação farmacêutica e tem as moléculas ativas distribuídas tanto no gel quanto na casca da folha. (FOSTER; HUNTER; SAMMAN, 2011; SILVA et al., 2013; TOMASIN, 2014). Possui conhecidamente ação cicatrizante em lesões de pele como queimaduras, ação antibacteriana, antifúngica, antivirótica, laxativa, imunomoduladora e antitumoral. Também apresenta ação antioxidante e boa ação em diabéticos por conter fitoesteróis em seu extrato (FOSTER; HUNTER; SAMMAN, 2011; RAKSHA; POOJA; BABU, 2014). Silva et al. (2013) informam que a *Aloe vera* tem sido usada como planta medicinal com uso interno e externo e é encontrada em diversos produtos cosméticos e de higiene pessoal.

Em relação à sua toxicidade, foram relatados casos de hepatite aguda e também foram observados alguns sintomas como cólicas, náuseas e diarreia com o consumo de preparações orais contendo *A. vera* (FREITAS; RODRIGUES; GASPI, 2014). Em face desses relatos, a ANVISA não recomenda a ingestão oral (BRASIL, 2011). Encontram-se relatos de dermatite de contato e sensação de queimação em decorrência do uso tópico de gel de *A. vera*. Possivelmente, essas reações devem-se à presença de resíduos de antraquinonas no gel utilizado (BRASIL, 2016). Ainda não há relatos em estudos que determinem absorção, distribuição, metabolismo ou excreção de gel de *Aloe vera* aplicado topicamente (IARC, 2016).

Amplamente utilizada pela população pelas propriedades medicinais, a extração do gel é simples, entretanto alguns cuidados devem ser realizados para reduzir o alto teor de antraquinona presente no látex, bem como contaminação por microrganismos e exposição prolongada à luz e a elevadas temperaturas, fatores que podem induzir a oxidação e consequente perda do material coletado.

## **Processamento preliminar**

Segundo Godinho (2014) e Reynolds (2004), o processamento de folhas de *A. vera* pode ser separado em três fases principais: preliminar, intermediária e final, que se subdividem em etapas cujo rigor na execução interfere na qualidade do produto final.

Embora outras fases estejam envolvidas no processamento, são foco deste capítulo os procedimentos relativos prioritariamente ao processamento preliminar da folha, tendo em vista a escassez de material que enfatize os métodos, bem como a necessidade de equalização das condutas empregadas em condições que solicitam rigor metodológico.

Considera-se processamento preliminar todo o processo executado da coleta à obtenção do gel que, conforme Reynolds (2004), consiste nas etapas de coleta, limpeza, sanitização, remoção da casca das folhas e trituração da polpa da planta.

### **Etapa – I: Coleta**

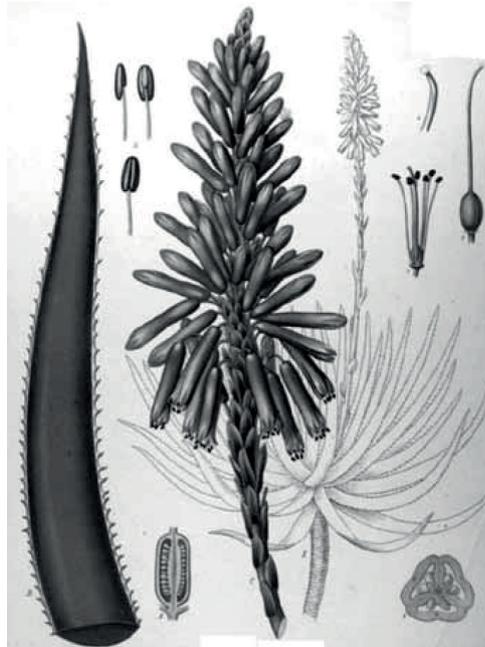
Um fator importante que deve anteceder a coleta é a identificação botânica, na qual as características da espécie a ser coletada devem ser observadas.

Importante ressaltar que muitas são as plantas da espécie *Aloe*, entretanto, cientificamente, apenas quatro tipos têm demonstrado propriedades medicinais, que são,

conforme Vega et al., (2005), *Aloe barbadensis* Miller, *Aloe perryi* Baker, *Aloe ferox* e *Aloe arborescens*.

As figuras 1 e 2 mostram as características botânicas da *Aloe vera* e a imagem real da planta.

**Figura 1.** Desenho das características botânicas da *Aloe vera*.



Fonte: PARENTE et al. (2013).

**Figura 2.** *Aloe vera* no município de Palmas/TO.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Identificada a planta, devem ser coletadas folhas maduras de *Aloe vera* por meio de um corte transversal na base das folhas (Figura 3). Escolha as folhas posicionadas mais externamente (REYNOLDS, 2004). Segundo Freitas, Rodrigues e Gaspi (2014), a *A. vera* demora de quatro a cinco anos para atingir a maturidade.

**Figura 3.** Coleta da folha da *A. vera*



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

Nas espécies medicinais, a produção de substâncias com atividades terapêuticas pode apresentar variabilidade de acordo com fatores climáticos e de formas de cultivo. O ponto de colheita varia de acordo com o órgão da planta, estágio de desenvolvimento, época do ano e hora do dia. Assim, o ponto de colheita recomendado para folhas é antes da floração, pelos aspectos hormonais que afetam os princípios ativos, e quanto ao horário de coleta, elege preferencialmente aquele em que não haja incidência direta de raios solares (RODRIGUES, 2004).

Deve-se evitar a colheita de plantas doentes, com manchas fora do padrão, órgãos deformados ou outros defeitos (RODRIGUES, 2004). Além disso, Nascimento (2006) sugere que a planta não seja regada por cinco dias antes de sua colheita, para que se concentrem seus princípios ativos.

Após a colheita, as folhas devem ser transportadas até o local de processamento em recipiente limpo e fechado (RODRIGUES, 2004). Recomenda-se que as folhas fiquem posicionadas verticalmente para propiciar a drenagem do látex.

## Etapa - II: Limpeza

Após a coleta, as folhas devem ser submetidas ao procedimento de lavagem em água corrente, a fim de promover a retirada de resíduos, como terra e insetos (Figura 4).

**Figura 4.** Lavagem da folha de *A. vera* em água corrente.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

## Etapa - III: Sanitização

McAnalley (1988) apud Godinho (2014) propõe a sanitização do material coletado com o intuito de reduzir a contaminação por microrganismos. No processo (Figura 5), utiliza-se solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm, por cinco minutos. Logo após, as folhas serão enxaguadas com água destilada para retirar o excesso de solução sanitizante e mantidas em recipiente para secagem.

**Figura 5.** Folhas de *A. vera* imergidas em água com solução sanitizante.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

#### Etapa - IV: Filetagem e extração do gel

As folhas limpas devem ser filetadas para obtenção do conteúdo mucilaginoso do interior. A fim de padronizar o processo, este manual interpõe o manejo para corte das folhas.

Com o auxílio de uma faca serreada, faz-se um corte transversal da base à ponta da folha, de modo que possam ser retiradas as áreas de contato e de pouco conteúdo do gel, respectivamente, seguido de um corte longitudinal nas bordas da folha para realizar a remoção dos espinhos (Figura 6).

**Figura 6.** Sequência de cortes para remoção de espinhos das bordas da *A. vera*.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

Para expor o conteúdo gelatinoso e facilitar a execução da próxima etapa, corte a folha ao meio transversalmente e depois longitudinalmente, separando a folha em quatro partes (Figura 7).

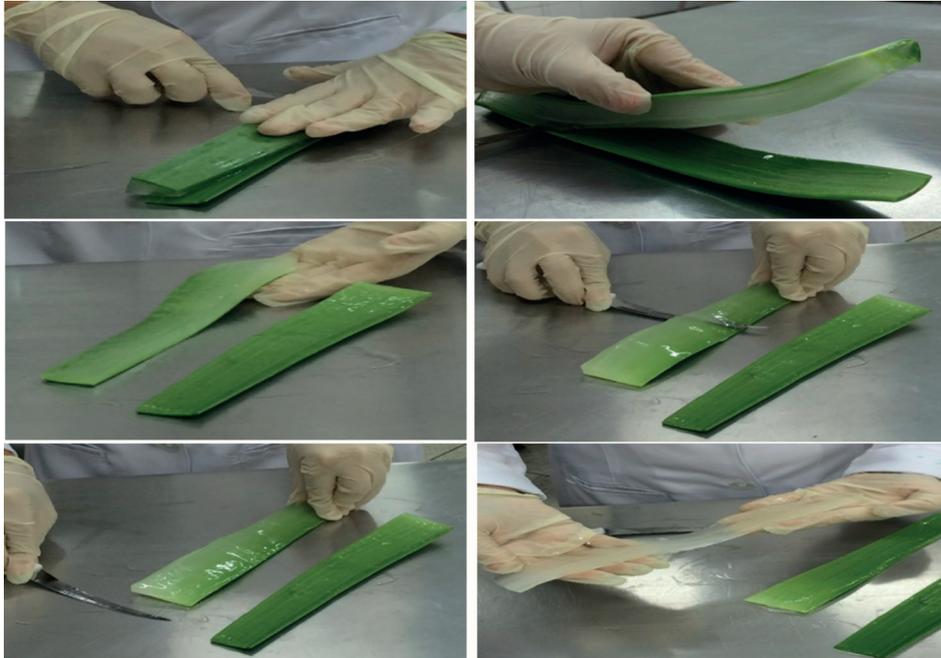
**Figura 7.** Sequência do corte longitudinal e transversal da folha da *A. vera*.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

Filetada a folha, a faca deve ser colocada paralelamente à casca; corte a folha separando-a do gel em ambos os lados. Após essa etapa o gel extraído deve ser acondicionado em um recipiente. (Figura 8).

**Figura 8.** Extração do gel da folha de *Aloe vera*



Fonte: Elaborado pelo autor.

### Etapa - V – Trituração e acondicionamento do gel

Após separação da casca, liquidifique o gel a fim de romper as fibras. Acondicione o material homogeneizado em frascos estéreis (Figura 9).

**Figura 9.** Gel da folha de *Aloe vera* acondicionado em frascos estéreis



Fonte: Elaborado pelo autor.

Após colheita e processamento das folhas para obtenção do gel, deve-se providenciar uma forma de armazenamento e conservação com o intuito de evitar oxidação e contaminação microbiológica do material. Diversas técnicas podem ser empregadas para conservação do gel de *Aloe vera*, a saber a área cujo uso será empregado, haja vista sua notória utilização como matéria prima nos setores alimentício, cosmético e farmacêutico.

Nessa perspectiva, os métodos de pasteurização e desidratação são muito utilizados na indústria, porém o tratamento do gel com temperaturas acima de 60° C pode provocar perda de alguns compostos (FEMENIA et al. 2003; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ et al. 2011). A conservação através do frio, por refrigeração ou congelamento, também é bastante empregada, assim como conservantes de alimentos usados como forma de garantir qualidade e durabilidade do produto final. A filtração através de membranas é utilizada em escala laboratorial para pequenos volumes, fazendo, dessa forma, o controle biológico do gel.

Outra forma de se conservar o gel de *Aloe vera* é através da liofilização, que, segundo Marques (2008), é um processo de estabilização no qual uma substância é previamente congelada e então a quantidade de solvente (geralmente água) é reduzida, primeiro por sublimação e posteriormente por dessorção, para valores tais que impeçam atividade biológica e reações químicas; e passam pelos processos de congelamento inicial, secagem primária e secagem secundária. Sua importância se dá por ser o método que melhor mantém os componentes farmacológicos da planta.

Para concluir, vimos que cada etapa do processamento preliminar deve ser realizada minuciosamente a fim de assegurar a qualidade do material coletado. Além disso, é importante enfatizar que tão rigoroso quanto o processamento inicial devem ser as etapas seguintes do processo, denominadas fases intermediária e final. Essas etapas são competentes pela análise microbiológica, conservação e disposição final do produto, cuja finalidade de uso é o determinante para as demais etapas do processo.

## Referências

- ALCÂNTARA, J.R.; BEZERRA, A.N.; CARVALHO, N.S. Aplicações clínicas do uso de Aloe vera e relatos de toxicidade. **Nutrivisa**, v.1, n. 3, p.27-34, 2014.
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 5ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2010.
- BRASIL, Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA). **Informe Técnico nº. 47** de 16 de novembro de 2011.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Momento Fitoterápico:** Farmacopeia Brasileira. 1 ed., 2016.
- FEMENIA, A. et al. **Effects of heat treatment and dehydration on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from Aloe Barbadosis Miller**. Carbohydrate Polymers, v.51, n.4, p.397-405, 2003.
- FREITAS, V.S.; RODRIGUES, R.A.F.; GASPI, F.O.G.. **Propriedades farmacológicas da Aloe vera (L.) Burm. F.** Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.16, n.2, p.299-307, 2014.
- FOSTER, M.; HUNTER, D; SAMMAN, S. **Evaluation of the Nutritional and Metabolic Effects of Aloe vera**. In: Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. NCBI, 2ed. Disponível na Internet via: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92765/?report=reader>. Acesso em 02/12/2014.
- GODINHO, J.F.. **Hidrogéis de Celulose Bacteriana Incorporados com Frações de Aloe Vera**. Dissertação. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2014.
- HAMMAN, J.H. Composition and applications of Aloe vera leaf gel. **Molecules**. v.13, n. 8, p. 1599-1616, 2008.
- IARC. **Aloe vera**. In: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans vol. 108, p.37-71, 2016.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil - Nativas e exóticas**. 2.ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2008. 244p.
- MARQUES, L. G. **Liofilização de frutas tropicais**. 2008. 255p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, SP, 2008.
- NASCIMENTO, L. C. Aloe vera. **Arte Méd Ampl**. v.26, n. 1-2, p. 38-42, 2006.
- PALHARIN, L. H. D. C.; NETO, E. F.; LOPES, M.P. C.; ASCÊNCIO, F.; BOSQUÊ, G. G. Efeitos fitoterápicos e homeopáticos da babosa. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. VII, n.14, 2008.
- PARENTE, L. M. L.; CARNEIRO, L. M.; TRESVENZOL, L. M. F.; GARDIN, N. E. Aloe vera: características botânicas, fitoquímicas e terapêuticas. **Arte Méd Ampl**, vol. 33, n.4, p.160-4, 2013.

RAKSHA, B.; POOJA, S.; BABU, S.. Bioactive compounds and medicinal properties of *Aloe vera* L.: An update. **Journal of Plant Sciences**, 2(3): 102-107, 2014.

RAMOS, A. P.; PIMENTEL, L. C. Ação da Babosa no reparo tecidual e cicatrização. **Brazilian Journal of Health**. v. 2, n. 1, p. 40-48, 2011.

REYNOLDS, T. **Aloe: the genus Aloe**. Boca Raton, Fla; London: CRC Press, 2004, 386p.

RODRÍGUEZ-GONZALES, V.M. et al. **Effects of pasteurization on bioactive polysaccharide acemannan and cell wall polymers from *Aloe barbadensis* Miller**. Carbohydrate Polymers, v.86, n.4, p.1675-83, 2011.

RODRIGUES, V. G. S. **Cultivo, uso e manipulação de plantas medicinais**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2004. 25 p.

SACCÙ, D.; BOGONI, P.; PROCIDA, G. Aloe exudate: characterization by reversed phase HPLC and headspace GC-MS. **J Agric Food Chem**. v. 49, n.10, p. 4526-30, 2001.

SILVA, S.S.; POPA, E.G.; GOMES, M.E; CERQUEIRA, M.; MARQUES, A.P.; CARIDADE, S.G.; TEIXEIRA, P.; SOUSA, C.; MANO, J.F.; REIS, R.L. An investigation of the potential application of chitosan/aloe-based membranes for regenerative medicine. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n.6, p. 6790-6797, 2013.

TOMASIN, R. **Efeitos Terapêuticos do Homogeneizado de Aloe Vera e Mel Sobre o Crescimento e Atividade Celular do Carcinossarcoma de Walker 256**. Campinas, 2010. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, 2010.

VEGA G, A. et al. El Aloe vera (*Aloe Barbadensis* Miller) como componente de alimentos funcionales. **Rev. chil. nutr.**, Santiago , v. 32, n. 3, p. 208-214, dic. 2005 .

# 3

## BIOTECNOLOGIA APLICADA À INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

### Capítulo 1: Frutossiltransferase e invertase: conceitos, fontes de produção e aplicações em alimentos

*Ryhára Dias Batista  
Fabrício Coutinho de Paula  
Alex Fernando de Almeida*

A existência da vida pode ser fundamentada pela capacidade de se replicar e de catalisar reações químicas. As enzimas são moléculas proteicas capazes de catalisar reações que garantem a manutenção da vida. Desde meados do século XIX as enzimas são utilizadas na produção de alimentos, porém a partir do século XX seu uso em processos industriais se popularizou devido ao domínio das técnicas de produção e à sua capacidade de acelerar reações químicas sem produzir subprodutos indesejáveis, com alta especificidade, serem biodegradáveis e obtidas a partir de fontes de energia renováveis.

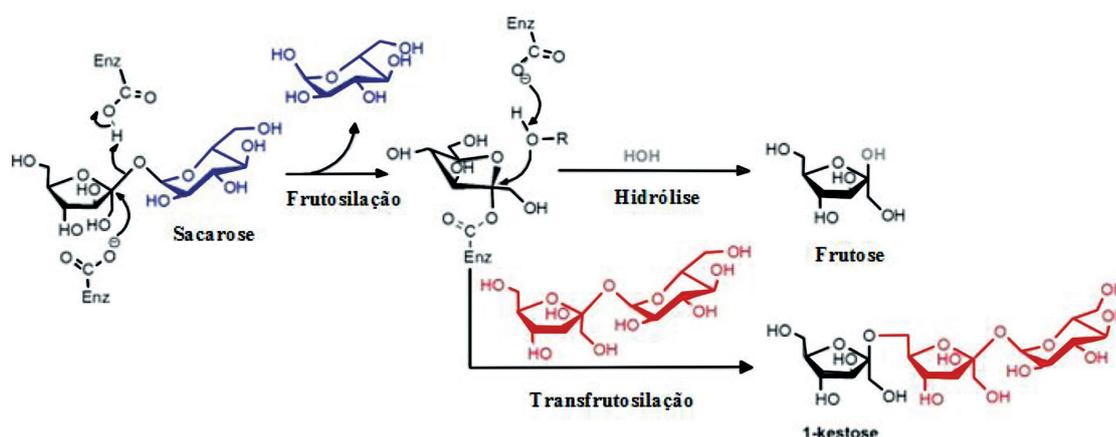
O mercado enzimático tem apresentado crescimento contínuo e significativo nos últimos anos devido à variada e expansiva oferta de aplicações industriais, especialmente nos setores médico e farmacêutico, têxtil, de papel e celulose, de detergentes e de alimentos (GRAND VIEW RESEARCH, 2016). O crescimento global do mercado enzimático tende a superar a marca dos US\$ 6,3 bilhões em 2021. Apesar de as tendências de mercado preverem aumento significativo da produção de enzimas técnicas com enfoque daquelas aplicadas à indústria de papel, couro e biocombustíveis, as enzimas voltadas à indústria alimentícia são responsáveis pela maior parte do mercado enzimático, estimado em US\$ 1,6 bilhões em 2018, com projeção de aumento para US\$ 1,9 bilhões em 2021 (DEWAN, 2017). Nesse sentido, enzimas são uma alternativa a tecnologias convencionais baseadas na síntese química tradicional para a produção de alimentos. O Departamento de Assuntos Econômicos e Sociais das Nações Unidas (UNDESA) afirma que a demanda por alimentos aumentará 70% até 2050, seguindo o crescimento da população mundial. Nesse contexto, a aplicação de enzimas nas indústrias alimentícias será de suma importância para suprir as

necessidades do mercado. Entre as enzimas aplicadas à indústria de alimentos, destacam-se as frutossiltransferases e invertases microbianas, as quais vêm sendo principalmente aplicadas na produção de prebióticos e açúcar invertido.

## Frutossiltransferase

A enzima frutossiltransferase (FTase, E.C. 2.1.4.9) pertence à classe das transferases por possuir atividade de transfrutossilacção em altas quantidades de sacarose, hidrolisando a sacarose nas ligações  $\beta$ -(1-2) e transferindo o radical frutossil para outra molécula de sacarose, formando os frutoligossacarídeos (FOS) e liberando glicose (Figura 1). Os FOS têm a estrutura genérica GF<sub>n</sub> (onde G refere-se a uma molécula de glicose e F<sub>n</sub> ao número de unidades de frutose). Exemplos de FOS são: 1-kestose (GF<sub>2</sub>), 1-nistose (GF<sub>3</sub>) e 1<sup>F</sup>- $\beta$ -frutofuranosilnistose (GF<sub>4</sub>).

**Figura 1.** Mecanismo de hidrólise e de transfrutossilacção da enzima FTase



Fonte: JITONNOM et al., 2018.

As FTase microbianas apresentam as atividades de transferase e de hidrolase, ocorrendo a transferência do grupo frutossil para a molécula de sacarose ou para um frutooligossacarídeo de cadeia mais longa (JITONNOM et al., 2018). A FTase apresenta baixa afinidade pela água como acceptora de elétrons, significando que a atividade de hidrólise da FTase é muito baixa. O rendimento de FOS preparados por ação de FTases é geralmente alto, mesmo em soluções de substrato diluído. A posição da ligação glicosídica entre o resíduo frutossil na cadeia do oligômero resultante depende da regioesletividade da FTase.

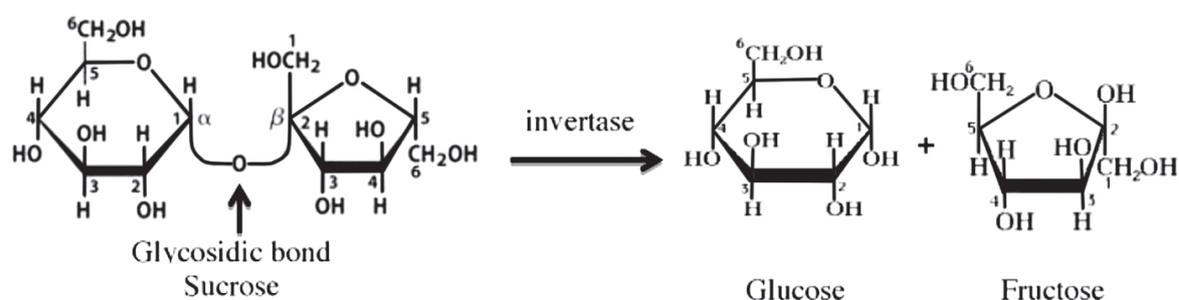
## Invertase

Invertase, ou  $\beta$ -D-fructofuranosidase (FFase, EC 3.2.1.26), pertence à classe das glicosil hidrolases, responsável por hidrolisar as ligações glicosídicas da sacarose; em altas concentrações desse substrato pode exibir atividade significativa de transfrutossilacção. Essa família inclui mais de 370 membros de origem vegetal, fúngica e bacteriana, podendo ser

extracelular ou intracelular, agrupados em diferentes isoformas de acordo com o seu ponto isoelétrico (LINCOLN; MORE, 2017).

Em concentrações menores que 10% (p/v) de sacarose, a invertase catalisa a hidrólise desse substrato e resulta em uma mistura equimolar de D-glicose e D-frutose comumente conhecida como solução de açúcar invertido. As leveduras produzem uma invertase do tipo  $\beta$ -fructosidase, a qual cliva a sacarose na extremidade correspondente à frutose, enquanto os fungos produzem uma invertase do tipo  $\alpha$ -glicosidase, que por sua vez hidrolisa esse açúcar a partir da extremidade da glicose (GUO et al., 2018) (Figura 2). A solução de açúcar invertido é assim chamada, pois, ao ser submetida ao polarímetro, desvia o feixe de luz polarizada para a esquerda (levogira), enquanto a solução de sacarose desvia o feixe de luz para a direita (dextrógira) (NADEEM et al., 2015).

**Figura 2.** Mecanismo de ação da enzima invertase



Fonte: NADEEN et al., 2015.

Em concentrações de sacarose superiores a 10% (p/v), a invertase apresenta atividade de transfrutoseilação formando os FOS. Segundo Alberto et al. (2004), a atividade de transfrutoseilação da invertase indica que a enzima atua na molécula com um mecanismo de retenção global da configuração anomérica. Os dois mecanismos de ação da invertase envolvidos na produção dos FOS são hidrólise reversa e a transglicosilação. Na hidrólise reversa, um complexo enzimático é ativado e formado; em seguida, esse complexo reage com um grupo hidroxila proveniente de uma molécula de água (hidrólise) ou da sacarose (hidrólise reversa), sendo o último o aceptor utilizado para a formação de FOS. É importante ressaltar que o aumento da concentração do substrato e a diminuição da atividade da água podem aumentar o rendimento final da produção de FOS.

No processo de transglicosilação, um grupo frutossil é transferido de um doador ativo (sacarose) para um aceptor apropriado. A reação ocorre em duas etapas quando o complexo ativo doador-enzima é formado para ocorrer a formação dos FOS. É importante ressaltar que a transglicosilação é um processo cineticamente controlado e a concentração dos FOS depende das taxas de reações de síntese e hidrólise, além da concentração de sacarose.

## Fontes microbianas para produção de frutossiltransferase e invertase

As enzimas FTase e invertase são produzidas nas formas intra e extracelular por diversos microrganismos, como bactérias, leveduras e fungos (Tabela 1). Além de microrganismos, tanto a FTase quanto a invertase podem ser encontradas em plantas, como cebola, aspargos e alcachofra de Jerusalém (MUNIZ-MÁRQUEZ et al., 2015). Porém, o uso de microrganismos para a produção de enzimas é mais contemplado pelo alto rendimento, grande variedade de atividades catalíticas, facilidade de manipulação genética, por serem mais estáveis à variação de temperaturas em relação às plantas, além dos monossacarídeos produzidos apresentarem aroma semelhante ao da sacarose. (SIVAKUMAR et al., 2014; NADEEM et al., 2015).

## Métodos fermentativos para produção de FTase e invertase

Os microrganismos produtores de enzimas são geralmente cultivados sob estado submerso e no estado sólido. O cultivo submerso tem como vantagens facilidade de manuseio, maior controle de parâmetros de cultivo, como temperatura e pH, facilidade na esterilização do meio de fermentação com maior controle do processo, garantindo maior disponibilidade de nutrientes, fornecimento de oxigênio, menos tempo de cultivo comparado ao cultivo em estado sólido, sendo uma tecnologia com menor custo e maior produtividade por volume (NADEEM et al, 2015; UDAY et al., 2015). Além disso, cerca de 90% de todas as enzimas industriais são produzidas por CSm, técnica normalmente escolhida para atender à demanda de preparações enzimáticas mais puras.

**Tabela 1.** Exemplos de linhagens de fungos, leveduras e bactérias produtores de FTase e invertase

FUNGO FILAMENTOSO			
FTase	Autor	Invertase	Autor
<i>Aspergillus flavus</i> NFCCI	Ganaie et al. (2017)	<i>A.niger</i> OSH5	Al-Hagar et al. (2015)
<i>Penicillium citrinum</i> MTCC	Rawat et al. (2015)	<i>Fusarium graminearum</i>	Gonçalves et al. (2016)
<i>Aspergillus oryzae</i>	Muniz-Márquez et al. (2016)	<i>Aspergillus niveu</i>	Fernandes et al. (2018)
<i>Aureobasidium pullulans</i> NAC8	Ademakinwa et al. (2017)	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Uma et al. (2012)
<i>Aspergillus japonicas</i>	Jitonnom et al. (2018)	<i>Penicillium citreonigrum</i>	Nascimento et al. (2016)

LEVEDURA			
FTase	Autor	Invertase	Autor
<i>Candida utilis</i>	Ghazi et al. (2007)	<i>Candida guilliermondii</i>	Plascencia-Espinosa et al. (2014)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Sangeetha et al. (2005b)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> SAA- 612	Bhalla et al. (2017)
<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i>	Spohner & Czermak (2016)	<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i>	Linde et al. (2003)
<i>Rhodotorula sp</i>	Aguiar-Oliveira & Maugeri (2010)	<i>Candida carpophila</i>	Melo (2017)
BACTÉRIA			
FTase	Autor	Invertase	Autor
<i>Bacillus macerans</i> EG-6	Sangeetha et al. (2005b)	<i>Bacillus cereus</i>	Lincoln & More (2017)
<i>Arthrobacter sps.</i>	Sangeetha et al. (2005b)	<i>Bifidobacterium breve</i>	Lincoln & More (2017)
<i>Zymomonas mobilis</i>	Beker et al. (2002)	<i>Lactobacillus brevis</i>	Awad et al. (2013)

Fonte: Elaborado pelo autor.

O cultivo em estado sólido apresenta vantagens, como alta produtividade volumétrica, maior concentração de enzimas, exigência de equipamentos de fermentação de baixo custo, baixo investimento de capital e custos operacionais, além de ser menos favorável ao crescimento de contaminantes e possibilitar a formação de produtos concentrados com processos de separação mais simplificados comparado ao cultivo submerso. Entretanto, esse tipo de fermentação apresenta dificuldades no controle de processos, durante a produção e a purificação enzimática, tais como dificuldades no controle e monitoramento do pH, temperatura, oxigênio, crescimento celular e umidade, levando a graves problemas na escala de produção (UDAY et al., 2015).

A utilização de resíduos agroindustriais para produção de enzimas como fonte de nutrientes nos meios de cultivo tem atraído a atenção do mercado especialmente do ponto de vista econômico e ambiental, pois são gerados em quantidades cada vez maiores acompanhando o aumento da expansão das atividades agrícolas. O descarte inadequado desses resíduos pode causar sérios danos ambientais, sendo o estoque e o tratamento destes muitas vezes inviáveis. Portanto, a descoberta de novas aplicações para o excedente de subprodutos e resíduos agroindustriais torna-se imperiosa por possuir características que permitem a produção de diferentes produtos de valor agregado, por exemplo a produção de enzimas (KNOB et al., 2014; OYEDEJI et al., 2017). Nesse sentido, Ganaie et al. (2017) relataram que a utilização de diferentes resíduos agrícolas (bagaço de cana-de-açúcar e casca de banana) para a produção de FTase em cultivo em estado sólido por *A. flavus* NFCCI pode fornecer altos índices de produtividade com bom rendimento na produção de frutoligossacarídeos. Outras fontes de resíduos também foram avaliadas para a produção de invertase, como casca de mandioca, bagaço de cevada, farinha de centeio, farelo de aveia, farelo de trigo e sabugo de milho (Tabela 2).

## Aplicações de FTase e Invertase

### FTase

A enzima FTase é comumente utilizada para a produção de FOS a partir da sacarose em vista da crescente demanda por alimentos mais saudáveis, pois apresenta potencial para melhorar a qualidade do sabor e as propriedades físico-químicas dos produtos alimentares e apresenta sabor doce, muito semelhante ao da sacarose, tornando-o um adoçante tradicional (MUTANDA et al., 2014). O adoçante a partir de FOS é projetado para substituir vários adoçantes da indústria de alimentos e bebidas, como xilitol, aspartame e sucralose, devido à relação custo-benefício, propriedades superiores e por ser considerado menos prejudicial quando adicionado a vários produtos em comparação aos seus outros homólogos.

**Tabela 2.** Produção de FTase e invertases microbianas utilizando diversas fontes de carbono na fermentação submersa e em estado sólido.

CSM				
Fonte de carbono	Microrganismo	Enzima	Produção volumétrica	Autor
Farelo de trigo	<i>A. phoenici</i>	Invertase	109,87 U/mg	Rustiguel et al. (2015)
Bagaço de cana de açúcar	<i>A. flavus</i> NFCCI	FTase	176,86 U/gss	Ganaie et al. (2017)
Espiga de milho esmagada	<i>A. phoenicis</i>	Invertase	6,9 U/mg	Rustiguel et al. (2015)
Casca de banana	<i>A. flavus</i> NFCCI	FTase	102,60 U/gss	Ganaie et al. (2017)
Casca de mandioca	<i>A. niveu</i>	Invertase	2,52 U/g	Fernandes et al. (2018)
CES				
Fonte de carbono	Microrganismo	Enzima	Produção volumétrica	Autor
Casca de laranja	<i>S. cerevisiae</i> MTCC	Invertase	0,30 IU/mL	Sivakumar et al. (2014)
Coroa de abacaxi	<i>Aspergillus sp.</i>	FTase	17,36 U/mL	Nascimento (2017)
Casca de abacaxi	<i>A. niger</i>	Invertase	18,15 U/mL	Oyedeji et al. (2017)
Sacarose	<i>Aerobasidium pullulans</i>	FTase	41,72 U/mL	Ademakinwa et al. (2017)
Casca de arroz	<i>A. niger</i> IBGE 01	Invertase	1,48 U/mL	Ahmed et al. (2015)

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os FOS são compostos bioativos que possuem efeitos benéficos e promovem boa absorção de minerais, auxiliam a regulação dos níveis de glicose e colesterol do sangue, induzem o crescimento de microrganismos probióticos no trato intestinal, diminuem o pH do intestino grosso, destroem bactérias putrefativas e contribuem para a prevenção do câncer de cólon (PASSOS; PARK, 2003).

Os FOS são conhecidos como prebióticos (fibras dietéticas) por induzir o crescimento de microrganismos probióticos como *Acidophilus*, *Bifidus* e *Faecium*. Podem ser consumidos de forma segura pelos diabéticos, pois possuem cerca de um terço do poder adoçante da sacarose, não são calóricos, não são considerados açúcares ou carboidratos e não são usados como fonte de energia. São comumente utilizados em sorvetes e produtos lácteos, bem como em produtos funcionais para promover efeito simbiótico com os microrganismos probióticos. Os FOS também são empregados na produção de biscoitos, pães, barras de cereais, sucos, produtos de confeitaria, molhos entre outros.

De acordo com os relatórios da Global Industry Analysts, Inc. (GIA, 2018), o mercado global de prebióticos superará 5,9 bilhões de dólares até 2020. Por essa razão o uso dos FOS está cada vez mais ligado ao setor de alimentos e bebidas, suplementos dietéticos, fórmulas infantis, ração animal e produtos farmacêuticos. A fórmula infantil dominou a indústria global com cerca de 40% do volume em 2015 e estima-se um crescimento até 2024. O uso dos FOS nas fórmulas infantis é desejado por propriedades como prevenção de infecções, aumento de memória, desenvolvimento cerebral, efeitos prebióticos e melhoria da saúde intestinal. Além disso, a crescente aplicação dos FOS em vários outros setores, como nas gomas, laticínios, sopas e carnes processadas, é projetado para impulsionar a demanda do mercado até 2022 (CREDESCENCE RESEARCH, 2016).

## Invertase

A invertase possui numerosas aplicações nas indústrias química e de alimentos; é muito utilizada como aditivo para a fabricação de açúcar invertido, já que a hidrólise ácida da sacarose produz alguns subprodutos indesejáveis, de baixo poder adoçante, resultando em baixo rendimento e tornando a síntese química inviável (NADEEM et al., 2015). A invertase é muito utilizada na produção de xaropes de frutose, pois esse açúcar tem como vantagem ser mais doce que a sacarose e mais solúvel, evitando processos de cristalização, bastante higroscópico, possui alto ponto de ebulição e baixo ponto de congelamento devido ao aumento da pressão osmótica e baixa viscosidade (MUTANDA et al., 2014).

O xarope de frutose pode ser aplicado como umectante na fabricação de doces e bombons em que a frutose é preferida à sacarose. Além disso, o xarope de frutose é um aditivo alimentar atraente que pode substituir a glicose, pois não envolve a via metabólica da glicose que requer insulina, não prejudica pessoas com diabetes e previne o crescimento microbiano, melhora o sabor e a cor e aumenta a estabilidade do produto final, já que possui forte afinidade com a água; pode ser usado para reter umidade em produtos alimentícios e aumenta seus prazos de validade (KERAMAT et al., 2017; MUTANDA et al., 2014). A invertase pode ser utilizada na produção de pães, bebidas alcoólicas, ácido láctico, glicerol e uma variedade de processos que necessitam da hidrólise da sacarose. A invertase também é utilizada para a hidrólise de inulina em frutose devido à atividade associada da inulinase (NADEEM et al., 2015; OHARA et al., 2015). Outros usos da invertase incluem síntese de mel artificial, fabricação de rações para abelhas (KULSHRESTHA et al., 2013; SIVAKUMAR et al.,

2014) e na redução de 5 – 15% do açúcar de refrigerantes, sem perda de poder adoçante (PROZYN, 2018).

Finalizando, vimos que invertases e frutossiltransferases são enzimas promissoras para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios com potencial prebiótico e para melhorar as propriedades físico-químicas de alimentos. Para viabilizar suas aplicações, são necessários avanços e investimentos nas áreas iniciais do estudo, como descoberta de novas linhagens potencialmente produtoras dessas enzimas, desenvolvimento de bioprocessos para a produção e purificação dessas enzimas com baixos custos e otimizar a transferência de tecnologias para o setor produtivo. Além disso, a engenharia genética é fundamental para o desenvolvimento de linhagens robustas para a produção de invertases e frutossiltransferases, assim como para o melhoramento das próprias enzimas tornando-as mais atrativas para o setor industrial. Por outro lado, é de extremo interesse encontrar novas enzimas com propriedades bioquímicas desejáveis para aplicações industriais ativas numa ampla faixa de temperatura e valores de pH.

## Referências

- ADEMAKINWA, A. N.; AYINLA, Z. A.; AGBOOLA, F. K. Strain improvement and statistical optimization as a combined strategy for improving fructosyltransferase production by *Aureobasidium pullulans* NAC8. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology** (2017).
- AGUIAR-OLIVEIRA, E.; MAUGERI, F. Characterization of the Immobilized Fructosyltransferase from *Rhodotorula* sp. **International Journal of Food Engineering**, v. 6, p. 1-21, 2010.
- AHMED, K.; ELAHI VALEEM, E.; MAHMOOD, T.; MAHMOOD, I.; QAMAR-UL-HAQ. Optimal cultural conditions for industrial enzyme production by using shaken flask technique of submerged fermentation. **FUUAST J. BIOL.**, v. 5, n. 1, p. 21-26, 2015.
- ANTOSOVÁ, M.; POLAKOVÍK, M. Fructosyltransferases : the enzymes catalyzing production of fructooligosaccharides. **Chem. Pap.**, v. 55, n. 6, p. 350—358(2001)
- AWAD, G. E. A.; HASSAN, A.; EMAN, W. E. G.; WAFAA, A. H.; MONA, A. E.; MAGDY, M. M. E. Production optimization of invertase by *Lactobacillus brevis* Mm-6 and its immobilization on alginate beads. **Carbohydr Polym**, v. 93, p. 740–746, 2013.
- BEKER, M.; LAUKEVICS, J.; UPITE, D.; KAMINSKA, E.; VIGNATS, A.; VIESTURS, U.; et al. Fructooligosaccharide and levan producing activity of *Zymomonas mobilis* and extracellular levan sucrose. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 701–706, 2002.
- BHALLA, T. C.; BANSULI; THAKUR, N.; SAVITRI; THAKUR, N. Invertase of *Saccharomyces cerevisiae* SAA- 612: Production, characterization and application in synthesis of fructooligosaccharides. **LWT – Food Science and Technology**, v. 77, p. 178- 185, 2017.
- BINOD, P.; PALKHIWALA, P.; GAIKAIWARI, R.; NAMPOOTHIRI, K. M.; DUGGAL, A.; DEY, K.; PANDEY, A. Industrial Enzymes - Present status and future perspectives for India. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 72, p. 271-286, 2013.

DEWAN, S.S. **Global Markets for Enzymes in Industrial Applications**. BCC Research: Wellesly, MA, USA, 2017.

FERNANDES, M. L. P.; JORGE, J. A.; GUIMARÃES, L. H. S. Characterization of an extracellular  $\beta$ -D-fructofuranosidase produced by *Aspergillus niveus* during solid-state fermentation. **J. Food Biochem.**, v. 42, p. 1-10, 2018.

GANAI, M. A.; SONI, H.; NAIKOO, G. A.; OLIVEIRA, L. T. S.; RAWAT, H. K.; MEHTA, N. N. Screening of low cost agricultural wastes to maximize the fructosyltransferase production and its applicability in generation of fructooligosaccharides by solid state fermentation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 118, p. 19-26, 2017.

GHAZI, I.; FERNANDEZ-ARROJO, L.; GARCIA-ARELLANO, H.; FERRER, M.; BALLESTEROS, A.; J. PLOU, F. Purification and kinetic characterization of a fructosyltransferase from *Aspergillus aculeatus*. **Journal of Biotechnology**, v. 128, p. 204–211, 2007.

GIA-GLOBAL INDUSTRY ANALYSTS, INC. Prebióticos – um relatório global de negócios estratégicos (2018). Disponível em < <https://www.strategyr.com/MCP-6079.asp> > Acesso em 06 de agosto de 2018.

GONÇALVES, H. B.; JORGE, J. A.; GUIMARÃES, L. H. S. Production and characterization of an extracellular  $\beta$ -D-fructofuranosidase from *Fusarium graminearum* during solid-state fermentation using wheat bran as a carbon source. **Journal of Food Biochemistry**, v. 40, n. 5, p. 655–663. 2016.

GRAND VIEW RESEARCH. Enzymes Market By Type (Industrial, Specialty), 2016.

HSIEH, W.C.; CHEN, W.U.; YANG, S.; CHOU, X. 3D tissue culture and fermentation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) from *Burkholderia cepacia* D1. **J. Taiwan Inst. Chem. Eng.**, v. 42, p. 883-888, 2011.

GUO, P.; WANG, Q.; WANG, Z.; DONG, Z.; HE, H.; ZHAO, P. Biochemical characterization and functional analysis of invertase Bmsuc1 from silkworm, *Bombyx mori*. **Biological macromolecules**, p. 1-26, 2018.

ICROWD NEWS WIRE. **Mercado global de enzimas alimentar é projetado para crescer em um CAGR mais 9,2% durante o período de 2017-2023**. (2018). Disponível em < <https://icrowdpt.com/2018/05/01/mercado-global-de-enzimas-alimentar-e-projetado-para-crescer-em-um-cagr-mais-92-durante-o-periodo-de-2017-2023/> > Acesso em 30 de julho de 2018.

JITONNOM, J.; KETUDAT-CAIRNS, J. R. HANNONGBUA, S. QM/MM Modeling of the hydrolysis and transfructosylation reactions of fructosyltransferase from *Aspergillus japonicas*, an enzyme that produces prebiotic fructooligosaccharide. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, p. 1-31, 2018.

KERAMAT, A.; KARGARI, A.; SOHRABI, M.; MIRSHEKAR, H.; SANAEEPUR, H. Kinetic model for invertase-induced sucrose hydrolysis: initial time lag. **Chem. Eng. Technol.**, v. 40, n. 3, p. 529–536, 2017.

KNOB, A.; Fortkamp, D.; PROLO, T.; IZIDORO, S. C.; ALMEIDA, J. M. Agro-residues as alternative for xylanase production by filamentous fungi. **Bioresources (Raleigh, N.C)**, v. 9, p. 5738-5773, 2014.

KULSHRESTHA, S.; TYAGI, P.; SINDHI, V.; YADAVILLI, K. S. Invertase and its applications: A brief review. **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, p. 792-797, 2013.

LINCOLN, L. MORE, S. Bacterial invertases: Occurrence, production, biochemical characterization, and significance of transfructosylation. **J Basic Microbiol.**, v. 57, p. 803–813, 2017.

LINDE, D.; MACIAS, I.; FERNANDEZ, A. L.; PLOU, F. J.; JIMENEZ, A.; FERNANDEZ, L. M. Molecular and biochemical characterization of  $\beta$ -fructofuranosidase from *Xanthophyllomyces dendrorhous*. **Appl Environ Microbiol**, v. 75, p. 1065–73, 2009.

MAIORANO, A. E.; SILVA, E. S.; RODRIGUES, M. F. A. Microbial production of fructosyltransferases for synthesis of pre-biotics. **Biotechnol Lett.**, v.30, n. 18, p. 67–1877, 2008.

**MARKET RESEARCH REPORT.** Fructooligosaccharides (Fos) Market Analysis By Source (Inulin, Sucrose) By Application (Food & Beverages, Infant Formula, Dietary Supplements, Animal Feed, Pharmaceuticals) And Segment Forecasts To 2024. (2016). Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/fructooligosaccharides-market>. Acesso em 28 de julho de 2018.

MARQUEZ, L. D. S. Produção de açúcar invertido pelo uso de invertase imobilizada em resinas. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2007, 137 p.

MELO, F. G. **Produção de  $\beta$ -frutofuranosidase por *Candida carpophila*: otimização das condições de cultivo, purificação e caracterização bioquímica.** Monografia (TCC em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia), Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2017.

MUNIZ-MÁRQUEZ, D. B. et al. Enhancement of fructosyltransferase and fructooligosaccharides production by *A. oryzae* DIA-MF in Solid-State Fermentation using aguamiel as culture medium. **Bioresource Technology**, v. 213, p. 276–282, 2015.

MUTANDA, T.; MOKOENA, M. P.; OLANIRAM, A. O.; WILHELMI, B. S.; WHITELEY, C. G. Microbial enzymatic production and applications of short-chain fructooligosaccharides and inulooligosaccharides: recent advances and current perspectives. **J Ind Microbiol Biotechnol** (2014) 41:893–906.

NADEEN, H.; RASHID, M. H.; SIDDIQUI, M. H.; AZEEM, F.; MUZAMMIL, S.; JAVED, M. R.; ALI, M. A.; RASUL, I.; RIAZ, M. Microbial invertases: A review on kinetics, thermodynamics, physiochemical properties. **Process Biochemistry**, v. 50, p. 1202–1210, 2015.

NASCIEMNTO, A. K. C.; NOBRE, CAVALCANTI, M. T. H.; TEIXEIRA, J. A. PORTO, A. L. F. Screening of fungi from the genus *Penicillium* or production of  $\beta$ -fructofuranosidase and enzymatic synthesis of fructooligosaccharides. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 134, p. 70–78, 2016.

NELSON, D.L.; COX, M.M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1250 p.

OORT, M. V. Enzyme in food technology – introduction. In: WHITEHURST, R. J.; OORT, M. V. **Enzymes in food technology**. 2 ed. New Delhi: Wiley – Blacwell, 2010. Cap. 1, p. 1-15.

OHARA, A.; CASTRO, R. J. S. , NISHID, T. G.; DIAS, F. F. G.; BAGAGLI, M. P.; SATO, H. H. Invertase production by *Aspergillus niger* under solid state fermentation: Focus on physical–chemical parameters, synergistic and antagonistic effects using agro-industrial wastes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, p. 645–652, 2015

OYEDEJI, O.; BAKARE, M. K.; ADEWALE, I. O.; OLUTIOLA, P. O.; OMOBOYE, O. O. Optimized production and characterization of thermostable invertase from *Aspergillus niger* IBK1, using pineapple peel as alternate substrate. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, p. 1-17, 3 Jan, 2017.

PANETTA, J.C.; BARBUTO, O. J. M.; RICCETTI, R. V.; MORENO, A. G. Ocorrência de microrganismos responsáveis pela deterioração de um produto cárneo de baixa acidez. **Rev. Fac. Med. vet. Zootec.** Univ. S. Paulo, v. 13, n. 1, p. 241-47, 1976.

PASSOS, L. M. L.; PARK, Y. K. Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.2, p385-390, 2003.

PLASCENCIA-ESPINOSA, M.; SANTIAGO-HERNÁNDEZ, A; PAVÓN-OROZCO, P.; VALLEJOBECERRA, V.; TREJO-ESTRADA, S.; SOSA-PEINADO, A.; *et al.* Effect of deglycosylation on the properties of thermophilic invertase purified from the yeast *Candida guilliermondii* MpIIIa. **Process Biochem**, v. 49, p. 1480–1487, 2014.

PROZYN. Utilização De Enzimas Na Produção De Bebidas: Processos Mais Eficientes e Sustentáveis na Produção de Cervejas, Refrigerantes e Lácteos. Disponível em: <http://www.prozyn.com.br/novidades/noticias/utilizacao-enzimas-producao-bebidas/> acesso em: 26 de julho de 2018.

RAWAT, H. K.; GANAIE, M. A.; KANGO, N. Production of inulinase, fructosyltransferase and sucrase from fungi on low-value inulin-rich substrates and their use in generation of fructose and fructo-oligosaccharides. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 107, n. 3, p. 799–811, 2015.

RUBIO, M. C.; RUNCO, R.; NAVARRO, A. R. Invertase from a strain of *Rhodotorula glutinis*. **Phytochemistry**, v. 61, p. 605- 609, 2002.

RUSTIGUEL, C. B.; JORGE, J. A.; GUIMARÃES, L. H. S. Characterization of a thermo-tolerant mycelial  $\beta$ -fructofuranosidase from *Aspergillus phoenicis* under submerged fermentation using wheat bran as carbon source. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, p. 362–369, 2015.

SANGEETHA, P. T.; RAMESH, M. N.; PRAPULLA, S G. Recent trends in the microbial production, analysis and application of fructooligosaccharides. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, p. 442–457, 2005b.

SINGH, R.; KUMAR, M.; MITTAL, A.; MEHTA, P. K. Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. **Biotech**, v. 6, n. 174, p. 2-15, 2016.

SIVAKUMAR, T.; THANGAMATHI, P.; MARIASHOBANA, A.; RATHIMEENA, T.; SHANKAR, T. Optimization of Invertase production using *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 170 under varying cultural conditions. **J. of Advancement in Medical and Life Sciences**, v. 1, p. 1-7, 2014.

SHELDON, R. A.; PEREIRA, P. C. Biocatalysis engineering: the big Picture. **Chem. Soc. Rev.**, 2017.

SPOHNER, S. C.; CZERMAK, P. Enzymatic production of prebiotic fructo-oligosteviol glycosides. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 131, p.79-84, 2016.

UDAY, U. S. P., *et al.* Classification, mode of action and production strategy of xylanase and its application for biofuel production from water hyacinth. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 1-14, 2015.

UMA, C.; GOMATHI, D.; RAVIKUMAR, G.; KALAISELVI, M.; PALANISWAMY, M. Production and properties of invertase from a *Cladosporium cladosporioides* in SmF using pomegranate peel waste as substrate. **Asian Pac J Trop Biomed**, p. 144:605–11, 2012.

YUN, J. W. Fructooligosaccharides – Occurrence, preparation, and application. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, n. 2, p. 107-117, 1996.

## Capítulo 2: Utilização de grãos de kefir de água para fermentação de mostos de frutas do Cerrado

*Claudia Cristina Auler do Amaral Santos*

*Leyla Karlla Pereira Miranda*

*Isack Oliveira Pinto*

*Samara Cardoso Alves*

*Alex Fernando de Almeida*

A elaboração de alimentos funcionais é atualmente uma das áreas mais visadas para o desenvolvimento de produtos no mundo inteiro considerando o interesse em nutrição e em alternativas para melhorar a saúde na sociedade em geral. A pressão do mercado por esse tipo de alimentos é crescente devido à conscientização do consumidor em relação ao consumo de alimentos benéficos (SANTOS, 2014). Em 2016, o mercado brasileiro de alimentos e bebidas saudáveis alcançou R\$ 93,6 bilhões em vendas, o que colocou o país na quinta posição no ranking dos gigantes desse setor. O crescimento do comércio de alimentos naturais impressiona no Brasil; nos últimos seis anos, as vendas avançaram a uma taxa média de 12,3% ao ano, enquanto no resto do mundo o percentual ficou em torno de 8%. A previsão é que o mercado brasileiro de produtos saudáveis cresça anualmente 4,4% até 2021, números que comprovam que a crise passa longe desse setor (MINTEL, 2017).

Alimentos funcionais são formulados para ser fontes significativas de determinados nutrientes, ou outros componentes de importância nutricional, e têm potencial de causar grande impacto sobre o abastecimento de alimentos e a saúde pública (MOGELONSKY, 1999). A Organização Mundial da Saúde (OMS) define probióticos como “microrganismos vivos” que, quando administrados em quantidades adequadas, proporcionam benefícios à saúde do hospedeiro. Estabelece, ainda, que os microrganismos específicos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade com a contagem mínima de  $10^7$  (UFC/g) de bactérias lácticas totais e de  $10^4$  (UFC/g) de leveduras específicas (FAO/WHO, 2001). Segundo a Anvisa (2008), entre as principais espécies de microrganismos probióticos estão *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei rhamnosus*, *Lactobacillus casei defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus lactis* e *Bifidobacterium bifidum*. Nesse aspecto, os grãos de kefir podem ser destacados como fonte de probióticos, pois apresentam em sua composição algumas culturas com propriedades reconhecidamente probióticas (BAPTISTA, 2010).

O kefir é uma bebida produzida tradicionalmente utilizando-se leite como substrato, obtida através de dupla fermentação: láctica e alcoólica. É originária da região do Cáucaso, que atualmente compreende os territórios da Geórgia, Armênia, Azerbaijão e parte da Rússia, onde é consumida há milhares de anos. O resultado dessa dupla fermentação é a produção de numerosos compostos, incluindo ácido láctico, ácido acético,  $CO_2$ , álcool etílico e polissacarídeos que dão sabor e aroma característicos ao produto (CONTIM, 2018). O kefir é constituído por uma matriz de proteínas e exopolissacarídeos, denominados kefiran, que consiste em unidades de  $\alpha$ -D-glicose ligadas predominantemente por ligações glicosídicas 1-6, e seus grãos podem ser de tamanhos, formas e cores variadas (GULITZ et al., 2011; MAGALHAES et al.,

2010; RODRIGUES et al., 2005). A bebida obtida a partir da fermentação é turva, ácida e rica em vitaminas, aminoácidos e minerais, que são essenciais para uma dieta saudável, tais como vitaminas do complexo B, cálcio, fósforo e magnésio (GAWARE et al. 2011).

Atualmente, o consumo do kefir está se expandindo devido a suas propriedades sensoriais únicas e sua longa história associada aos efeitos benéficos à saúde humana. O kefir é considerado um produto funcional probiótico por possuir funções nutricionais básicas e quando consumido realiza efeitos fisiológicos e metabólicos benéficos à saúde. Muitos o designam como o iogurte do século ao compará-lo com iogurte tradicional, pois contém maior diversidade de microrganismos que participam do processo de fermentação, além de ser menos viscoso, formar um coágulo menor, ser menos resistente e mais facilmente digerível, e conter etanol e gás carbônico, além do ácido lático (FARNWORTH et al., 2005).

Além do leite, os grãos de kefir são utilizados para fermentar outros alimentos, como açúcar mascavo, extrato de soja, água de côco, sucos e extratos ou frutas frescas, entre outros, sendo conhecidos como kefir de água. O kefir de água é uma bebida fermentada na qual o açúcar metabolizado pelos microrganismos presentes nos grãos é a sacarose. No tradicional processo de preparação do kefir, os grãos que servem como inóculo são adicionados em uma solução de água contendo uma concentração em média de 5% de açúcar mascavo. Dependendo da receita, é possível que sejam adicionados outros ingredientes, como figos, frutas secas e limão, para fornecer minerais e sabores adicionais durante a fermentação (GULITZ, et al 2011). Os grãos de kefir de água possuem aparência opaca, translúcida e cristalina, têm forma irregular e tamanho que varia de alguns milímetros a um ou dois centímetros, e sua cor varia de acordo com o substrato usado (NEVE; HELLER, 2002).

As características microbiológicas do kefir variam de acordo com a origem dos grãos e porcentagem dos grãos inoculados. Os grãos de kefir possuem grande diversidade microbiana com elevada heterogeneidade entre si; vários fatores afetam significativamente a microbiota dos grãos, entre eles tempo e temperatura de incubação, condições higiênico-sanitárias durante a separação, lavagem e estocagem refrigerada dos grãos (CONTIM et al, 2018; LONDERO et al., 2012).

Os principais microrganismos comumente encontrados nos grãos de kefir são as bactérias do ácido lático dos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* e *Enterococcus* e bactérias ácido-acéticas do gênero *Acetobacter* (SANDES, 2013). Os grãos de kefir também são constituídos por leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus* e *Candida* sp.) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*). As espécies microbianas do kefir podem facilmente se adaptar a diferentes substratos e levar à produção de novos produtos potencialmente funcionais. Porém a pesquisa de outras matrizes como substrato do kefir ainda é escassa em comparação a sua tradicional fonte leiteira (FIORDA, et al 2017).

O cerrado brasileiro é rico em espécies frutíferas, algumas ainda pouco conhecidas, apreciadas apenas regionalmente, principalmente pela sua produção endêmica. Dentre essas espécies, pode-se destacar o buriti (*Mauritia flexuosa*) e o murici (*Byrsonima crassifolia*), que possuem importância econômica para as pequenas comunidades que os colhem de forma extrativista para consumo e comercialização. A palmeira do buriti é encontrada em uma vasta região do território nacional. Além de importância socioeconômica para a população dessas regiões, seus frutos são grande fonte de proteínas, vitaminas como A, B, C e E, além de minerais como cálcio e ferro (CARVALHO, 2011; DARNET, 2011). Já o murici possui casca rica em taninos

e é muito utilizado popularmente como cicatrizante e anti-inflamatório devido a sua elevada adstringência. Os frutos são utilizados na fabricação de doces, sucos, licores, sorvetes e no consumo in natura. A comercialização ocorre em grande parte nas feiras livres e mercados públicos da região de ocorrência da espécie (GUSMÃO et al., 2006).

A riqueza nutricional da bebida fermentada com kefir pode ser associada ao consumo dessas frutas do cerrado e aumentar seus efeitos funcionais, uma vez que os frutos de buriti e murici possuem atividades antioxidantes e propriedades comprovadas na prevenção de doenças (ABADIO FINCO et al., 2012; ALMEIDA et al., 2011; DARNET, 2011; DE SOUZA et al 2012; CARVALHO, 2011; GUIMARÃES; SILVA, 2008).

Dessa forma, objetivou-se determinar a composição físico-química das polpas de buriti e de murici e analisar o potencial de uso desses frutos do cerrado como meios de fermentação para os grãos de kefir de água a fim de avaliar alterações na dinâmica populacional do kefir e isolar potenciais estirpes de bactérias do ácido láctico, probióticas e leveduras. Além de comparar os parâmetros físico-químicos das bebidas fermentadas utilizando solução de açúcar mascavo e solução adicionada de polpas de buriti e murici isoladamente.

## **Materiais e métodos**

### **Matérias-primas**

Os grãos de kefir utilizados nas fermentações foram obtidos por doação, vindos de Manaus/AM através de uma rede on-line de doadores. O açúcar mascavo, empregado como fonte de sacarose nas fermentações, foi adquirido no comércio local em Gurupi/TO. Os frutos de buriti e de murici foram colhidos manualmente na propriedade rural Fazenda Barroquinha, em Gurupi/TO.

### **Processamento dos frutos de buriti e murici**

Os frutos foram escolhidos levando-se em consideração seu tamanho, grau de maturação e ausência de injúrias mecânicas e deteriorações. Após a coleta e seleção, os frutos foram acondicionados em sacos de polietileno estéreis e conduzidos ao laboratório para imediato processamento. A sanitização foi feita por meio de lavagem dos frutos em água, seguida de higienização em solução de hipoclorito de sódio a 50 ppm por 10 minutos, depois foi realizado o enxague com água destilada e procedeu-se a secagem em temperatura ambiente em recipientes plásticos (CANUTO et al., 2010).

Para a separação da polpa de buriti foi necessário deixar os frutos imersos (de molho) em água potável por 24 horas. O processo serve para que ocorra a hidratação da polpa, fazendo com que a casca se solte com facilidade. As cascas e a polpa foram separadas manualmente com a utilização de facas de aço inoxidável sanitizadas (CANUTO et al., 2010; SAMPAIO, 2012). A polpa de buriti foi retirada em lascas, acondicionada em recipientes plásticos devidamente sanitizados. Parte dela foi conduzida à secagem em estufa com circulação de ar a 40°C por cerca de 12 horas para posteriores análises físico-químicas e desengorduramento; a outra parte foi para resfriamento a -20°C para as análises dos frutos in natura (SAMPAIO, 2012).

O desengorduramento foi realizado para diminuir a quantidade de lipídeos provenientes do fruto de buriti, que pode prejudicar o processo de fermentação. A polpa seca foi submetida

à prensagem em prensa manual de parafuso, em que a polpa do fruto foi acondicionada em um cilindro de parede espessa e submetida à pressão realizada por um parafuso rotativo (BRENNAN et al., 1990).

Já os frutos de murici, após a sanitização foram despulpados utilizando-se um *mixer* e a polpa foi armazenada em freezer convencional (-20 °C) até a preparação do mosto (DIAS et al., 2007).

Amostras das polpas de ambos os frutos foram retiradas para caracterização físico-química, que inclui sólidos solúveis, cinzas, proteína, (AOAC, 1990), acidez titulável, pH, lipídeos e umidade (IAL, 2008).

### **Preparo dos mostos com polpa de murici e buriti**

De acordo com Puerari e colaboradores (2012), para a elaboração da bebida fermentada, preparou-se solução com concentração de 3,73% (m/v) de açúcar mascavo, o °Brix dessa solução foi verificado para se obter a relação entre este e a concentração de açúcar na solução. Após isso foram preparadas soluções separadas com polpa de murici e de buriti desengordurada com concentração de 16,7% (m/v) cada. Três frascos para cada fruto foram preparados contendo 257 ml de água destilada autoclavada; adicionou-se o açúcar mascavo e a respectiva polpa. O °Brix foi regulado com adição de água até que se atingisse 12 °Brix. A filtração dos mostos obtidos foi realizada com o auxílio de malha de poliéster autoclavada de modo que se obteve cerca de 250 ml de mosto. O mosto foi então transferido para Erlenmeyers estéreis.

### **Propagação dos grãos do kefir de água**

Os grãos de kefir de água foram propagados em solução de cerca de 30g de açúcar mascavo para 250 ml de água destilada estéril, ajustando-se o °Brix (Sólidos solúveis totais) para próximo de 12. A cada 24 horas os grãos foram peneirados; o sobrenadante foi descartado e os grãos submetidos a um cultivo em nova solução de açúcar mascavo de mesma concentração. A idade microbiológica foi padronizada repetindo o mesmo processo durante sete dias para a utilização dos grãos no experimento (GULITZ et al., 2011; MAGALHÃES et al., 2010; PUERARI et al., 2012).

### **Processo fermentativo**

O processo teve início a partir do preparo do inóculo, o qual foi cultivado nas condições descritas no tópico anterior durante sete dias. Os grãos de kefir foram lavados com água destilada estéril e inoculados na proporção de 5% (m/v) de grãos em 250 ml de mosto de solução de açúcar mascavo 12 °Brix sem e com as polpas de frutas previamente preparado. Os processos fermentativos foram realizados em três repetições independentes, sem agitação, em estufa bacteriológica a 25°C por 24 horas. Após a inoculação foi recolhida amostra para a verificação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos repetindo-se a amostragem a cada quatro horas durante as 24 horas de cultivo.

### **Parâmetros físico-químicos**

O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi medido em refratômetro portátil para açúcar, modelo RT-30ATC, o pH foi aferido em medidor de pH Mpa210 e a acidez titulável seguindo-se metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008).

## Parâmetros microbiológicos: enumeração e isolamento dos microrganismos

As bactérias do ácido láctico (BALs) e leveduras (LEVs) foram isoladas a partir das fermentações de grãos de kefir de água com e sem adição de polpas de buriti e murici. As amostras coletadas durante as fermentações foram adequadamente diluídas em solução salina tamponada a 0,1% (0,1% de peptona e 0,85% NaCl) e plaqueadas pela metodologia de plaqueamento em superfície em meio seletivo para as bactérias lácticas, Ágar De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (1,0% peptona de caseína, 0,8% extrato de carne, 0,4% extrato de levedura, 2,0% dextrose, 0,2% fosfato de potássio dibásico, 0,2% citrato de amônio, 0,5% acetato de sódio, 0,02% sulfato de magnésio, 0,004% sulfato de manganês, 1,5% de ágar bacteriológico, 0,1% de Tween 80 e 0,1% de L-cisteína HCl) com adição de nistatina a 0,4%; e para isolamento de leveduras foi realizado plaqueamento em meio *Yeast Extract Peptone Dextrose* – YEPD (2,0% peptona de carne, 2,0% de glicose, 1,0% extrato de carne, 1,5% de ágar bacteriológico) com adição de cloranfenicol na concentração de 0,001% (BERGMANN, 2010).

As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24-48 horas para crescimento das BALs e a 28°C por 48-72 horas para LEVs. Após o período de incubação as colônias foram contadas. O número de isolados para a caracterização foi apontado pelo cálculo da raiz quadrada do número total de colônias contadas, segundo *Bacteriological Manual For Foods* (NUGENT, 1991).

## Armazenamento, reativação e caracterização dos microrganismos isolados das fermentações

As BALs foram crescidas e armazenadas em ágar MRS e as leveduras foram crescidas e armazenadas em meio YEPD inclinado, ambos cobertos com óleo mineral estéril e armazenados sob refrigeração (4°C). Para realização dos testes morfológicos e bioquímicos, os isolados foram transferidos para placas de Petri em seus respectivos meios pelo método de estrias múltiplas, utilizando-se assepticamente uma alça de inoculação, sendo incubados à 37°C por 24 horas para as BALs e 28°C por 48 horas para LEVs.

As bactérias isoladas foram analisadas em microscópio óptico quanto à coloração de Gram (positivas ou negativas), à forma e ao arranjo das células. Posteriormente, as bactérias classificadas como gram-positivas foram submetidas a testes bioquímicos de KOH, catalase e motilidade, seguindo metodologias propostas em *Bergey Manual of Determinative Bacteriology* (GOODFELLOW; JONES, 2015).

As leveduras foram caracterizadas macroscopicamente analisando a morfologia de colônia, além disso, suas características celulares foram observadas em microscópio óptico com objetiva de imersão (aumento de 1.000x), foram submetidas a testes de fermentação de glicose e de formação de ascósporos (BARNET et al., 2000; KURTZMAN; FELL, 2011).

## Testes bioquímicos para as leveduras: fermentação de glicose e produção de ascósporos

As leveduras isoladas das três fermentações (água com açúcar mascavo, solução de polpa de murici e solução de polpa de buriti) foram testadas quanto a sua capacidade de fermentação de glicose em tubo de ensaio contendo 750µL de meio de fermentação (7,5% peptona de soja, 5,0% extrato de levedura, 0,4% azul de bromotimol), 150µL de solução 1M de

glicose e 100µL de suspensão de células. A inoculação foi realizada a partir de placas de Petri contendo colônias isoladas crescidas por 24 horas em meio YEPD. As leituras foram realizadas no período de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 e 21 dias após a inoculação. A leitura foi considerada negativa quando não houve acúmulo de gás, +1 quando 1/3 do tubo de Durham estava ocupado por gás, +2 quando havia gás em 2/3 do tubo, e +3 quando o tubo de Durham estava ocupado completamente por gás (BARNET et al., 2000; KURTZMAN; FELL, 2011).

A produção dos ascósporos pelas leveduras foi observada em placas contendo meio Ágar acetato (1,0% acetato de potássio, 0,1% extrato de levedura, 2,0% ágar), incubadas por cinco dias a 22°C. A inoculação aconteceu a partir de suspensão de leveduras em 1ml de água destilada, incubadas a 28° por 24 horas a fim de zerar suas reservas endógenas de energia, causar estresse na levedura e induzi-la a esporular. Para realização do teste foi coletada uma colônia da placa com meio Ágar acetato e transferida para uma lâmina contendo pedaços de ágar bacteriológico, utilizando-se assepticamente uma alça de inoculação. As colônias foram observadas em microscópio óptico com objetiva de imersão (aumento de 1.000x) (BARNETT et al., 2000).

## Resultados e discussões

### Caracterização físico-químicas das polpas de murici e buriti

A Tabela 1 apresenta os resultados de composição centesimal das polpas de murici e buriti que incluem sólidos solúveis, cinzas, proteína, pH, lipídeos e umidade, expressando de forma básica seu valor nutritivo.

**Tabela 1.** Características físico-químicas das polpas de murici e buriti

COMPOSIÇÃO	POLPA DE MURICI	POLPA DE BURITI
pH	2,95 ± 0,06	3,32 ± 0,02
Acidez total(%)	0,48 ± 0,04	-
Cinzas (%)	2,11 ± 0,47	3,37 ± 0,32
Proteína (%)	4,74 ± 0,20	1,99 ± 0,95
Lipídeos (%) <sup>1</sup>	-	25,40 ± 3,67
Lipídeos (%) <sup>2</sup>	26,87 ± 1,0	34,08 ± 0,66
Umidade (%)	87,05 ± 1,2	70,86 ± 1,74
°Brix	0,50 ± 0,0	3,17±0,75
Rendimento (%)	-	16,16± 1,74
Açúcares Redutores (glicose/100mL)	-	12,99 ± 1,63

\*Dados apresentados como média das três repetições ± desvio padrão. Valores dados em % correspondem a (g/100g). <sup>1</sup>Método BlyDyer. <sup>2</sup>Método de Soxhlet.

**Fonte:** Elaborado pelo autor.

O valor de pH 2,95 corresponde a uma polpa de murici ácida, o que atribui ao fruto a inibição de microrganismos deteriorantes e patogênicos, importante característica para o processo fermentativo, visando melhor qualidade da bebida, segundo Arruda (2013). Os valores de pH e °Brix encontrados para a polpa de buriti estão em conformidade com os dados divulgados por Canuto (2010), que obteve pH de 3,5 e o teor de sólidos solúveis de 4,5°Brix. O valor de açúcares redutores obtido para a polpa in natura é bastante elevado em relação ao encontrado por Loureiro (2006) para a polpa seca, que alcançou valores médios de 4,72 a 5,52%. Almeida (1998) observou que com o avanço do grau de maturação da polpa de buriti ocorre aumento gradativo da concentração de açúcares redutores, o que pode ser ocasionado pela perda de umidade ou ainda por processo fermentativo.

Os teores de umidade para polpa de murici encontrados na literatura variam de 80% a 92,8% (ARRUDA, 2013; CANUTO, 2010), que coincidem com o valor encontrado neste trabalho. Essa variação pode se dar pelo processo de despulpamento, no qual se adiciona água ao fruto para aumentar o rendimento da produção. Comparando-se o teor de umidade da polpa de buriti, o valor encontrado é inferior ao relatado por Canuto (2010), que obteve 89,9% de umidade para a polpa desse fruto, contudo o valor se apresenta de acordo com o teor de umidade médio para frutos do Cerrado relatado por Silva et al. (2008) sendo superior a 70%.

O conteúdo de cinzas detectado na polpa de murici foi maior que o encontrado por Arruda (2013). O teor de cinzas da polpa de buriti também se mostrou elevado quando comparado a Darnet (2011), que obteve em seu estudo para polpa de buriti um teor de cinzas de 0,6%. As cinzas de um alimento são os resíduos inorgânicos que permanecem após a queima da matéria orgânica e correspondem à concentração de minerais presentes no alimento, tais como cálcio, fósforo, potássio entre outros (NOGUEIRA, 1996). Podemos inferir que as polpas usadas neste trabalho têm maior quantidade de resíduos inorgânicos metálicos fixos, o que é benéfico para os microrganismos, pois estes podem atuar como cofatores enzimáticos, importante para metabolismo celular.

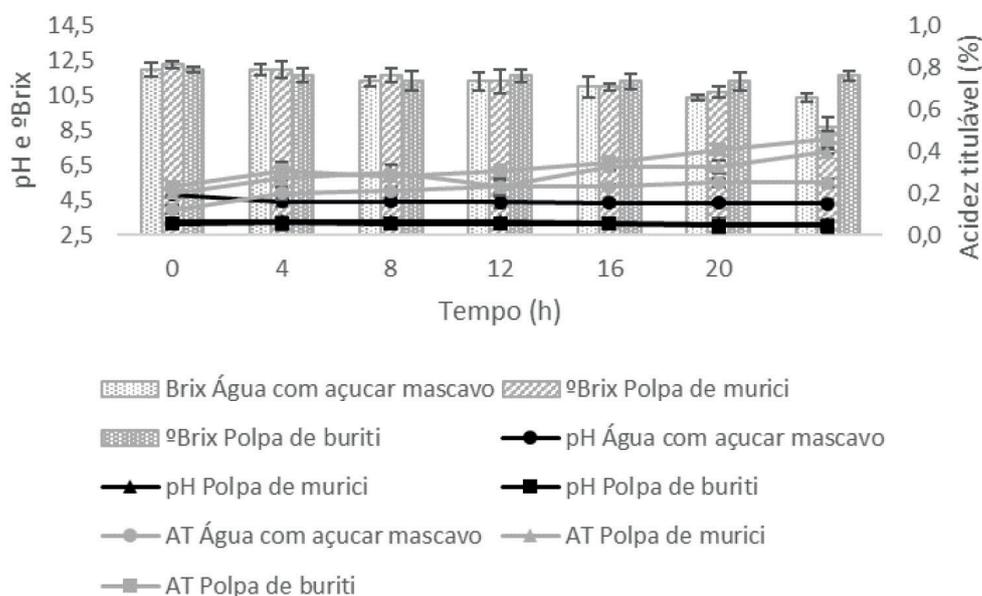
De acordo com Siguemoto (2013), no estudo dos componentes da polpa de murici do estado do Pará, o valor médio de proteína encontrado foi de 1,0%, menor que o detectado neste trabalho. A proteína pode ser catabolizada pelos microrganismos em condições de estresse. Já a proteína quantificada na polpa de buriti mostrou-se semelhante à descrita por Manhães (2011), que obteve 2,10%. Variações nas concentrações no teor de proteínas e cinzas podem ser explicadas por diferenças na região de cultivo, tipos e adubação do solo e clima, além do período de coleta dos frutos.

A diferença entre os teores de lipídeos obtidos para a polpa de buriti se deve ao método de extração empregado. O método de Soxhlet é mais eficiente, pois se trata de um processo que promove a manutenção de temperaturas mais altas e contato maior entre o solvente e a amostra (BRUM, 2009). Como já esperado, o teor de lipídeos da polpa de buriti pelo método *Blygh Dyer* foi inferior ao obtido pelo método de Soxhlet no experimento.

## **Caracterização físico-química durante a fermentação**

Os resultados das alterações de pH, acidez titulável e ° Brix das fermentações usando grãos de kefir de água em diferentes substratos podem ser observados na Figura 1.

**Figura 1.** Alterações de pH e acidez titulável durante fermentações usando grãos de kefir de água com açúcar mascavo, polpa de murici e polpa de buriti.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

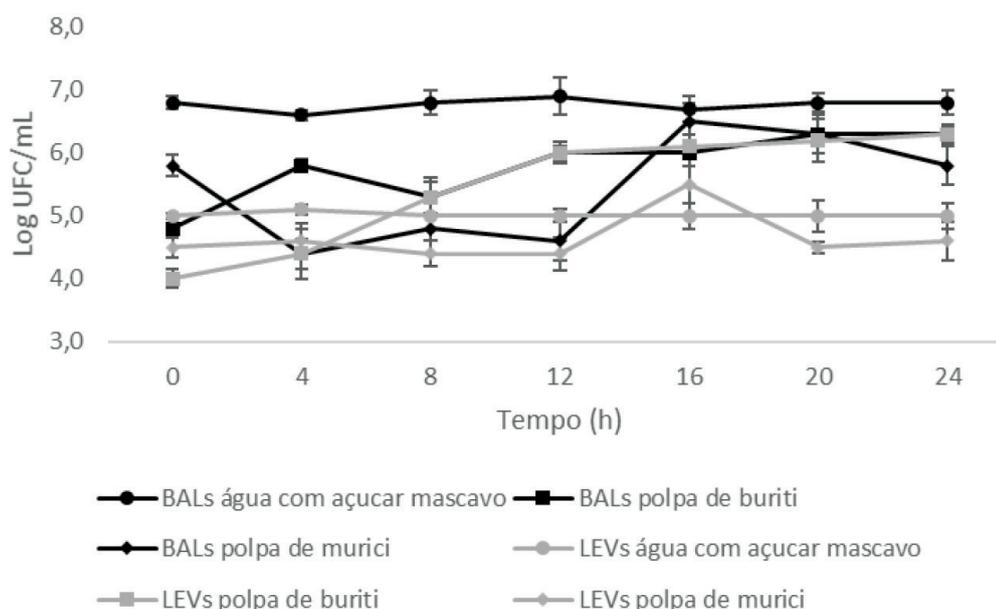
Pela figura 1 observa-se que o valor de pH para o kefir com solução de açúcar mascavo inicialmente decaiu, se estabilizando em torno de 4,44, o que condiz com valores encontrados na literatura, como no trabalho de Marchi (2015), em que relatou uma média de pH de 4,03. Bactérias do ácido lático quando homofermentativas atuam fermentando a glicose ou outros carboidratos gerando ácido lático como produto; quando heterofermentativas produzem lactato, CO<sub>2</sub> e etanol (CROSS, 2002). Devido a esse comportamento metabólico das BALs de produção de ácidos orgânicos pode-se observar aumento da concentração de ácido lático e consequente diminuição do pH do meio. As bactérias do ácido acético também geralmente presentes nos grãos de kefir podem contribuir para o aumento de acidez e consequente queda do pH (SANDES, 2013). Para o kefir com adição de polpa de buriti e murici, observou-se que os valores de pH mantiveram-se constantes em torno de 3,12 e 3,26, respectivamente. Esses valores mais baixos encontrados no kefir com adição das polpas de frutas se deve ao caráter ácido encontrado nelas, que apresentaram valores médios de pH entre 2,95 e 3,32.

Na Figura 1, ainda é possível observar que há decréscimo no valor de sólidos solúveis totais (°Brix) nas fermentações com diferentes substratos. A concentração de 12°Brix foi padronizada para o início das fermentações e durante o processo fermentativo apresentou queda para 10,4, 11,3 e 11,7 para o kefir com solução de açúcar mascavo, polpa de buriti e polpa de murici, respectivamente. O teor de sólidos solúveis totais diminui conforme o tempo de fermentação devido ao consumo dos açúcares, como sacarose, glicose e frutose, pelos microrganismos que os usam como fonte de energia.

## Dinâmica microbiana nas fermentações de grãos de Kefir com e sem adição de polpas murici e buriti

A Figura 2 apresenta as alterações nas populações microbianas de BALs e LEVs nas fermentações de grãos de kefir de água com os três diferentes substratos.

**Figura 2.** Dinâmica de bactérias do ácido lático e leveduras durante fermentações usando grãos de kefir de água com açúcar mascavo, polpa de murici e polpa de buriti.



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

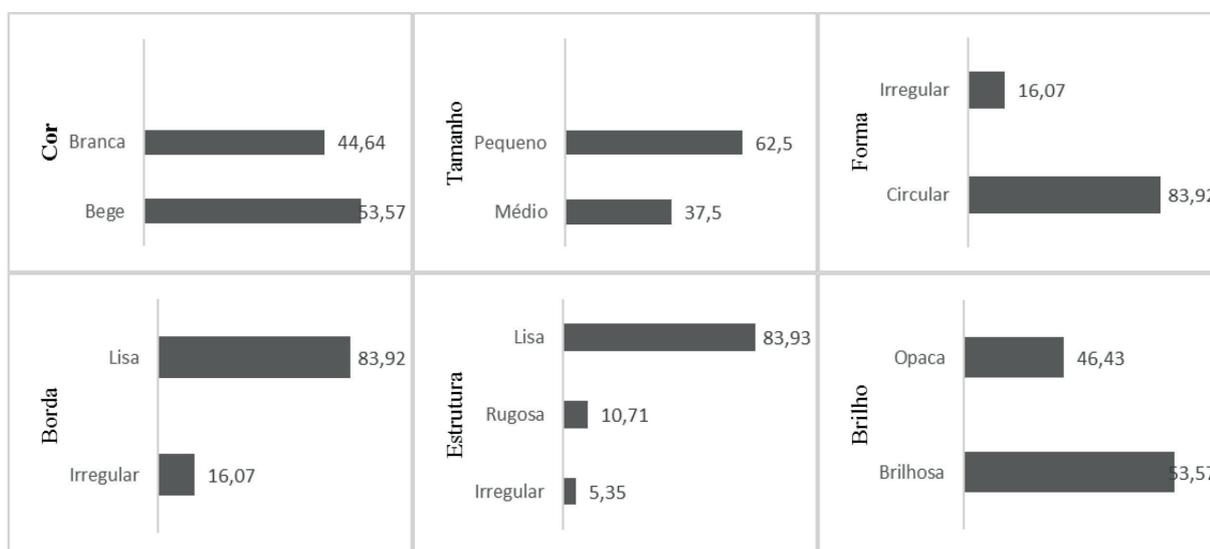
A contagem de células viáveis para o kefir em solução de açúcar mascavo se manteve em média de 6,8 Log UFC/ml para as BALs e de 5,2 Log UFC/ml para as LEVs. Nas fermentações conduzidas com a adição das frutas, obteve-se contagem inicial de 4,8 Log UFC/ml de BALs e 5,7 Log UFC/ml de LEVs com a polpa de buriti; e de 4,0 Log UFC/ml de BALs e 4,5 Log UFC/ml de LEVs quando adicionada polpa de murici. Observa-se que, nas primeiras 4 horas de fermentação do mosto com buriti, a população de BALs aumentou, chegando a 5,8 Log UFC/ml e posteriormente às 16 horas as bactérias entraram em fase estacionária, permanecendo com uma população entre 6,5 a 7,0 UFC/ml até o final das 24 horas. A fase log para as leveduras se inicia às 4 horas de fermentação e após as 12 horas de fermentação elas mantêm uma população de aproximadamente 6,0 Log UFC/ml. Para a fermentação com polpa de murici, as bactérias e leveduras atingem seu valor máximo às 16 horas com populações de 6,6 Log UFC/ml para as BALs e 5,5 Log UFC/ml para as LEVs.

A menor população na fase inicial do processo fermentativo provavelmente pode ter sido ocasionada pelas alterações nas condições físico-químicas causadas pela adição das polpas de frutas. A adição das polpas de buriti e murici reduziu os valores de pH no meio e possivelmente também proporcionou oferta de novos nutrientes no meio, fazendo com que os microrganismos tenham passado por período maior de adaptação (fase Lag) e não se reproduziram imediatamente após a adição do inóculo.

### Isolamento, caracterização morfológica e bioquímica das bactérias do ácido lático

As bactérias foram isoladas nas diluições de  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  e foram obtidas 36 potenciais BALS das fermentações com diferentes substratos, sendo 15 isoladas da fermentação com água e açúcar mascavo, 13 da fermentação com polpa de murici e 8 da fermentação com polpa de buriti; suas características morfológicas estão representadas na Figura 3.

**Figura 3.** Caracterização morfológica das colônias de bactérias isoladas durante os processos fermentativos dos grãos de kefir em água com açúcar mascavo, polpa de murici e polpa de buriti. Dados apresentados em porcentagem (%).



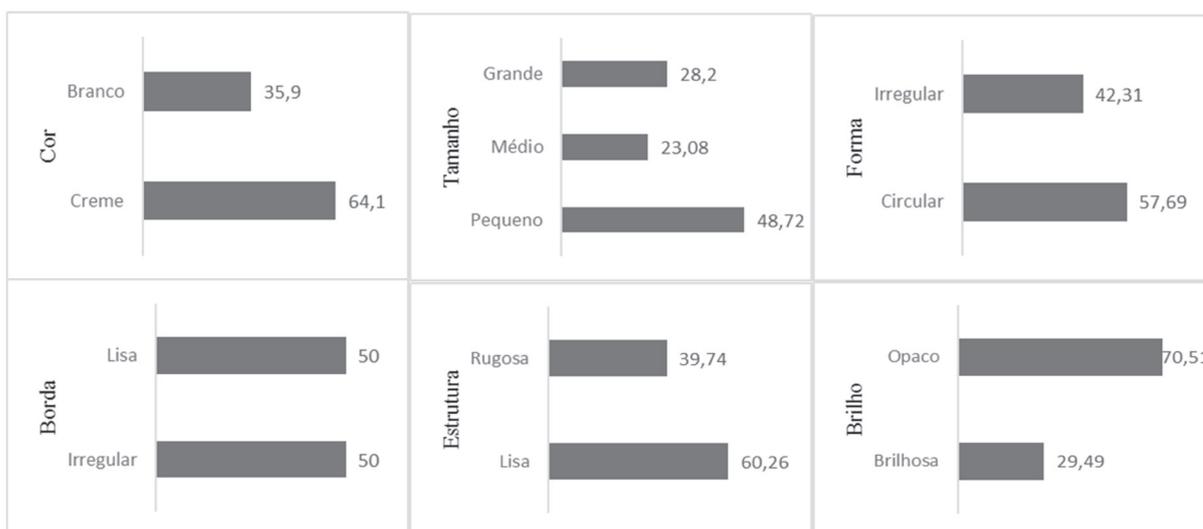
Fonte: Elaborado pelo autor.

Com relação às características microscópicas, somente as bactérias que se apresentaram Gram positivas foram analisadas. Observou-se que a maioria dos isolados foram caracterizados pela morfologia de cocos (41,07%) e cocobacilos (28,57%), e em menores proporções bactérias com arranjo de estreptococos (17,86%), bacilos (8,93%) e bastonetes longos (3,57%). Bactérias com características morfológicas de cocos e cocobacilos apresentaram-se negativas para atividade de catalase, KOH negativo e motilidade negativa, podendo assim ser classificadas como potenciais BALS, segundo Oliveira et al. (2006).

### Isolamento, caracterização morfológica e bioquímica de leveduras

As LEVs foram isoladas nas diluições  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ . Foram isoladas 79 leveduras, sendo 25 da fermentação de grãos de kefir com água e açúcar mascavo, 23 da fermentação de grãos de kefir com polpa de murici e 31 leveduras da fermentação de grãos de kefir com polpa de buriti. As características morfológicas macroscópicas dos isolados em porcentagem estão apresentadas na Figura 4.

**Figura 4.** Caracterização morfológica das colônias de bactérias isoladas durante os processos fermentativos dos grãos de kefir em água com açúcar mascavo, polpa de murici e polpa de buriti. Dados apresentados em porcentagem (%).



**Fonte:** Elaborado pelo autor.

Apesar de observar aspectos semelhantes entre as leveduras isoladas de kefir de água com e sem adição de polpa de frutas, as características macromorfológicas convencionais são limitadas, já que inúmeras linhagens e diferentes espécies possuem semelhança em nível macroscópico e muitas vezes possuem as mesmas características de colônias e células (BARNETT et al., 200; KURTZMAN; FELL, 2011).

Leveduras isoladas de kefir com e sem adição das polpas de frutas apresentaram as seguintes características microscópicas: 30,77% como células ovóides, 50% como esféricas, 17,95% como cilíndricas e 1,28% como células ogivais. Em trabalhos que realizaram o isolamento de leveduras encontradas em frutos, observou-se a maior incidência de leveduras não pigmentadas com predominância das cores branca e bege e variedades nos morfotipos apresentando células elipsoides e ovóides (NOROUL, et al., 2013).

Os isolados obtidos durante as fermentações com os três substratos demonstraram capacidade de fermentação em até cinco dias, sendo que 56,52% das leveduras de kefir com açúcar mascavo, 34,78% das leveduras de kefir com adição de polpa de murici e 73,91% das leveduras de kefir com adição de polpa de buriti fermentam a glicose rapidamente em até 48 horas. Dessa forma, podemos inferir que leveduras isoladas de grãos de kefir e frutos do cerrado contém potencial biotecnológico para aplicação na indústria de alimentos devido à habilidade fermentativa.

Segundo Kurtzman e Fell (2011), leveduras potencialmente fermentadoras de glicose podem ou não fermentar outros carboidratos, como sacarose, maltose, frutose, galactose, e leveduras sem potencial de fermentação de glicose são consideradas não fermentadoras. Quando a cepa de uma levedura consegue fermentar um carboidrato, ela também consegue usá-lo como fonte de carbono, porém o inverso não é totalmente verdadeiro. Muitas cepas crescem aerobicamente em açúcares que elas não são capazes de fermentar. Entre outros carboidratos, a glicose é de fácil assimilação e seu consumo libera dióxido de carbono, etanol entre outros metabólitos em baixas concentrações.

Após cinco dias de incubação nas placas, as leveduras foram caracterizadas microscopicamente com relação à sua capacidade de formação de ascósporos. Foi possível observar que as leveduras formadoras de ascos continham de um a quatro ascósporos em seu interior. Segundo Mautone (2008), a presença desses ascósporos confere característica fermentadora para isolados ascomicetos.

Para finalizar, neste trabalho, as frutas do Cerrado, murici e buriti, foram utilizadas como substratos para fermentação com grãos de kefir de água e propiciaram o desenvolvimento de microrganismos fermentativos no processo, mostrando que têm potencial para ser aplicadas na produção de bebidas funcionais com grão de kefir, possibilitando, dessa forma, a agregação de valor a essas matérias primas.

A fermentação proporcionou a acidificação do meio tanto para o kefir em solução de açúcar mascavo, quanto para o kefir com adição de polpas das frutas. Foi possível observar que adição das polpas de buriti e murici acidificou o substrato, fazendo com que o pH se tornasse mais baixo desde o início do processo fermentativo, reduzindo a população de leveduras e bactérias do ácido lático em comparação com a fermentação de grãos de kefir com água e açúcar mascavo.

As potenciais bactérias do ácido lático foram caracterizadas morfológicamente e bioquimicamente e não apresentaram grandes diferenças entre si, mesmo quando isoladas de substratos diferentes. Dessa forma, podemos inferir que a adição das polpas de buriti e murici não impactou na diversidade bacteriana, mas sim na população das BALs.

As leveduras isoladas apresentaram características morfológicas semelhantes às encontradas na literatura para kefir e frutos. Em teste de fermentação de glicose, mostraram-se rápidas fermentadoras, fato que deve ser explorado para futuras aplicações biotecnológicas.

A contagem de células viáveis de bactérias e leveduras alcançou resultados aceitáveis para alimentos probióticos, que devem estar em torno de 7 Log UFC/ml de bebida. É necessária a identificação dos isolados presentes nas fermentações para realmente afirmar que bebidas à base de grãos de kefir de água e frutos do cerrado são funcionais.

## Referências

- ABADIO FINCO, F. B.; SILVA, I. G.; OLIVEIRA, R. B. Physicochemical characteristics and antioxidant activity of three native fruits from brazilian savannah (Cerrado). **Alim. Nutr.**, v. 23, n. 2, p. 179-185, 2012.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ ingredientes, substâncias biotivas e probióticos.** Disponível em [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissões/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissões/tecno_lista_alega.htm). Acesso em: 17 set. 2018.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Chapter 37 – Fruits and fruit products. **Official Methods of Analyses of AOAC**, Washington, 15 ed., v. 2, p 915–922, 1990.
- ALMEIDA, M. M. B.; DE SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M. C.; DO PRADO, G. M.; MAGALHÃES, C. E. C.; MAIA, G. A.; DE LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidante activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis.** Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 464 p., 1998.
- ARRUDA, I. N.; JUNIOR, V. A.; GOULART, G. A.S. Produção de cerveja com adição de polpa de murici (*Byrsonima ssp.*). **Revista Eletrônica Interdisciplinar**, v. 2, n. 10, 2013.
- BAPTISTA, E.V. **Desenvolvimento de ingredientes simbiótico por fermentação de soro de leite e do subproduto da agroindústria de suco de laranja por grãos de kefir e cultura probiótica.** Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos. Universidade Estadual de Londrina, Brasil, 2010.
- BARNETT, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D. **Yeasts characteristics and Identification.** 4 ed. Cambridge: Cabrige University Press. p. 811. 2000.
- BERGMANN, R. S. O. *et al.* Microbial profile of a quefir sample preparations – grains *in natura* and lyophilized and fermented suspension. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.30, n.4, p. 1022-1026, 2010.
- BRUM, A. A. S.; ARRUDA, L. F.; REGITANO-D´ARCE, M. A. B. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Quim. Nova**, v. 32, n. 4, p.849-854, 2009.
- CANUTO, G. A.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.
- BRENNAN, J. G.; BUTTERS, J. R.; COWELL, N. D.; LILLEY, A. E. V. **Food engineering operations.** Linton Road, England: Elsevier Applied Science, 1990.
- CARVALHO, C. O. **Comparação entre métodos de extração do óleo de *Mauritia Flexuosa* L.F.**

**(Arecaceae - Buriti) para o uso sustentável na reserva de desenvolvimento Tupé: rendimento e atividade antimicrobiana.** 2011. 110 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais) – Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2011.

CONTIM, Luciana Silva Rocha; OLIVEIRA, Ila Maria Aguiar; NETO, José Cardoso. Avaliação microbiológica, físico-química e aceitação sensorial do kefir com polpa de graviola. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 1, p. 1-9, 2018.

CROSS, M. L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. **Immunology and Medical Microbiology**, n. 34, p. 245 - 253, 2002.

DARNET, S. H. *et al.* Nutritional composition, fatty acid and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa*) and patawa (*Oenocarpus bataua*) fruit pulp from the Amazon region. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, v. 31, n. 2, p. 488-491, 2011.

DE SOUZA, V. R.; PEREIRA, P. A. P.; QUEIROZ, R.; BORGES, S. V.; DE DEUS, J. S. C. Determination of bioactive compounds, antioxidante activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 381-386, 2012.

DIAS, D. R., SCHWAN, R. F., FREIRE, E. S., SERÔDIO, R. D. Elaboration of a fruit wine from cocoa (*Theobroma cacao L.*) pulp. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 42, n. 3, p. 319-329, 2007.

FAO/WHO. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. **Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**, 2001, 34 p.

FARNWORTH, Edward R. Kefir – a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, Reino Unido, v. 2, n.1, p. 1–17, 2005.

FIORDA, F. A.; PEREIRA, G.V.M.; SOCCOL, V. T.; RAKSHIT, S.K.; PAGNONCELLI, G.B.; VANDENBERGHE, L. P. S; SOCCOL, C. R.; Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. **Food Microbiology**. v. 66, p. 86-95, 2017.

GAWARE, V.*et al.* The Magic of Quefir: A Review. **Pharmacologyonline**, v. 1, p. 376-386, 2011.

GUIMARÃES, M. M.; SILVA, M. S. Valor nutricional e características químicas e físicas de frutos de murici-passa (*Byrsonima verbascifolia*). **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 28. p. 817-821, 2008.

GOODFELLOW, Michael; JONES, Amanda L. Laceyella. **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1-4, 2015.

GULITZ, A.; STADIE, J.; WENNING, M. EHRMANN, M. A.; VOGEL, R. F. The microbial diversity of water quefir. **International Journal of Food Microbiology**. v.151, p. 284–288, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do IAL: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 5.ed. São Paulo, 2008. 1020 p.

- KURTZMAN, C.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, T. (Ed.). **The yeasts: a taxonomic study**. Elsevier, 2011.
- LOUREIRO, M. N. **Desidratação da polpa de buriti e armazenamento do produto seco**. 2006. 173f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2006.
- LONDERO, A. et al. Kefir grains as a starter for whey fermentation at different temperatures: chemical and microbiological characterisation. **Journal of Dairy Research**, v. 79, n. 3, p. 262-271, 2012.
- GUSMÃO, E.; DE ALMEIDA V., F.; MEIRA DA F. J., E. Biometria de frutos e endocarpos de murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss.). **Cerne**, v. 12, n. 1, 2006.
- MAGALHÃES, K. T.; PEREIRA, G. V. M.; DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F. Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian quefir. **World J Microbiol Biotechnol**, v. 26, p. 1241–1250, 2010.
- MANHÃES, L. R. T.; SABAA-SRUR, A. U. O. Centesimal composition and bioactive compounds in fruits of buriti collected in Pará. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 31, n.4, p. 856-863, 2011.
- MARCHI, L.; PALEZI, S. C.; PIETTA, G. M.; Caracterização e avaliação sensorial do kefir tradicional e derivados. **Unoesc & Ciência – ACET Joaçaba**, Edição Especial, p. 15-22, 2015.
- MAUTONE, J. N. Diversidade e potencial biotecnológico de leveduras e fungos semelhantes a leveduras isolados de folhas de figueiras do parque de Itapuã, RS, Brasil. 2008.
- MINTEL. **Tendências de consumo 2017**. Disponível em: <http://brasil.mintel.com/tendencias-de-consumo>. Acesso em: 21 de setembro de 2018.
- MOGELONSKY, M. Functional foods. **American Demographics**, v. 21, supplement 2, n.15, 1999.
- NEVE, H.; HELLER, K. J. The microflora of water kefir: a glance by scanning electron microscopy. **Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte**, v. 54, n. 4, p. 337-349, 2002
- NIVA, M., MÄKELÄ, J. Finns and functional foods: socio-demographics, health efforts, notions of technology and the acceptability of health-promoting foods. **International Journal of Consumers Studies**, v. 31, n. 1, p 34-52, 2007.
- NOGUEIRA, C.M.D.; MORAIS, N.M.T.; LOPES, M.F.G.; SÁ, M.J.H.C. Análises químicas em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v.77, n. 1, p. 5-6, 1996.
- NUGENT, Robert P.; KROHN, Marijane A.; HILLIER, S. L. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. **Journal of clinical microbiology**, v. 29, n. 2, p. 297-301, 1991.
- OLIVEIRA MARTINS, A. D., MENDONÇA, R. C. S., SILVA, D. L., RAMOS, M. S., MARTINS, M. C., DONZELE, J. L., & DE ANDRADE, N. J. Resistência de bactérias lácticas, isoladas de fezes de suínos e sua capacidade antagônica frente a microrganismos indicadores. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 5, n. 1, p. 53-59, 2006.

PUERARI, C.; MAGALHÃES, K. T.; SCHWAN, R. F. New cocoa pulp-based quefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. **Food Research International**. v. 48, p. 634–640, 2012.

RODRIGUES, K.L.; CAPUTO, L.R.G.; CARVALHO, J.C.T.; EVANGELISTA, J.; SCHNEEDORF, J.M. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *Int. J. Antimicrob. Agents*, v. 25, p. 404-408, 2005.

SAMPAIO, M. B. **Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto e da Folha do Buriti (*Mauritia flexuosa*)**. Brasília – DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN). Brasil, 2012.

SANDES, S. H. C. **Seleção de bactérias lácticas com potencial probiótico para uso como promotor de crescimento ou como adjuvante imune em vacinas de mucosa na pecuária bovina**. 2013.110f. Dissertação (Mestrado em Genética). Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2013.

SANTOS, C. C. A. DO A.; LIBECK, B. DA S.; SCHWAN, R. F. Co-culture fermentation of peanut-soy milk for the development of a novel functional beverage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 186, p. 32–41, 2014.

SIGUEMOTO, É. S. Composição nutricional e propriedades funcionais do murici (*Byrsomina crassifolia*) e moringa (*Moringa Oleifera*). 2013. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Faculdade de Saúde Pública.

SILVA, M. R.; LACERDA, D. B. C. L.; GEBRIM, S. G.; MARTINS, D. M. O. Chemical characterization of native species of fruits from savanna ecosystem. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.6, p.1790-1793, 2008.

## Capítulo 3: Nanotecnologia aplicada aos alimentos

*Talita Pereira de Souza Ferreira*

*Giselly Batista Alves*

*Claudia Cristina Auler do Amaral Santos*

A nanotecnologia envolve o desenvolvimento de um conjunto de materiais formados por partículas com tamanho variável entre 1 e 100 nm. A nanobiotecnologia é a fusão entre a nanotecnologia e a biotecnologia e oferece possibilidades de estudar e modular processos biológicos na escala molecular e atômica, com a finalidade de desenvolver produtos e otimizar serviços em vários campos, desde a agricultura até a medicina (CAMBRUSSI et al., 2018; KHOT et al., 2012).

A combinação de moléculas adequadas tanto em qualidade quanto em quantidade para usos especiais ou específicos pode dar origem a numerosos produtos à base de carbono e metais desenvolvidos para a formação dos nanomateriais. Compreendem os nanotubos de carbono, nanopartículas de ferro magnetizadas, alumínio, cobre, ouro, prata, dióxido de titânio (Titânia) e outros (GIANNOUSI et al., 2013). Esses compostos podem ser aplicados no tratamento de efluentes, purificação de água, processamento de alimentos, embalagens, agroquímicos e sensores inteligentes (KHOT et al., 2012).

Quantidades significativas de agroquímicos são pulverizadas em variadas plantações causando adversidades para seres humanos, animais e meio ambiente. A recente tecnologia de nanopesticidas cada vez mais inserida no ambiente agroindustrial seria a solução para muitos problemas. Por exemplo, menores volumes de agrotóxicos seriam jogados nos alimentos, menores custos de aplicação, além de muitos outros benefícios ao meio ambiente (GHORMADE et al., 2011).

Produtos alimentares já são testados quanto ao controle de condições internas (características como frescor ou má refrigeração) e externas (próprias das embalagens em si, como indicadores de temperatura e tempo de maturação) por meio de nanossensores. Esses dispositivos percebem o ar atmosférico durante todo o caminho realizado (da fábrica ao vendedor final) e detectam temperatura, umidade, quanto tempo de colheita tem a fruta (se for o caso) e as condições do transporte. Tão logo isso aconteça, o consumidor poderá decidir entre levar o produto ou não. Nanossensores químicos e biossensores também são importantes resultando nos chamados “materiais inteligentes”. O alimento embalado poderá detectar microrganismos perigosos à saúde humana ou ainda algum elemento químico que modifique a cor do produto, por exemplo, para que o consumidor final perceba que não é próprio para consumo (ILEŠ et al., 2011).

Qualquer produto inventado, criado ou modificado tem seus riscos inerentes. Quanto aos nanoprodutos não é diferente. Nos países desenvolvidos, órgãos regulamentadores estão sendo criados e pesquisas referentes aos impactos que essa nova tecnologia pode ocasionar também já estão sendo realizadas. Incluem-se as pesquisas sobre o que a sociedade entende sobre esse assunto e o que aceitaria com mais facilidade ou não. Fundamentando-se nessas informações, este trabalho revisa a nanotecnologia aplicada ao setor produtivo de alimentos nos dias atuais e apresenta diferentes aplicações da ciência nano no dia a dia das pessoas. Também discute os riscos que essas nanopartículas podem ocasionar à saúde humana e meio

ambiente, bem como descreve seus benefícios.

## Desenvolvimento de dispositivos de liberação controlada de agroquímicos

Praticamente um terço do alimento total produzido no mundo é perdido devido a doenças e pragas nas fases de pré e pós-colheita (KUMAR et al., 2014). Essas perdas são muito significativas e são os motivos principais do uso de grande volume de agrotóxicos. Entretanto, o uso de defensivos agrícolas tem gerado muitos problemas ambientais, como contaminação do ar, dos lençóis freáticos e dos rios (GUAN et al., 2010). Além disso, menos de 0,1% dos pesticidas aplicados atingem seu propósito e o restante contribui para a degradação progressiva dos outros organismos vivos e do ambiente (KUMAR et al., 2014).

Para controlar os sistemas de distribuição de pesticidas e fertilizantes no campo, é necessário lançar quantidades suficientes durante um mínimo período de tempo a fim de maximizar a eficácia biológica e minimizar os efeitos nocivos (GHORMADE et al., 2011). Dessa forma, nanopartículas oferecem uma gama de benefícios devido à maior área de superfície das partículas, fixação facilitada, transferência de massa rápida, fitotoxicidade reduzida devido à baixa mobilidade do agente ativo no solo e podem ser transportadas com facilidade pela diminuída inflamabilidade (KUMAR et al., 2014). Assim, biopesticidas agregados a nanopartículas apresentariam melhor estabilidade das moléculas e biodisponibilidade ativa para toda a cultura de maneira uniforme (GHORMADE et al., 2011).

Os polímeros naturais têm sido muito utilizados como nanocápsulas. O alginato de sódio é aniônico e não tóxico. Inserido em produtos manufaturados, serve para aumentar o tempo de prateleira. A liberação torna-se eficiente, pois auxilia na solubilização do pesticida em água e favorece a liberação gradativa do composto ativo. Também é mais estável e simples de preparar (KUMAR et al., 2014).

Muito difundido na agricultura, o imidacloprido é um inseticida sistêmico contra insetos sugadores, como pulgões, moscas-brancas, cupins e funis de arroz presentes em culturas de legumes, frutas, milho, arroz, algodão, lúpulo, entre outras (ANVISA, 2004). Kumar e seus colaboradores (2014) desenvolveram, otimizaram e caracterizaram um tipo de pesticida (ingrediente ativo imidacloprido) transportado com polímero de alginato de sódio contra pragas da cultura do quiabo. Seus resultados demonstraram que as nanoformulações de pesticidas foram mais eficientes em atingir as cigarrinhas do quiabo que os pesticidas convencionais. Além disso, a análise de toxicidade verificou que foi menos danoso que o produto comercial, conferindo maior economia, diminuição do risco de poluição ambiental e maior segurança para o aplicador.

O uso de nanomateriais para a fotocatalise é uma alternativa para minimizar as adversidades ocasionadas pelo imidacloprido ao meio ambiente, como as nanopartículas de Titânia (Óxido de titânio -  $TiO_2$ ), cujas vantagens são baixo custo, não toxicidade e elevada eficácia (SHARMA et al., 2008). Guan et al. (2010) desenvolveram um pesticida a partir do imidacloprido fotodegradável e um método rápido e eficiente para quantificar sua concentração na cultura da soja. Assim, o imidacloprido foi nanoencapsulado utilizando quitosana, alginato e  $TiO_2$ . Nesse trabalho, foram determinadas as quantidades de resíduos do nanopesticida após a aplicação, verificando a precisão do experimento quanto à reprodutibilidade e repetibilidade

para que o uso nessa cultura seja realizado de forma segura. O nível de resíduo máximo que os vegetais podem conter é de  $1 \text{ mg.kg}^{-1}$ , e o nano-imidacloprido alcançou nível final de resíduo de  $0,003 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Portanto, foi considerado seguro para a saúde humana e animal.

Em Bordeaux, na França, desde 1882 o cobre já era bastante utilizado como fungicida juntamente com sulfato de cálcio. Essa mistura é conhecida como calda bordalesa e causou redução sensível do fungo *Plasmopara viticola* em plantações de uva. Após isso, muitos agrotóxicos foram produzidos à base de cobre, como oxiclreto de cobre  $[\text{Cu}(\text{OH})_2 \cdot \text{CuCl}_2]$ , hidróxido de cobre  $[\text{Cu}(\text{OH})_2]$  e óxido de cobre ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ). Entretanto, assim como os outros agroquímicos, possuem baixa solubilidade e grandes volumes são necessários. O cobre é facilmente convertido em Cu (I) ou Cu (II) por meio de reações que produzem oxigênio reativo, favorecendo a peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e danos ao DNA microbiano (GIANNOUSI et al., 2013).

Alguns trabalhos científicos empregam as nanopartículas feitas de cobre e já foram testadas em laboratório na cultura da abobrinha (*Cucurbita pepo*), trigo (*Triticum aestivum*) e pepino (*Cucumis sativus*), conforme cita Guiannousi e colaboradores (2013). Nesse trabalho, nanopartículas produzidas com cobre como agroquímico foram sintetizadas, caracterizadas e avaliadas quanto a sua eficácia. *Phytophthora infestans*, fitopatogênico comum em tomates, foi utilizado para os testes in vitro. Esses mesmos autores produziram três tipos de nanopartículas de cobre ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ,  $\text{CuO}$  e  $\text{Cu}/\text{Cu}_2\text{O}$ ) com tamanho entre 11 e 14 nm e formato quase esférico. Esse estudo resultou em menores quantidades de produto aplicado, menos ingredientes ativos nas nanoformulações, porém fica claro que estudos mais detalhados a respeito das dosagens mínimas são necessários para proteger a planta e não causar fitotoxicidade.

## Embalagens de alimentos fabricadas com nanocompósitos

No setor de nanotecnologia de alimentos, a área de embalagens tem ganhado destaque com aplicações de polímeros nanocompósitos que evitam a oxidação e a descarbonatação de alimentos, além de proporcionar proteção U.V., dispositivos anti falsificação, sensores de violação e desenvolvimento de filmes de polímeros com menor permeabilidade, com barreiras para oxigênio, potencial de degradabilidade, tolerância a níveis de umidade e com características termorresistentes (CHAUDRY; CASTLE, 2011).

Dentre as inovações criadas para embalagens de alimentos estão os polímeros nanocompósitos (PNCs), nanotubos de carbono, nanocristais e quitosana (nanopartículas de argila). Embalagens produzidas com esses materiais possuem vantagens como baixo custo, eficácia, alta estabilidade e são permitidos para o consumo humano.

Embalagens inteligentes se destinam a monitorar e fornecer informações sobre a qualidade dos alimentos embalados ou seu ambiente, para promover vida de prateleira extensa e segura. As embalagens inteligentes de nanocompósitos fornecem informações sobre a manutenção da qualidade do produto, como a integridade da embalagem (indicador de vazamento), a história de tempo-temperatura do produto (indicadores de tempo e temperatura) e rastreamento da origem dos produtos embalados (nanocódigos de barras ou identificação por radiofrequência) (RHIM et al., 2013).

As nanopartículas foram investigadas quanto à atividade antimicrobiana, como

inibidores do crescimento e agentes antimicrobianos. Os principais alimentos para aplicações de filmes antimicrobianos de bionanocompósitos incluem carnes, peixes, aves, pães, queijos, frutas e legumes (HAN et al., 2005). Um dos principais interesses de pesquisas na área é a fabricação de novo tipo de embalagem de alimentos, que reúne substâncias antimicrobianas (complexos de quitosana e os conservantes sintéticos tradicionais) para tratar filmes PET/PP (Politereftalato de etileno/polipropileno) com plasma e para analisar as propriedades de superfície e atividades antimicrobianas dos filmes combinados (LEI, et al., 2014). Após o tratamento com plasma, as películas de PET/PP foram facilmente compatíveis com o complexo de quitosana/conservantes para formar filmes com atividades antimicrobianas. Os filmes antimicrobianos combinados apresentaram maior atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* do que contra *Staphylococcus aureus*. A velocidade de liberação das substâncias antimicrobianas aumentou com o incremento da temperatura e da acidez (LEI, et al., 2014).

Materiais à base de celulose podem ser amplamente utilizados porque oferecem vantagens incluindo comestibilidade, biocompatibilidade, propriedades de barreira, aparência atraente, não-toxicidade, não-poluente e de baixo custo. Estudos destacam o desenvolvimento de nanocompósitos bactericidas à base de celulose contendo nanopartículas de prata para utilização como embalagens ativas de alimentos. Em formulações de filmes, podemos citar o exemplo do polissacarídeo HPMC (hidroxipropilmetilcelulose), que é um polímero biodegradável e renovável, bem como uma alternativa para novo material de embalagem (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011).

Foram investigadas as propriedades de filmes de HPMC e nanopartículas de prata e sua possível aplicação como embalagem ativa. Diferentes tamanhos de nanopartículas foram analisados para aperfeiçoar o desempenho dos compósitos. Os efeitos das nanopartículas nas propriedades mecânicas de permeabilidade ao vapor de água e atividade antibacteriana de filmes de HPMC também foram investigadas (MOURA et al., 2012). Os filmes nanocompósitos HPMC/AgNPs (hidroxipropilmetilcelulose/nanopartículas de prata) exibiram boas propriedades mecânicas e de barreira. A presença de AgNPs na matriz de HPMC promoveu aumento da resistência à tração das películas. A diminuição observada nos valores de PVA (permeabilidade ao vapor de água) para esse sistema em comparação com os sistemas contendo nanopartículas de quitosana é promissora como meio de melhorar a qualidade do produto final e estabilidade durante o armazenamento. Também foi demonstrado o potencial bactericida dos filmes de HPMC/AgNPs, em que o tamanho das nanopartículas desempenha papel importante. O último é indicativo de que os nanocompósitos de HPMC/AgNPs podem ser usados em embalagens de alimentos como revestimentos internos antimicrobianos ativos (MOURA et al., 2012).

Na indústria alimentícia, o setor de bebidas também recebe contribuições efetivas de estudos da nanotecnologia quando se refere às embalagens. Podem ser citados os efeitos de embalagens de filme LDPE (Polietileno de baixa densidade) contendo nanopartículas de Ag e ZnO testadas como embalagens de suco de laranja na inativação de *Lactobacillus plantarum*. Uma vez que microrganismos acidófilos, como bactérias do ácido lático e leveduras, têm se destacado como os principais contaminantes de sucos cítricos, a preocupação em confeccionar embalagens com materiais que possam reduzir a taxa de crescimento dos microrganismos tem aumentado a fim de prolongar a vida de prateleira e para manter a qualidade e segurança alimentar. O alto desempenho das nanopartículas se deve à sua relação de área/volume de superfície elevada, que é a principal razão para o aumento da atividade antimicrobiana de nanopartículas metálicas (EMAMIFAR, et al., 2011).

A atividade antimicrobiana dessas nanopartículas também pode ser associada a vários mecanismos, incluindo a indução de estresse oxidativo, devido à geração de espécies reativas de oxigênio que podem causar a degradação da estrutura da membrana da célula. Para isso as embalagens preparadas a partir de filmes nanocompósitos com Ag e com ZnO foram cheias com sumo de laranja inoculado com *L. plantarum*, armazenadas a 4°C e avaliadas após 7, 28, 56, 84 e 112 dias de armazenamento. Os resultados mostraram que a taxa de crescimento microbiano foi significativamente reduzida pela utilização desse material. Redução do número de *L. plantarum* foi melhor com a embalagem com nanopartículas de Ag. Esses resultados ajudariam a indústria para a combinação de pasteurização com embalagens nanocompósitos antimicrobianos que resultariam no desenvolvimento de método de pasteurização de baixo custo. No entanto, os íons metálicos, como Ag e Zn, podem acelerar a degradação do ácido ascórbico e isso necessitaria de avaliação antes da utilização da embalagem de nanocompósitos antimicrobiana ser comercializada (EMAMIFAR, et al., 2011).

A nanoencapsulação é definida como uma tecnologia de embalagem de sólidos, líquidos ou materiais gasosos em cápsulas nanométricas seladas que podem liberar seu conteúdo a taxas controladas em condições específicas. O método de encapsulamento tem sido empregado para proteger compostos bioativos (polifenóis, micronutrientes, enzimas, antioxidantes e nutracêuticos) com o intuito de controlar sua liberação no alvo desejado (EZHILARASI et al., 2013). Entre os sistemas de nanoencapsulação, as nanoemulsões, as nanopartículas lipídicas e os nanolipossomas são particularmente adequados para aplicações alimentares (CAMBRUSSI et al., 2018).

As nanoemulsões apresentam muitas vantagens, como descontaminação de equipamentos sem comprometer a aparência e o sabor do produto. Os compostos funcionais encapsulados pelas nanoemulsões são utilizados para distribuição direta dos antioxidantes luteína, β-caroteno, licopeno, vitaminas A D e E3, co-enzima Q10, e ômega-3 (PATHAKOTI et al., 2017). As nanopartículas mais proeminentes para nanoencapsulação são as de poliésteres biodegradáveis, devido à biodegradabilidade, biocompatibilidade, hidrofobicidade, forte resistência mecânica, proteção contra o meio circundante ou condições de processamento e a sua liberação controlada (EZHILARASI et al., 2013).

Os nanolipossomas são alguns dos mais promissores portadores de lipídios para antioxidantes e também ajudam na entrega controlada e específica de nutracêuticos, nutrientes, enzimas, vitaminas, antimicrobianos e aditivos. Possuem tamanho menor e área de superfície interfacial maior para contato com tecidos biológicos e, portanto, proporcionam maior biodisponibilidade de compostos encapsulados (PATHAKOTI et al., 2017).

A melhora da vida de prateleira e menores custos são as razões pelas quais a nanotecnologia está sendo aplicada na fabricação de embalagens inteligentes que podem responder a condições ambientais, alertar o consumidor quanto à presença de patógenos, detectar produtos químicos nocivos ou produtos de degradação causados pela deterioração dos alimentos e indicar a qualidade dos alimentos (SMOLANDER; CHAUDHRY, 2010).

## Nanossensores em tecnologia de alimentos

Características que demonstram a qualidade do produto, como cor, odor e características sensoriais, podem ser detectadas por sensores fabricados com nanomateriais, bem como

a presença de gases oxidantes de alimentos, aromas, contaminantes químicos, biológicos e patógenos (SHRIVASTAVA; DASH, 2009).

Os métodos imunológicos baseados em anticorpos simples são sensíveis e econômicos e oferecem alto rendimento para quantificação de compostos biologicamente relevantes. Inovações em âmbito nanométrico associadas a esses métodos para detecção de substâncias nocivas aos consumidores de vários tipos de alimentos têm se mostrado bastante promissoras. Um exemplo desse tipo de tecnologia são os imunossensores eletroquímicos sensíveis para a detecção rápida de brevetoxina B (BTX-2) em amostras de alimentos marinhos. As brevetoxinas (BTXs) são neurotoxinas marinhas potentes, produzidas naturalmente por uma espécie de dinoflagelado conhecido como *Karenia brevis* e têm efeitos prejudiciais para a saúde humana, levando à intoxicação neurológica e causando impactos negativos na indústria de frutos do mar. Dessa forma, a quantificação de BTXs é de grande importância na análise e detecção de segurança alimentar (TANG; TANG, 2011).

Tendo em vista a necessidade de métodos com maior sensibilidade para detecção dessas toxinas, pesquisadores utilizaram um método imunológico contendo estruturas de dendrímeros, agregados macromoleculares, porém a condutividade dessas moléculas não é boa para sua vasta aplicação nos biossensores eletroquímicos. Como essas estruturas podem ser encapsuladas, nanopartículas de ouro com boa condutividade e de biocompatibilidade podem ser usadas para a preparação de nanocompósitos de metal/dendrímero. Os resultados experimentais indicaram que o método eletroquímico pode ser utilizado para a detecção de BTX-2 em amostras de alimentos se apresentando como um método mais sensível que outros já utilizados em trabalhos anteriores, como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e ensaio de imunoabsorção ligado à enzima (ELISA). O destaque desse trabalho é a simples execução, sem a necessidade de extensas etapas de preparação da amostra, além de extração, filtração e diluição (TANG; TANG, 2011).

Destques são feitos também para imunossensores de detecção bacteriana construídos com nanotubos de carbono e com nanocristais de metais de cobre, cádmio e chumbo. Foi desenvolvido um imunossensor eletroquímico capaz de detectar simultaneamente bactérias patogênicas de alimentos comuns, como *Escherichia coli* O157: H7 (*E. coli*), *Campylobacter* spp. e *Salmonella* spp., que pode evitar surtos de toxinfecções alimentares. O imunossensor foi produzido a partir da imobilização da mistura de três anticorpos, anti-*E. coli*, anti-*Campylobacter* e anti-*Salmonella* numa proporção de 1:1:1 na superfície de um eletrodo com tela de carbono de múltiplas paredes, nanotubos-polialilamina modificados. Foram confeccionados então nanocristais de anticorpos monoclonais para cada tipo de bactéria patogênica. O imunossensor foi utilizado em amostra de leite inoculado com os três tipos de bactérias citadas. O imunossensor mostra maior sensibilidade e rapidez na análise de patógenos em amostra de alimentos do que os métodos convencionais baseados em caracterização bioquímica e sorológica, que costumam levar de dois a três dias para obtenção de resultados. Os nanotubos de carbono se mostraram eficientes quanto a sua alta condutividade, atividade eletroquímica e facilidade de imobilização de biocomponentes. Já os anticorpos com nanocristais de metais se mostraram sensíveis ao reconhecimento das bactérias através da oxidação dessas nanopartículas, demonstrando, assim, a eficiência dessa tecnologia (VISWANATHAN et al., 2012).

Nanopartículas de ouro (AuNPs) têm sido muito aplicadas na tecnologia de sensores de eletrodo devido ao tamanho pequeno e a suas propriedades ópticas, eletrônicas e catalíticas serem únicas. Além disso, as AuNPs provém de micro espaços que fornecem

um microambiente semelhante ao da natureza, tal que a bioatividade da biomolécula imobilizada é mantida e as nanopartículas proporcionam elevado raio de superfície-volume que melhora a cinética de transferência de elétrons. Pesquisadores desenvolveram um método para fabricar um eletrodo vítreo de carbono modificado com nanopartículas de ouro (AuNPs/GCE), o qual foi então aplicado para a análise de antioxidantes como butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT) e butil-hidroxi-tolueno (TBHQ) utilizados na indústria alimentícia. A distribuição e o tamanho das nanopartículas de ouro variaram significativamente como uma função do tempo de deposição e a distribuição ótima das partículas e seu tamanho foi alcançado em 30 segundos. Também foi demonstrado que com o eletrodo foi possível produzir picos de correntes mais altos e estáveis que com os eletrodos comuns. Resultados quantitativos satisfatórios foram obtidos para a predição dos três analitos e as calibrações foram validadas para serem usadas simultaneamente na determinação de BHA, BHT e TBHQ em amostras de óleos comerciais comestíveis. Os resultados obtidos foram satisfatórios quando comparados com aqueles obtidos a partir de métodos comumente utilizados para esses tipos de análises como CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) (LINA et al., 2013).

A nanotecnologia com base em sensores tem potencial de revolucionar a velocidade e a precisão das indústrias e agências reguladoras quando se trata da detecção de contaminantes ou alterações em alimentos. A detecção é possível devido às propriedades químicas e eletro-ópticas dos chamados nanossensores, os quais são também capazes de responder por mudanças nas condições ambientais refletindo efeitos na qualidade dos alimentos. Dessa forma, a tecnologia de nanossensores é extremamente útil na etapa de controle de qualidade de diversos produtos de natureza alimentícia, destacando-se como mais rápidos e sensíveis que os métodos comumente utilizados para análise no setor alimentício (SHRIVASTAVA; DASH, 2009).

## Riscos

Preocupação relacionada à garantia de proteção e segurança tanto do meio ambiente quanto das pessoas e ainda assim incentivar o acesso a produtos inovadores tem se tornado tema de debates (posteriormente regulamentados) pelos países pertencentes à União Europeia. Assim, nota-se que países desenvolvidos têm buscado uniformizar a regulamentação de produtos nanotecnológicos, incluindo suas respectivas aplicações, bem mais incisivamente que países emergentes (INVERNIZZI; FOLADORI, 2005).

Tal fato é ocasionado pela percepção de quão grande é a “revolução” na tecnologia e, dessa forma, é muito importante considerar os possíveis perigos decorrentes da inovação. Devido ao seu pequeno tamanho e concentrações baixíssimas, a distinção entre os compostos artificiais e naturais torna-se difícil de ser compreendida, da mesma maneira que a verificação dessas substâncias em matrizes complexas, como água ou lama e produtos alimentares (EUROPEAN COMMISSION, 2012).

Já é sabido que desde 2004 órgãos como o Comitê Científico dos Riscos para a Saúde Emergentes e Recentemente Identificados (CCRSERI), Comitê Científico da Segurança dos Consumidores (CCSC), Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (AESA) e a Agência Europeia de Medicamentos (AEM) têm avaliado os riscos que os nanomateriais podem acarretar. Além disso, em 2009, o CCRSERI afirmou que variados produtos fabricados

com nanomateriais são potencialmente perigosos para a saúde humana e para o ambiente, mas, por outro lado, nem todos causam toxicidade (EUROPEAN COMMISSION, 2012).

A ideia de que quão menor for o tamanho mais reativo e danoso será o composto não pode ser levada como verdade absoluta. Fato é que os nanomateriais, produtos químicos ou substâncias normais podem se assemelhar no quesito de alguns serem tóxicos e outros não. Assim, um tratamento específico de cada situação encontrada ou cada produto com nanotecnologia a ser lançado no mercado deve ser avaliado pelos órgãos competentes, já em vigor (ao menos em países desenvolvidos) quanto aos seus possíveis riscos (INVERNIZZI; FOLADORI 2005).

Comprovado é o comportamento poluente de agroquímicos em ecossistemas, água, solo, redução da biodiversidade e saúde humana, entretanto, os nanoformulados podem conduzir a novos problemas. É interessante lembrar que, assim que os produtos transgênicos foram lançados, existiu a promessa de grandes companhias em reduzir o uso de agrotóxicos (ALTIERI, 1998). Semelhantemente, os nanoformulados seriam mais potentes e, por conseguinte, teriam maior tempo de duração no campo tendo drástica redução quanto ao volume empregado (KUMAR et al., 2014).

A nanotecnologia no Brasil aumentaria a qualidade dos produtos tornando-os mais competitivos na agroindústria internacional com menores custos e maior produtividade. Com investimento da ordem de R\$ 10 milhões, a Embrapa Instrumentação Agropecuária, inaugurada em 2009, juntamente com a Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio (AGRONANO) e empresas privadas visam atender suas demandas próprias. No entanto, recursos aparentemente ainda não estão disponíveis para avaliar os impactos dessa nova tecnologia. Qualidade nutricional, sabor, textura e tempo de prateleira prolongado são alguns dos benefícios provenientes do uso da nanotecnologia em alimentos e bebidas. O questionamento pelo qual todos se deparam é que essas mesmas características notadamente atraentes podem originar danos à saúde humana e ao ambiente (CENTRO ECOLÓGICO, 2009).

A principal propaganda da nanotecnologia nos alimentos é a de promover maior segurança alimentar. Logo, alguns estudos foram realizados a fim de avaliar a percepção pública sobre esse assunto tanto nos Estados Unidos como na Europa. Essas pesquisas apontaram que o conhecimento ainda é muito limitado (GASKEL et al., 2005). Os trabalhos sobre a opinião e conhecimento do público sobre as aplicações da nanotecnologia nos alimentos e embalagens alimentares apresentam variadas percepções das pessoas em relação às aplicações dos produtos em escala nano. A visão é bem negativa quando, por exemplo, se tratam de garrafas antibacterianas de leite para bebês e cápsulas de suplemento nutricional (SIEGRIST et al., 2008).

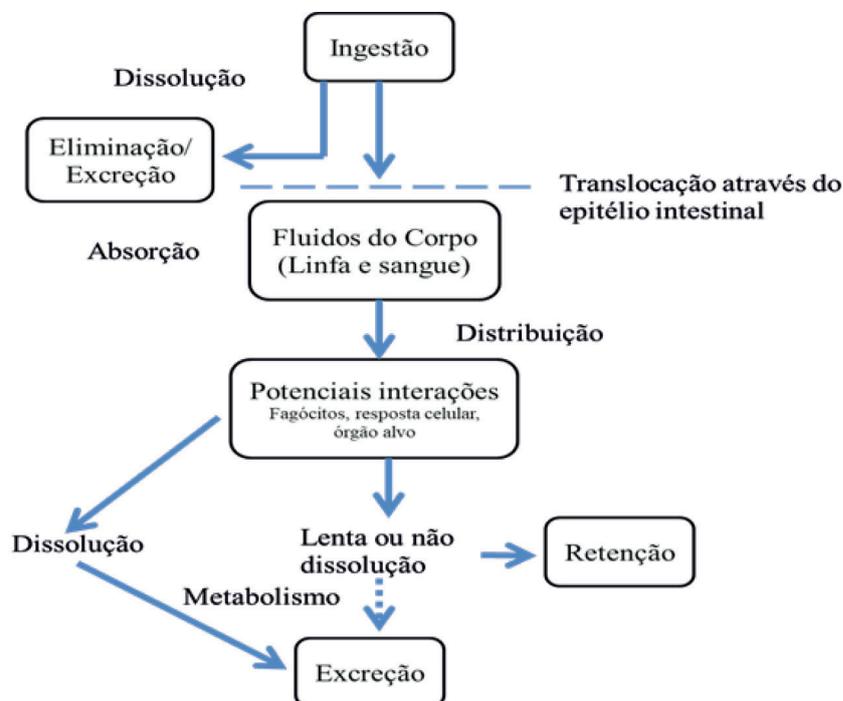
A percepção de riscos ou não da nanotecnologia pela população vai depender da maneira pela qual indústrias, agências governamentais e ONG's (Organizações Não Governamentais) trabalham com essa questão (SIEGRIST et al. 2008). Helland et al. (2008) afirmaram que indústrias ainda não são capazes de resolver problemas com futuros riscos ocasionados pela nanotecnologia, ou seja, nem os próprios fabricantes estão preparados para as consequências dessa "revolução". Ainda com base em Siegrist e seus colaboradores (2008), as embalagens produzidas com nanotecnologia são mais aceitas do que alimentos nanoformulados.

Propriedades físicas e químicas da matéria não podem ser consideradas as mesmas para escalas diferentes de tamanho. Essas propriedades se modificam em escala nanométrica, o que se denomina de efeito quântico. Citam-se a condutividade elétrica, o

calor, a resistência, a elasticidade, a reatividade que se comportam de forma distinta dos mesmos elementos em escala maior (CHAUDRY; CASTLE, 2011). Com isso, se determinado produto é utilizado em escala macro sem nenhum tipo de efeito contrário a que se destina, já sendo estudado e aprovado como alimento, não é semelhante a servir-se do mesmo produto em escala nano. A substância pode ter a mesma composição química, porém ter toxicidade bastante divergente.

Na realidade, o que determina o alcance dos nanomateriais ao seu objetivo são suas propriedades físico-químicas aliadas à dinâmica da resposta de defesa do organismo, pois agora o corpo tem de lidar com uma área de superfície maior (COCKBURN et al. 2012). Os nanomateriais podem ser inalados, entrar pela via dérmica ou pela principal via de interesse, a oral (MEDINA et al. 2007). Cockburn et al. (2012) esclarecem a relação entre nanomateriais associados a alimentos com o corpo humano através de uma ilustração bastante didática dessas interações (Figura 1). Os nanomateriais podem entrar no organismo e quando ali estiverem podem realizar dois tipos de caminho. Depois que são ingeridos, estão sujeitos a sofrer processos digestivos no trato gastrointestinal (TGI). O TGI pode fornecer uma barreira seletiva fazendo com que o nanomaterial permaneça no lúmen do intestino, interagindo com a microbiota local ou ser completamente eliminado através das fezes. Se a absorção ocorrer, os nanomateriais seriam distribuídos por todo o corpo, acessariam os órgãos e seriam retidos nas células e suas organelas.

**Figura 1.** Prováveis caminhos dos nanomateriais associados a alimentos no organismo.



**Fonte:** Adaptado de Cockburn et al. (2012).

Assim, além das nanopartículas poderem tomar dois rumos divergentes dentro do organismo, também há outros obstáculos que podem interferir no sucesso delas. Segundo Safi et al. (2011), quando as nanopartículas entram em contato com algum fluido biológico, podem

ser revestidas por uma coroa de proteínas do plasma sanguíneo ou de outras biomoléculas, como os lipídeos, ou ainda podem se agregar formando um aglomerado. Nesse sentido, o recobrimento pelas proteínas é chamado de corona.

Pesquisas recentes apontam que proteínas corona podem prejudicar a ação das nanopartículas, impedir as ligações das biomoléculas presentes nas células-alvo e afetar a reatividade dentro do organismo (COCKBURN et al., 2012). Essas modificações podem alterar o dobramento das proteínas envolvidas, resultando em novas interações biológicas e, por conseguinte, reações adversas como uma inesperada toxicidade (CABALEIRO-LAGO et al., 2008).

De fato, produtos advindos dos nanomateriais trazem muitos benefícios, no entanto, considerar todos os riscos envolvidos é uma atitude prudente diante dos problemas que podem surgir a partir de seu uso. Existem muitas pesquisas realizadas sobre esse assunto, espera-se que grandes indústrias utilizem essas informações já disponíveis, mesmo que as conclusões sejam negativas para alguns produtos (COCKBURN et al., 2012).

## **Produtos alimentícios disponíveis para venda**

Conforme *The Project Emerging Nanotechnologies – PEN* (2005), o uso comercial das nanotecnologias ganha cada vez mais espaço. No entanto, tem sido difícil descobrir quais produtos podem ser referenciados como nano verificando apenas o rótulo das embalagens. Esse projeto objetivou realizar um inventário com a maioria dos produtos já disponíveis no mercado para o consumidor. Assim, constitui-se de uma ferramenta na internet para consumidores, políticos, cidadãos e pessoas que querem se informar sobre como a nanotecnologia está entrando no mercado global.

É realizado em parceria com o *Woodrow Wilson International Center for Scholars*. Desde 2005 o PEN tem tornado as informações acessíveis e configurou-se em fonte respeitada. Chamam a atenção para investimentos maiores e adequados quanto a investigações dos nanoprodutos e também para as falhas nas leis e regulamentos existentes. A parceria envolve alguns órgãos do governo, indústrias e líderes acadêmicos cuja função é averiguar alimentos que possuem nanotecnologia e desenvolver medidas de supervisão mais rígidas (PEN, 2013).

Os dados são apresentados segundo a função das nanopartículas no produto, localização, propriedades, possíveis vias de exposição, toxicidade e avaliação do ciclo de vida. A Tabela 1 apresenta dados de alimentos já inseridos no mercado e contém uma coluna que especifica as categorias atribuídas a cada produto. Assim, as categorias 3, 4 e 5 significam, respectivamente, que o fabricante forneceu informações que provam a nanotecnologia envolvida, o fabricante rotula o produto como advindo de nanotecnologia, mas sem informações específicas e o fabricante não fornece informações, mas seus revendedores sim.

**Tabela 1.** Atuais aplicações da nanotecnologia em produtos alimentícios disponíveis para venda.

Empresa	Origem	Nano Material	Produto	Funções do nano Material	Categoria	Ano de inserção no PEN
Mellita	Alemanha	Carbono	Folha de alumínio para embalagens	-	4	2008
Albertson	EUA	Titânia	Queijo	Anti-aglomerante Pigmento	5	2013
Albertson	EUA	Titânia	Café solúvel	Anti-aglomerante Pigmento	5	2013
Betty Crocker	EUA	Titânia	Purê de batatas	Anti-aglomerante Pigmento	5	2013
Hershey's	EUA	Titânia	Barra de Chocolate	Anti-aglomerante	5	2013
Mars, Inc.	EUA	Titânia	M&Ms Chocolate	Anti-aglomerante	5	2013
Tic Tac	EUA	Titânia	Tic Tac Balas de Menta	Anti-aglomerante	5	2013
BlueMoon Goods, LLC	EUA	Prata	Embalagem para armazenamento	Antimicrobiano	-	2007
Nano Care Technology, Ltd.	China	Prata	Talheres	Antimicrobiano	5	2007
Knorr	EUA	Titânia	Macarrão	Anti-aglomerante	5	2013
La Posta Del Aguila	Argentina	Prata	Água para mamães e bebês	Antimicrobiano	4	2009
RBC Life Sciences®, Inc.	EUA	Prata	Suplemento	Antimicrobiano	3	2007

**Fonte:** PEN (2013). <sup>(-)</sup> informação não foi disponibilizada pelo site PEN (2013).

Concluindo, é notável como o avanço da tecnologia acarretou o progresso das pesquisas com a nanotecnologia. A pobreza poderá ser diminuída, assim como a fome e as doenças também. Em detrimento desses benefícios estão os riscos, ainda não mensuráveis, os quais poderão ocasionar reações adversas como uma toxicidade inesperada. Isso significa que estudos conclusivos não foram realizados até o momento. Fato é que inovações nessa

área são fundamentais, principalmente porque os impactos econômicos poderão ser muito grandes. A nanotecnologia gradativamente insere-se em indústrias, como cuidados com a saúde, manufatura, energia e produtos alimentícios e suas embalagens. Assim, sejam quais forem os impactos da nanotecnologia na indústria de alimentos e bebidas, acredita-se que os governos devem ter políticas públicas suficientes para orientar a sociedade quanto ao uso, benefícios e riscos.

## Referências

ALTIERI, M. A. The Environmental Risks of Transgenic Crops: An Agroecological Assessment. 1998. Disponível em: <http://www.beyondpesticides.org/infoservices/pesticidesandyou/Spring%20and%20Summer%2008/The%20Environmental%20Risks%20of%20Transgenic%20Crops.pdf>. Acesso em: 2 set 2018.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública nº 16, de 18 de março de 2004. D.O.U de 19/03/2004. Disponível em [http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[6737-2-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[6737-2-0].PDF). Acesso em: 24 set 2018.

CABALEIRO-LAGO, C., QUINLAN-PLUCK, F., LYNCH, I., LINDMAN, S., MINOGUE, A.M., THULIN, E., WALSH, D.M., DAWSON, K.A., LINSE, S. Inhibition of amyloid beta protein fibrillation by polymeric nanoparticles. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 130, n. 46, p. 15437– 15443, 2008.

CAMBRUSSI, Anallyne Nayara Carvalho Oliveira et al. O papel da nanotecnologia na redução do estresse oxidativo: uma revisão. **Boletim Informativo Geum**, v. 9, n. 2, p. 1, 2018.

CENTRO ECOLÓGICO. Nanotecnologia - a manipulação do invisível. p. 1-41, 2009. Disponível em: <http://www.boell-latinoamerica.org/downloads/revistananotecnologia.pdf>.

CHAUDRY, Q.; CASTLE, L. Food applications of nanotechnologies: An overview of opportunities and challenges for developing countries. **Trends Food Sci. Technol**, v. 22, p. 595-603, 2011.

COCKBURN, A.; BRADFORD, R.; BUCK, N.; CONSTABLE, A.; EDWARDS, G.; HABER, B. HEPBURN, P.; HOWLETT, J. KAMPERS, F.; KLEIN, C.; RADOMSKI, M.; STAMM, H.; WIJNHOFEN, S.; WILDWMANN, T. Approaches to the safety assessment of engineered nanomaterials (ENM) in food. **Food Chem. Toxicol**, v. 50, p. 2224–2242, 2012.

EMAMIFAR, A.; KADIVAR, M.; SHAHEDI, M.; SOLEIMANIAN-ZAD, S. Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange juice. **Food Control**, v. 22, p. 408-413, 2011.

Embrapa Instrumentação. Nanotecnologia em alimentos. 2012. Disponível em: <http://poscolheita.cnpdia.embrapa.br/nanotecnologia-em-alimentos>. Acesso em: 23 de set 2018.

EUROPEAN COMMISSION, 2012. Commission Recommendation of 3 October 2012 on the definition of nanomaterial. Official J. Eur. Union, L275/38. Segunda revisão regulamentar relativa a nanomateriais.

EZHILARASI, P. N.; KARTHIK, P.; CHHANWAL, N.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*. 6(3), 628-647. 2013, DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0944-0>.

GASKELL, G.; EYCK, T. T.; JACKSON, J.; VELTRI, G. Imaging nanotechnology: Cultural support for technological innovation in Europe and the United States. *Public Underst. Sci.*, v. 14, p. 81–90, 2005.

GHORMADE, V.; DESHPANDE, M. V.; PAKNIKAR, K. M. Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants. *Biotechnol. Adv.*, v. 29, p. 792–803, 2011.

GIANNOUSI, K.; AVRAMIDIS, I.; DENDRINOUSAMARA, C. Synthesis, characterization and evaluation of copper based nanoparticles as agrochemicals against *Phytophthora infestans*. *RSC Adv.*, v. 3, p. 21743-21752, 2013.

GUAN, H.; CHI, D.; YU, J.; LI, H. Dynamics of residues from a novel nano-imidacloprid formulation in soybean fields. *Crop Prot.*, v. 29, p. 942-946, 2010.

HAN J.H.; HO C.H.L.; Rodrigues E.T. Intelligent packaging. *Innovations in Food Packaging*, p. 138-156, 2005.

HELLAND, A.; SCHERINGER, M.; SIEGRIST, M.; KASTENHOLZ, H.; WIEK, A.; SCHOLZ, R. W. Risk assessment of engineered nanomaterials—Survey of industrial approaches. *Environ. Sci. Technol.*, v. 42, p. 640–646, 2008.

ILEŠ, D.; MARTINOVIĆ, G.; KOZAK, D. Review of Potential Use, Benefits and Risks of Nanosensors and Nanotechnologies in Food. *Strojarsvo*, v. 53, n. 2, p. 127-136, 2011.

INVERNIZZI, N.; FOLADORI, G. Nanotechnology and the developing world: will nanotechnology overcome poverty or widen disparities? *Nanotech. L. Bus. J.*, v. 2, p. 1-10, 2005.

KHOT, L. R.; SANKARAN, S.; MAJA, J. M.; EHSANI, R.; SCHUSTER, E. W. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. *Crop Prot.*, v. 35, p. 64-70, 2012.

KUMAR, S.; BHANJAN, G.; SHARMA, AMIT.; SIDHUB, M.C.; DILBAGHI, N. Synthesis, characterization and on field evaluation of pesticide loaded sodium alginate nanoparticles. *Carbohydr. Polym.*, v. 101, p. 1061– 1067, 2014.

LEI, J.; YANG, L.; ZHAN, Y.; WANG, Y.; YE, T.; LIA, Y.; DENG, H.; LI., B. Plasma treated polyethylene terephthalate/polypropylene films assembled with chitosan and various preservatives for antimicrobial food packaging. *Colloids Surf., B*, v. 114, p. 60–66, 2014.

LINA, X.; NIA, Y.; KOKOT, S. Glassy carbon electrodes modified with gold nanoparticles for the simultaneous determination of three food antioxidants. *Anal. Chim. Acta*, v. 765, p. 54– 62, 2013.

MEDINA, C.; SANTOS-MARTINEZ, M.J.; RADOMSKI, A.; CORRIGAN, O.I.; RADOMSKI, M.W. Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance. *Br. J. Pharmacol.*, v. 150, p. 552–558, 2007.

MOURA, M. R.; MATTOSO, L. H.C.; ZUCOLOTTI, V. Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging. **J. Food Eng.**, v. 109, p. 520-524, 2012.

PATHAKOTI, K.; MANUBOLU, M.; HWANG, H. Nanostructures: Current uses and future applications in food science. *Journal of food and drug analysis*, 25:245-253, 2017.

PEN. The Project Emerging Nanotechnologies. 2005. Disponível em: <http://www.nanotechproject.org/>. Acesso em: 18 set 2018.

PEN. The Project Emerging Nanotechnologies. 2013. Disponível em: <http://www.nanotechproject.org/news/archive/9240/>. Acesso em: 18 set 2018.

RHIM, J. W, PARK, H. M., HA, C. S. Bio-nanocomposites for Food Packaging Applications, **Prog. Polym. Sci.** (2013). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.05.008>

SAFI, M.; COURTOIS, J.; SEIGNEURET, H.; CONJEAUD, H.; BERRET, J.F. The effects of aggregation and protein corona on the cellular internalization of iron oxide nanoparticles. **Biomaterials**, v. 32, n. 35, p. 9353-9363, 2011.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., PASTOR, C., VARGAS, M., CHIRALT, A., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C., CHÁFER, M. Effect of hydroxypropyl methylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. **Postharvest Biol. Technol.**, v. 60, p. 57–63. 2011.

SHARMA, M. V. P.; KUMARI, V. D.; SUBRAHMANYAM, M. TiO<sub>2</sub> supported over SBA-15: an efficient photocatalyst for the pesticide degradation using solar light. **Chemosphere**, v. 73, p. 1562-1569, 2008.

SHRIVASTAVA, S., DASH, D. Agrifood Nanotechnology: A Tiny Revolution in Food and Agriculture. **J Nano Res.**, v. 6 p. 1–14, 2009.

SIEGRIST, M.; STAMPFLI, N.; KASTENHOLZ, H.; KELLER, C. Perceived risks and perceived benefits of different nanotechnology foods and nanotechnology food packaging. **Appetite**, v. 51, p. 283–290, 2008.

SMOLANDER M.; CHAUDHRY Q. Nanotechnologies in food packaging. **Nanotechnol. Food**, Manuscript, p. 86-101, 2010.

TANG, D.; TANG, J.; SU, B.; CHEN, G. Gold nanoparticles-decorated amine-terminated poly(amidoamine) dendrimer for sensitive electrochemical immunoassay of brevetoxins in food samples. **Biosens. Bioelectron.**, v. 26. p. 2090–2096, 2011.

VISWANATHAN, S.; RANI, C.; HO, J-A. A. Electrochemical immunosensor for multiplexed detection of food-borne pathogens using nanocrystal bioconjugates and MWCNT screen-printed electrode. **Talanta**, v. 94, p. 315–319, 2012.

## **SOBRE OS ORGANIZADORES**

**Glêndara Aparecida de Souza Martins** – É engenheira de alimentos, professora adjunta III da Universidade Federal do Tocantins, mestre em Ciência dos Alimentos pela Universidade Federal de Lavras, doutora em Biotecnologia pela rede BIONORTE com pós-doutorado realizado no Agrocampus Ouest- França.

**Juliana Fonseca Moreira da Silva** – É bióloga, professora adjunta III da Universidade Federal do Tocantins (UFT), mestre em Ciências do Ambiente pela UFT, fez doutorado sanduíche em Microbiologia pelo Programa de Pós-Graduação em Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais e pela United State Department of Agriculture-USDA.

**Guilherme Nobre Lima do Nascimento** – Possui graduação em Farmácia, mestrado em Ciências Farmacêuticas e doutorado em Química. É professor adjunto do curso de Nutrição da Universidade Federal do Tocantins.

**E**sta obra apresenta, inicialmente, a modelagem do processo de hidratação de grãos e a montagem de um calorímetro para determinação do calor específico de frutos do murici como tópicos que associam os fenômenos de transporte e o desenvolvimento de novos produtos alimentícios. No âmbito do processamento de alimentos, a oxidação lipídica é um dos fenômenos que pode afetar a qualidade de produtos cárneos. Estudos descritos nesta obra comprovam que a presença de pimenta rosa no processamento de linguças retarda a rancidez atuando como antioxidante natural.

O controle de qualidade de alimentos está atrelado à segurança alimentar, tornando-se fator primordial para a indústria de alimentos. Nesse sentido, novos estudos presentes nesta obra colaboram com a avaliação e o desenvolvimento de métodos alternativos para reduzir a contaminação e a deterioração de amendoins por aflatoxinas. É destaque, ainda, nesse contexto, a aplicação do controle biológico para minimizar os impactos da contaminação e deterioração pelo *Penicilium roqueforti* em queijo parmesão.

No que tange à biotecnologia aplicada à indústria de alimentos, esta obra apresenta uma revisão sistemática acerca de enzimas de importância, como a invertase e a frutossiltransferase. Ainda no âmbito da biotecnologia, as frutas do cerrado, murici e buriti, foram utilizadas como substratos para fermentação com grãos de kefir de água, mostrando que têm potencial para serem aplicadas na produção de bebidas funcionais. Por fim, um capítulo técnico trata de métodos de extração e preparo do gel de aloe vera e outro capítulo apresenta revisão acerca da nanotecnologia aplicada ao setor produtivo de alimentos.

