

*Consuelo Domenici Roberto*  
*Luciano José Quintão Teixeira*  
*Raquel Vieira de Carvalho*  
**Organizadores**

Tópicos especiais em

# ciência e tecnologia de alimentos

VOLUME (1)

 **EDUFES**

*Consuelo Domenici Roberto*  
*Luciano José Quintão Teixeira*  
*Raquel Vieira de Carvalho*  
**Organizadores**

Tópicos especiais em

# **ciência e tecnologia de alimentos**

VOLUME 

 **EDUFES**

Vitória, 2020



**Universidade Federal  
do Espírito Santo**



**EDUFES**  
EDITORA

**Editora Universitária – Edufes**

Filiada à Associação Brasileira  
das Editoras Universitárias (Abeu)

Av. Fernando Ferrari, 514  
Campus de Goiabeiras  
Vitória – ES · Brasil  
CEP 29075-910

+55 (27) 4009-7852  
edufes@ufes.br  
www.edufes.ufes.br

**Reitor**

Paulo Sergio de Paula Vargas

**Vice-reitor**

Roney Pignaton da Silva

**Chefe de Gabinete**

Zenólia Christina Campos Figueiredo

**Diretor da Edufes**

Wilberth Salgueiro

**Conselho Editorial**

Carlos Roberto Vallim, Cleonara Maria Schwartz,  
Eneida Maria Souza Mendonça, Fátima Maria  
Silva, Giancarlo Guizzardi, Gilvan Ventura da  
Silva, José André Lourenço, José Arminio Ferreira,  
Josevane Carvalho Castro, Julio César Bentivoglio,  
Marcos Vogel, Rogério Borges de Oliveira, Sandra  
Soares Della Fonte

**Secretaria do Conselho Editorial**

Douglas Salomão

**Administrativo**

Josias Bravim  
Washington Romão dos Santos

**Seção de Edição e Revisão de Textos**

Fernanda Scopel, George Vianna,  
Jussara Rodrigues, Roberta  
Estefânia Soares

**Seção de Design**

Ana Elisa Poubel, Juliana Braga,  
Samira Bolonha Gomes, Willi Piske Jr.

**Seção de Livraria e Comercialização**

Adriani Raimondi, Dominique Piazzarollo,  
Marcos de Alarcão, Maria Augusta  
Postinghel, Maria de Lourdes Zampier



Este trabalho atende às determinações do Repositório Institucional do Sistema Integrado de Bibliotecas da Ufes e está licenciado sob a Licença Creative Commons Atribuição-NãoComercial-SemDerivações 4.0 Internacional.

Para ver uma cópia desta licença, visite <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

**Preparação de texto**

Fernanda Scopel

**Projeto gráfico**

Seção de Design da Edufes

**Diagramação e capa**

Juliana Braga

**Revisão de texto**

Jussara Rodrigues

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

T674 Tópicos especiais em ciência e tecnologia de alimentos, volume 1  
[recurso eletrônico] / Consuelo Domenici Roberto, Luciano  
José Quintão Teixeira, Raquel Vieira de Carvalho,  
Organizadores. - Dados eletrônicos. - Vitória : EDUFES, 2020.  
334 p. : il.

Inclui bibliografia.

ISBN: 978-65-88077-02-3

Modo de acesso: <<http://repositorio.ufes.br/handle/10/774>>

1. Tecnologia de alimentos. 2. Biotecnologia. 3. Alimentos –  
Qualidade. 4. Alimentos - Avaliação sensorial. I. Roberto, Consuelo  
Domenici. II. Teixeira, Luciano José Quintão. III. Carvalho, Raquel  
Vieira de.

CDU: 664

Elaborado por Perla Rodrigues Lôbo – CRB-6 ES-000527/O

Esta obra foi composta com  
a família tipográfica Crimson Text.

# Sumário

<b><i>Prefácio</i></b> .....	7
Capítulo 1	
<b><i>Ultrassom na sanitização de frutas e hortaliças</i></b> .....	9
Capítulo 2	
<b><i>Uso da homogeneização a ultra-alta pressão em processos tecnológicos na indústria</i></b> .....	26
Capítulo 3	
<b><i>Aplicação de pulsos luminosos na descontaminação microbiana</i></b> .....	49
Capítulo 4	
<b><i>Plasma frio: uma tecnologia promissora para aumentar a segurança dos alimentos</i></b> .....	67
Capítulo 5	
<b><i>Antocianinas: extração e quantificação por diferentes métodos</i></b> .....	84
Capítulo 6	
<b><i>Microencapsulamento de pigmentos naturais</i></b> .....	105
Capítulo 7	
<b><i>Métodos para determinação de sulfitos em alimentos</i></b> .....	128
Capítulo 8	
<b><i>Oxidação lipídica em carnes e produtos cárneos: uma revisão</i></b> .....	146
Capítulo 9	
<b><i>Celulases produzidas por processos biotecnológicos e aplicações industriais</i></b> .....	162

Capítulo 10	
<i>Proteases extraídas de fontes vegetais aplicadas no amaciamento da carne</i> .....	180
Capítulo 11	
<i>A germinação de sementes na qualidade nutricional</i> .....	194
Capítulo 12	
<i>Culturas alimentares biofortificadas</i> .....	206
Capítulo 13	
<i>Comportamentos e percepções do consumidor relacionados à irradiação de alimentos: uma revisão</i> .....	217
Capítulo 14	
<i>Princípios da secagem de alimentos</i> .....	233
Capítulo 15	
<i>Tecnologia do processamento de licor: da extração ao envelhecimento</i> .....	252
Capítulo 16	
<i>Farinhas mistas utilizadas em produtos panificados: importância tecnológica</i> .....	271
Capítulo 17	
<i>Aproveitamento de resíduos agroindustriais</i> .....	287
Capítulo 18	
<i>Potenciais da análise de correlação canônica na ciência e tecnologia de alimentos</i> .....	302
<i>Sobre os organizadores</i> .....	328
<i>Sobre os autores</i> .....	328

# Prefácio

O Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PCTA) da Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes) foi criado em 2010 no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAIE), em Alegre. Foi o primeiro programa de pós-graduação nessa área de conhecimento no estado do Espírito Santo. Após dez anos de atividades dedicadas a pesquisas, os docentes e discentes têm a satisfação de apresentar o primeiro volume da obra *Tópicos especiais em ciência e tecnologia de alimentos*.

Esta publicação apresenta aos estudantes de graduação e pós-graduação e aos profissionais envolvidos na cadeia produtiva de alimentos uma coletânea de assuntos atuais sobre engenharia, ciência e tecnologia de alimentos. São abordados temas relacionados a: processamento não térmico dos alimentos (capítulos 1, 2, 3 e 4); química de alimentos (capítulos 5, 6, 7 e 8); biotecnologia (capítulos 9 e 10); qualidade nutricional de alimentos (capítulos 11 e 12); análise sensorial (capítulo 13); engenharia e tecnologia de alimentos (capítulos 14, 15, 16 e 17); estatística aplicada a ciência e tecnologia de alimentos (capítulo 18).

O conteúdo desses capítulos é resultado de uma extensa revisão bibliográfica empreendida por professores, discentes e ex-alunos do PCTA, com participação de estudantes do curso de Engenharia de Alimentos do CCAIE, e também por outros convidados com vasta experiência profissional nos temas aqui desenvolvidos.

Esta é uma modesta contribuição, já que os tópicos abordados são desafiadores e de grande extensão, sendo impossível abrangê-los em toda sua extensão em um único volume. Não obstante, a contribuição deste livro é reunir de forma simples, clara e objetiva assuntos que vêm sendo investigados em pesquisas inovadoras na área de alimentos, de modo a suprir a escassez de material na literatura brasileira dessa área.

Agradecemos ao CCAE e à Ufes pelo apoio institucional e especialmente aos autores dos capítulos pelo empenho e dedicação em produzir textos relevantes sobre a cadeia produtiva de alimentos.

*Os organizadores*



## Capítulo 1

---

# *Ultrassom na sanitização de frutas e hortaliças*

Patrícia Campos Bernardes  
Denes Kaic Alves do Rosário  
Syllas Burburema Silva Oliveira  
Ana Lúcia Almeida Duarte

### **Introdução**

O consumo de frutas e hortaliças tem se destacado nos últimos anos devido à crescente busca por hábitos mais saudáveis. No entanto, sem os cuidados corretos de sanitização, a saúde dos consumidores pode ser comprometida, havendo inclusive relatos de doenças veiculadas por alimentos (DVAs) após o consumo de frutas e hortaliças. Devido ao grande risco de ocorrer contaminação por microrganismos patogênicos e deterioradores durante a cadeia produtiva, o controle microbiológico torna-se fundamental.

A operação de lavagem associada à sanitização é considerada a etapa crítica para a redução do número de microrganismos em alimentos. A sanitização tem como objetivo destruir microrganismos patogênicos e reduzir os deterioradores. Porém, com o uso de alguns compostos químicos, tradicionalmente utilizados, se consegue reduzir no máximo de dois a três ciclos logarítmicos desses microrganismos. Essa baixa redução pode ocorrer devido à dificuldade de os sanitizantes atingirem as células

microbianas que estão protegidas pelas irregularidades e estruturas da superfície do alimento. Sendo assim, buscam-se métodos mais eficientes na descontaminação de superfícies dos alimentos a fim de garantir uma melhora na inocuidade destes.

Os sanitizantes à base de cloro são os mais utilizados pela indústria alimentícia por sua ampla facilidade de uso, baixo custo, atividade antimicrobiana e dissolução completa em água (ALLENDE; MCEVOY; LUO, 2008; SELMA *et al.*, 2008; NASCIMENTO; SILVA, 2010; SHEN *et al.*, 2012). No entanto, há um grande interesse em substituí-los devido ao seu limitado efeito de redução microbiana, que varia de um a dois ciclos logarítmicos dependendo do alimento e das condições de aplicação. Além disso, os compostos clorados podem formar produtos tóxicos quando em contato com matéria orgânica em estágio final de decomposição, que são os trihalometanos (ANDRADE, 2008).

O ultrassom é uma tecnologia que vem crescendo entre os métodos alternativos disponíveis para sanitização na indústria de alimentos. Uma das aplicações que têm sido estudadas é seu efeito na remoção de partículas aderidas às superfícies e na inativação de microrganismos dos alimentos. Alguns estudos vêm mostrando que a associação dessa tecnologia a outros sanitizantes pode proporcionar uma maior redução da contaminação microbiana. E, por ser um tratamento não térmico, espera-se que não altere as propriedades nutricionais, sensoriais e físico-químicas do alimento.

## **1. Microrganismos patogênicos veiculados por frutas e hortaliças**

O consumo de alimentos mais próximos do estado *in natura* e com o mínimo de processamento tem se tornado uma opção para pessoas que buscam um estilo de vida mais saudável. Concomitantemente ao aumento no consumo de frutas e hortaliças, a incidência das DVAs também é cada vez maior, e esse dado é preocupante quando se observa o aumento da ocorrência na população em faixa de risco, como idosos e indivíduos imunodeprimidos.

*Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, alguns tipos de vírus e protozoários são os microrganismos mais envolvidos em DVAs, sendo que os vegetais, principalmente os consumidos crus, fazem parte dos alimentos que veiculam esses patógenos (ABADIAS *et al.*, 2008). No Brasil, dados da vigilância epidemiológica mostram que, entre 2009 e 2018, as hortaliças estiveram em décimo

lugar na relação dos alimentos envolvidos em DVAs, com 63 surtos alimentares, e *Salmonella* estava em segundo lugar entre os agentes etiológicos identificados, com 11,2 %, totalizando 227 casos (BRASIL, 2019). Nos Estados Unidos, uma a cada seis pessoas é vítima de doenças veiculadas por alimentos por ano, e *Salmonella* também é a bactéria mais associada aos surtos. Estima-se que há anualmente cerca de 1,35 milhão de casos de salmonelose e aproximadamente 420 casos são fatais (CDC, 2019).

Os microrganismos patogênicos conseguem se manter viáveis por vários dias na superfície de frutas e hortaliças, e essa sobrevivência pode variar conforme o tipo de microrganismo e a localização no tecido vegetal (BARTZ *et al.*, 2015).

O biofilme é uma forma de microrganismos manterem-se viáveis em superfície de alimentos. Constitui-se de um arranjo de microrganismos em uma matriz exopolissacarídica associada a superfícies, de forma irreversível, e essa condição dificulta o efeito sanitizante dos compostos químicos (ZOTTOLA; SASAHARA, 1994; ANDRADE, 2008). De acordo com Morris e Monier (2003), entre 30 % e 80 % da população total de bactérias na superfície de uma hortaliça são decorrentes de biofilmes.

Patógenos podem se transportar para regiões internas de frutas e hortaliças, por meio de água externa ou locomoção independente, através de aberturas, como estômatos, hidatódios, lenticelas e injúrias, na superfície. Além disso, podem colonizar essas regiões, onde estão protegidos de fatores ambientais e ação de sanitizantes (OLAEMAT; HOLLEY, 2012; FDA, 2017; BARTZ *et al.*, 2015).

Diversos fatores contribuem para a internalização de bactérias. Alguns microrganismos, como fungos, quando presentes, podem causar ruptura no tecido dos frutos, o que facilita a penetração de bactérias (RICHARDS; BEUCHAT, 2005). E fatores de virulência, como fimbrias, potencializam a interação entre o patógeno e os vegetais (BARAK *et al.*, 2005).

## **2. Sanitização de frutas e hortaliças**

Para garantia da segurança e qualidade de vegetais após a colheita, por um determinado período de vida útil, a sanitização é um dos pontos mais importantes da linha de produção ou processamento de frutas e hortaliças (ULIANA *et al.*, 2015).

A operação de lavagem associada ao uso de soluções sanitizantes é considerada a única etapa na qual pode ser alcançada a redução no número de microrganismos deterioradores e patogênicos, contribuindo assim para a obtenção de produtos microbiologicamente seguros (RUÍZ-CRUZ *et al.*, 2007; ALLENDE; MCEVOY; LUO, 2008).

Os sanitizantes são agentes, geralmente químicos, que visam a redução da carga microbiana inicial e a eliminação de patógenos (NASCIMENTO; SILVA, 2010). Os sanitizantes mais usados na indústria de alimentos são compostos à base de cloro, iodo, peróxido de hidrogênio, ácido peracético e quaternário de amônio.

### *2.1. Compostos clorados*

Sanitizantes à base de cloro ou de compostos clorados são os mais utilizados pela indústria alimentícia, graças ao seu fácil manuseio, baixo custo, atividade antimicrobiana e completa dissolução em água (NASCIMENTO; SILVA, 2010).

Além de liberar oxigênio, que combina com os componentes do protoplasma celular, o cloro pode interagir com proteínas de membrana celular e oxidar as ligações sulfidrílicas de enzimas importantes, ações que afetam o metabolismo dos microrganismos.

O ácido hipocloroso (HClO), produto resultante da hidrólise da substância clorada, é o principal responsável pela ação oxidante e sanitizante dos compostos clorados, pois é a forma de cloro livre disponível que proporciona ampla destruição de microrganismos (PARISH *et al.*, 2003). Nesse sentido, compostos clorados são mais efetivos em valores de pH mais baixos, nos quais há maior concentração de ácido hipocloroso.

Outro composto clorado muito utilizado pela indústria de alimentos é o dióxido de cloro, que, embora não forme ácido hipocloroso no seu mecanismo de ação, atua numa faixa mais ampla de pH e oxida substâncias essenciais ao metabolismo microbiano (ANDRADE, 2008).

Os compostos clorados podem ser classificados em inorgânicos e orgânicos. Compostos clorados orgânicos, como o dicloroisocianurato de sódio, são mais estáveis em solução aquosa do que os inorgânicos, como o hipoclorito de sódio. Essa maior estabilidade dos orgânicos se deve a uma liberação mais lenta do ácido hipocloroso, o que permite que eles permaneçam efetivos por períodos de tempo maiores,

mesmo na presença de matéria orgânica. Outra vantagem dos compostos clorados orgânicos é o fato de não formarem trihalometanos, que são compostos potencialmente cancerígenos que se formam, principalmente, quando os compostos clorados inorgânicos entram em contato com matéria orgânica em estado final de decomposição (MACÊDO, 2004; ANDRADE, 2008).

Para a sanitização de frutas e hortaliças, as concentrações indicadas de cloro residual livre variam entre 50 e 200 mg.L<sup>-1</sup> com um tempo de contato de 1 a 30 minutos (PARISH *et al.*, 2003).

## 2.2. *Ácido peracético*

Entre os sanitizantes usados atualmente, o ácido peracético tem se destacado devido à sua inativação eficiente de microrganismos patogênicos e deterioradores, não afetada pela presença de matéria orgânica e proteínas.

Além disso, o ácido peracético tem baixo impacto ambiental, uma vez que os produtos de sua decomposição são o ácido acético e o peróxido de hidrogênio (SREY; JAHID; HA, 2013).

A Food and Drug Administration (FDA) aprova o uso de ácido peracético na concentração de até 80 mg.L<sup>-1</sup> em frutas e hortaliças.

## 2.3. *Surfactantes*

Surfactantes ou tensoativos são moléculas capazes de reduzir a tensão superficial dos fluidos aquosos, graças ao seu caráter anfótero. Diversos trabalhos comprovam a sua eficiência na higienização de frutas e hortaliças (ROCHA; GONÇALVES; FARIA, 2010; COSTA *et al.*, 2012; SAGONG *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2013).

Tais moléculas atuam alterando as propriedades interfaciais das superfícies de adesão e contribuindo para a prevenção da adesão dos microrganismos nas superfícies (MACHADO, 2005). Sua eficiência é aumentada pela capacidade que possuem de causar o rompimento das interações das superfícies com os microrganismos e, assim, remover patógenos mais rapidamente. Esse processo apresenta variação de acordo com a composição química da superfície e a interação química entre o produto e o microrganismo (RAIDEN, 2002).

Os surfactantes podem ser classificados, de acordo com sua ionização em solução aquosa, em: catiônicos, aniônicos, não iônicos e anfóteros.

Os catiônicos têm sido amplamente relatados por suas propriedades antimicrobianas e são representados pelos compostos quaternários de amônia, também conhecidos como “quats”. Esses compostos interagem com a membrana citoplasmática, afetando as suas propriedades de permeabilidade. A permeabilidade seletiva da membrana celular representa a principal função no controle de reações biológicas no interior da célula. Sendo assim, qualquer interferência na permeabilidade da membrana conduz a grandes prejuízos para os microrganismos, podendo levá-los à morte. A carga positiva dos surfactantes catiônicos facilita a interação deles com a membrana bacteriana, que é negativamente carregada, em pH neutro, o que confere a essa categoria de surfactantes uma boa atividade antimicrobiana (ANDRADE, 2008).

O cloreto de benzalcônio é o surfactante catiônico mais utilizado nas linhas de processamento e superfícies das indústrias de alimentos e preparações farmacêuticas, e também como agente desinfetante clínico e antisséptico em instituições de saúde (VELÁZQUEZ *et al.*, 2009). Possui uma ampla ação antimicrobiana, que causa a morte celular por desnaturação das proteínas, alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática e reduzindo a entrada normal de nutrientes na célula (MACHADO, 2005).

Dos surfactantes aniônicos, pode-se destacar o dodecilbenzeno sulfonato de sódio (DBSS), tensoativo aniônico, biodegradável e que, de acordo com a FDA, pode ser usado em concentrações de até 20.000 mg.L<sup>-1</sup> na sanitização de frutas e vegetais.

As demais classes de surfactantes, por não terem ação santizante direta, são mais utilizadas em formulações para redução da tensão interfacial das soluções.

#### *2.4. Ultrassom*

A aplicação do ultrassom gera ondas sonoras de intensidade e amplitude específicas, dependendo da frequência operacional. Ele pode ser classificado em duas categorias principais, o ultrassom de baixa potência (> 100 kHz) e o de alta potência (de 20 a 100 kHz). Ambos têm sido utilizados na indústria de alimentos (SANGO *et al.*, 2014): o de baixa potência, para avaliar as propriedades físico-químicas dos produtos alimentares, tais como composição e estrutura, e outras avaliações de controle de

qualidade (DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2009; AWAD *et al.*, 2012); e o de alta potência, em processos de cristalização, emulsificação, secagem, processos de congelamento, inativação de enzimas e inativação de microrganismos durante os tratamentos de higienização (ARZENI *et al.*, 2012; SANGO *et al.*, 2014).

A aplicação de ultrassom requer a presença de uma fase líquida, para isso há ultrassons de banho ou sondas ultrassônicas de imersão (AWAD *et al.*, 2012; SANGO *et al.*, 2014).

Na cavitação acústica, gerada por altas potências, ondas longitudinais são criadas e causam áreas de compressão e expansão alternadas. No ciclo de expansão, pequenas bolhas em meio líquido crescem devido à redução na pressão local para níveis abaixo da pressão de vapor do líquido. Na fase de compressão, a área de superfície da bolha é reduzida. Nesse processo de movimentos alternados pode ocorrer implosão das bolhas, gerando zonas de alta temperatura (até 5.000 °C) e pressão elevada (até 1.000 atm) (PATIST; BATES, 2008; MUKHOPADHYAY; RAMASWAMY, 2012). Com a implosão, podem ser formados radicais livres, que possuem capacidade oxidativa e causam danos no DNA de microrganismos por meio de rupturas e fragmentação ao longo de sua extensão (GOGATE; KABADI, 2009; SÃO JOSÉ *et al.*, 2014a). Quando combinado com sanitizantes químicos, como  $\text{Cl}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{O}_3$ , o ultrassom permite maior penetração desses agentes oxidantes na membrana celular dos microrganismos, resultando em uma melhor sanitização. A intensa pressão gerada pela cavitação auxilia na desagregação de microrganismos e culmina em melhor eficiência do sanitizante: a difusão de soluções antimicrobianas na membrana celular aumenta graças à implosão das bolhas, que geram microjatos que, por sua vez, podem causar danos a essa membrana (GUERRERO; LÓPEZ-MALO; ALZAMORA, 2001; KNORR *et al.*, 2011; GIL *et al.*, 2009; GOGATE; KABADI, 2009; SANGO *et al.*, 2014).

A resistência de diferentes microrganismos depende de muitos fatores, tais como as propriedades do meio, o tempo, a intensidade do tratamento, da temperatura e do pH (CHANDRAPALA *et al.*, 2012).

Uma vantagem da utilização dessa tecnologia na indústria alimentícia é que o ultrassom não produz odor desagradável, não altera as condições nutricionais do alimento, não gera calor e pode ser aplicado em temperatura ambiente, o que favorece o seu uso na sanitização de frutas e hortaliças (FERNANDES; RODRIGUES, 2007).

Vários trabalhos avaliaram a eficiência do ultrassom isoladamente ou combinado com sanitizantes em microrganismos patogênicos e deterioradores (FRANCISCO *et al.*, 2018; SILVEIRA *et al.*, 2018; ROSÁRIO *et al.*, 2018; ADAY *et al.*, 2013; ADAY; CANER, 2014; SÃO JOSÉ; VANETTI, 2015; SÃO JOSÉ *et al.*, 2014b, 2015), em biofilmes (OULAHAL-LAGSIR *et al.*, 2003; OULAHAL *et al.*, 2007) e em esporos (GORMAN; JONES; LOFTUS, 1990; RASO *et al.*, 1998; HA; KIM; HA, 2012; SAGONG *et al.*, 2013; FERRARIO; ALZAMORA; GUERRERO, 2015).

Em seu estudo, São José e Vanetti (2012) conseguiram reduzir quatro ciclos logarítmicos da população de *Salmonella* Typhimurium aderida na superfície de tomates-cereja combinando o ultrassom e o ácido peracético. E a associação do ultrassom (45 kHz) com hipoclorito de sódio a 50 mg.L<sup>-1</sup> reduziu 1,2 ciclo logarítmico a mais de células de *Salmonella* Typhimurium do que o tratamento que utiliza apenas a solução clorada em alface (SEYMOUR *et al.*, 2002).

Rosário (2016) avaliou os efeitos do uso de diferentes compostos químicos – ácido acético, dodecilbenzeno sulfonato de sódio (DBSS) e ácido peracético – isoladamente e combinados com ultrassom (40 kHz) na sanitização de morangos e suas influências nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais, logo após a sanitização e durante o tempo de armazenamento de até nove dias a 8 ± 1 °C. Como resultado, observou-se que os usos de ultrassom combinado com ácido peracético (40 mg.L<sup>-1</sup>) e de ácido peracético isolado se destacaram, obtendo as maiores reduções na microbiota dos morangos. O ultrassom melhorou o efeito do ácido peracético na remoção de células de *Salmonella* aderidas aos morangos. O ácido acético (800 mg.L<sup>-1</sup>) e o DBSS (1.200 mg.L<sup>-1</sup>) também tiveram seus efeitos potencializados pelo ultrassom para fungos filamentosos, leveduras e mesófilos aeróbios. Além disso, o ultrassom aplicado de forma isolada foi capaz de reduzir a contagem de fungos filamentosos e leveduras ao mesmo nível que o ácido peracético. Não ocorreram alterações sensoriais e físico-químicas nos morangos (acidez total titulável, pH, teor de sólidos solúveis totais, cor, vitamina C, perfil de textura) em relação aos morangos não tratados.

Oliveira (2016) também observou a possibilidade de se substituir o uso de composto clorado inorgânico por ultrassom (40 kHz) na redução da microbiota de repolho roxo. Além disso, verificou-se que o ultrassom foi capaz de aumentar em um



ciclo logarítmico o efeito do composto clorado orgânico na remoção de *Salmonella Typhimurium* na superfície do repolho roxo.

Por outro lado, tanto Rosário (2016) quanto Oliveira (2016) constataram que o ultrassom quando utilizado isoladamente não foi capaz de inativar a bactéria patogênica *Salmonella* na solução de sanitização. Isso demonstra que o efeito principal do ultrassom foi de auxiliar a ação dos agentes sanitizantes no morango e no repolho roxo. Já o composto clorado orgânico, o surfactante cloreto de benzalcônio e o ácido peracético foram capazes de inativar completamente as células de *Salmonella* nas soluções sanitizantes, combinados ou não ao ultrassom.

### **Considerações finais**

O ultrassom é uma tecnologia que tem apresentado resultados satisfatórios na sanitização de frutas e hortaliças, especialmente quando aplicado em conjunto com sanitizantes na inativação de microrganismos patogênicos e deterioradores. Assim, essa tecnologia tem potencial para ser usada na etapa de sanitização, de forma a auxiliar o efeito de compostos químicos em frutas e hortaliças, a fim de diminuir os riscos de doenças veiculadas por esses alimentos e a deterioração deles. Para isso, o tempo de aplicação, a frequência utilizada, assim como os efeitos nas características nutricionais e sensoriais de cada alimento, devem ser avaliados para que ocorra a máxima remoção de contaminantes microbiológicos sem alterações indesejáveis nesses produtos.

### **Referências**

ABADIAS, M. *et al.* Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 123, n. 1-2, p. 121-129, 31 Mar. 2008.

ADAY, M. S.; CANER, C. Individual and combined effects of ultrasound, ozone and chlorinedioxide on strawberry storage life. **LWT – Food Science and Technology**, v. 57, n. 1, p. 344-351, June 2014.

ADAY, M. S. *et al.* An innovative technique for extending shelf life of strawberry: ultrasound. **LWT – Food Science and Technology**, v. 52, n. 2, p. 93-101, July 2013.

ALLENDE, A.; MCEVOY, J. Y.; LUO, Y. Antimicrobial effect of acidified sodium chlorite, sodium chlorite, sodium hypochlorite, and citric acid on *Escherichia coli* O157:H7 and natural microflora of fresh-cut cilantro. **Food Control**, v. 20, n. 3, p. 230-234, Mar. 2008.

ANDRADE, N. J. **Higiene na indústria de alimentos**: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes. São Paulo: Varela, 2008.

ARZENI, C. *et al.* Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 3, p. 463-472, Feb. 2012.

AWAD, T. S. *et al.* Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: a review. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 410-427, Oct. 2012.

BARAK, J. D. *et al.* *Salmonella enterica* virulence genes are required for bacterial attachment to plant tissue. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D. C., v. 71, n. 10, p. 5.685-5.691, Oct. 2005.

BARTZ, J. A. *et al.* Internalization of *Salmonella enterica* by tomato fruit. **Food Control**, v. 55, p. 141-150, Sept. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças transmitidas por alimentos**. Brasília: SVS/MS, 2019. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2019/maio/17/Apresentacao-Surtos-DTA-Maio-2019.pdf>. Acesso em: 8 jun. 2020.

CAO, S. *et al.* Effect of ultrasound treatment on fruit decay and quality maintenance in strawberry after harvest. **Food Control**, v. 21, n. 4, p. 529-532, Apr. 2010.

CDC. **Salmonella homepage**. Information for healthcare professionals and laboratories. 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/general/technical.html>. Acesso em: 26 mar. 2020.

CHANDRAPALA, J. *et al.* Ultrasonics in food processing – food quality assurance and food safety. **Trends in Food Science & Technology**, v. 26, n. 2, p. 88-98, Aug. 2012.

COSTA, E. A. *et al.* Avaliação microbiológica de alfaces (*Lacuta sativa* L.) convencionais e orgânicas e a eficiência de dois processos de higienização. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 23, n. 3, p. 387-392, jul./set. 2012.

DEMIRDÖVEN, A.; BAYSAL, T. The use of ultrasound and combined technologies in food preservation. **Food Reviews International**, London, v. 25, n. 1, p. 1-11, Jan. 2009.

DUARTE, A. L. A. *et al.* Ultrasound improves antimicrobial effect of sodium dichloroisocyanurate to reduce *Salmonella* Typhimurium on purple cabbage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 269, p. 12-18, 2018.

FDA. **Potential for infiltration, survival, and growth of human pathogens within fruits and vegetables**. 2017. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/hazard-analysis-critical-control-point-haccp/potential-infiltration-survival-and-growth-human-pathogens-within-fruits-and-vegetables>. Acesso: 26 mar. 2020.

FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Ultrasound as pre-treatment for drying of fruits: dehydration of banana. **Journal of Food Engineering**, v. 82, n. 2, p. 261-267, Sept. 2007.

FERRARIO, M.; ALZAMORA, S. M.; GUERRERO, S. Study of the inactivation of spoilage microorganisms in apple juice by pulsed light and ultrasound. **Food Microbiology**, v. 46, p. 635-642, Apr. 2015.

FRANCISCO, C. A. I. *et al.* Synergistic effect of sodium hypochlorite and ultrasound bath in the decontamination of fresh arugulas. **Journal of Food Safety**, v. 38, p. e12391, 2018.

GIL, M. I. *et al.* Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: problems and solutions. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 134, n. 1-2, p. 37-45, June 2009.

GOGATE, P. R.; KABADI, A. M. A review of application of cavitation in biochemical engineering/biotechnology. **Biochemical Engineering Journal**, v. 44, n. 1, p. 60-72, Apr. 2009.

GORMAN, S.; JONES, D.; LOFTUS, A. The synergistic effect of direct and indirect ultrasonic energy and chlorhexidine gluconate on spores of *Bacillus subtilis*. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 65, n. 1-2, p. 127-132, 1990.

GUERRERO, S.; LÓPEZ-MALO, A.; ALZAMORA, S. M. Effect of ultrasound on the survival of *Saccharomyces cerevisiae*: influence of temperature, pH and amplitude. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 2, n. 1, p. 31-39, Mar. 2001.

HA, J.; KIM, H.; HA, S. Effect of combined radiation and NaOCl/ultrasonication on reduction of *Bacillus cereus* spores in rice. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 81, n. 8, p. 1.177-1.180, Aug. 2012.

KNORR, D. *et al.* Emerging technologies in food processing. **Annual Review of Food Science and Technology**, Palo Alto, v. 2, p. 203-235, Apr. 2011.

MACÊDO, J. A. B. O uso de derivados clorados orgânicos no processo de desinfecção de água para abastecimento público. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 44., 20-24 set. 2004, Fortaleza. **Anais** [...]. Fortaleza: CBQ, 2004.

MACHADO, S. M. O. **Avaliação do efeito antimicrobiano do surfactante cloreto de benzalcônio no controlo da formação de biofilmes indesejáveis.** 2005. 113 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia do Ambiente) – Universidade do Minho, Guimarães, 2005.

MORRIS, C. E.; MONIER, J. M. The ecological significance of biofilm formation by plant-associated bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 41, p. 429-453, Sept. 2003.

MUKHOPADHYAY, S.; RAMASWAMY, R. Application of emerging technologies to control *Salmonella* in foods: a review. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 666-677, Mar. 2012.

NASCIMENTO, M. S.; SILVA, N. Tratamentos químicos de sanitização de morango (*Fragaria vesca* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 11-17, 2010.

OLAIMAT, A. N.; HOLLEY, R. A. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. **Food Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 1-19, May 2012.

OLIVEIRA, S. B. S. **Sanitização de repolho roxo (*Brassica oleracea* var. *capitata*) por compostos químicos e ultrassom.** 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2016.

OULAHAL, N. *et al.* Removal of meat biofilms from surfaces by ultrasounds combined with enzymes and/or a chelating agent. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 8, n. 2, p. 192-196, June 2007.

OULAHAL-LAGSIR, N. *et al.* “*Escherichia coli*-milk” biofilm removal from stainless steel surfaces: synergism between ultrasonic waves and enzymes. **Biofouling**, London, v. 19, n. 3, p. 159-168, 2003.

PARISH, M. E. *et al.* Methods to reduce/eliminate pathogens form fresh and fresh-cut produce. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 2, p. 161-173, Nov. 2003. Supplement 1.

PATIST, A.; BATES, D. Ultrasonic innovations in the food industry: from the laboratory to commercial production. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, n. 2, p. 147-154, Apr. 2008.

RAIDEN, R. M. **Efficacy of detergent rinse agents to remove *Salmonella* and *Shigella* spp. from the surface of fresh produce.** 2002. 80 p. Thesis (Master of Science in Food Science and Technology) – Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, 2002.

RASO, J. *et al.* Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by combining ultrasonic waves under pressure and mild heat treatment. **Journal of Applied Microbiology**, London, v. 85, n. 5, p. 849-854, Dec. 1998.

RICHARDS, G. M.; BEUCHAT, L. R. Infection of cantaloupe rind with *Cladosporium cladosporioides* and *Penicillium expansum* and associated migration of *Salmonella* Poona into edible tissues. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 103, n. 1, p. 1-10, Aug. 2005.

ROCHA, T. M.; GONÇALVES, E. C. B. A; FARIA, M. V. C. Lavagem e sanitização em maçã (*Malus domestica* borkh.) Cultivar royal gala: avaliação na redução de pesticidas organofosforados. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 4, p. 659-665, out./dez. 2010.

ROSÁRIO, D. K. A. **Efeitos isolados e combinados de ultrassom e de compostos químicos em morangos (*Fragaria x ananassa* Duch.).** 2016. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2016.

ROSÁRIO, D. K. A. *et al.* Ultrasound improves chemical reduction of natural contaminant microbiota and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* on strawberries. **International Journal of Food Microbiology**, v. 241, p. 23-29, 2017.

ROSARIO, D. K. A. *et al.* Ultrasound improves antimicrobial effect of sodium hypochlorite and instrumental texture on fresh-cut yellow melon. **Journal of Food Quality**, v. 2018, p. 1-6, Dec. 2018.

RUÍZ-CRUZ, S. *et al.* Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots. **Food Control**, v. 18, n. 11, p. 1.383-1.390, Nov. 2007.

SAGONG, H. *et al.* Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 145, n. 1, p. 287-292, Jan. 2011.

SAGONG, H. *et al.* Combined effects of ultrasound and surfactants to reduce *Bacillus cereus* spores on lettuce and carrots. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 160, p. 367-372, Jan. 2013.

SANGO, D. M. *et al.* Assisted ultrasound applications for the production of safe foods. **Journal of Applied Microbiology**, London v. 116, n. 5, p. 1.067-1.083, Feb. 2014.

SÃO JOSÉ, J. F. B. *et al.* Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. **Food Control**, v. 35, p. 36-50, Nov. 2014a.

SÃO JOSÉ, J. F. B. *et al.* Removal of *Salmonella enterica* Enteritidis and *Escherichia coli* from green peppers and melons by ultrasound and organic acids. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 190, p. 9-13, Aug. 2014b.

SÃO JOSÉ, J. F. B. *et al.* Ultrasound and organic acids in removal of *Salmonella enterica* Enteritidis and *Escherichia coli* from pears surfaces. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 33, n. 1, p. 118-128, jan./jun. 2015.

SÃO JOSÉ, J. F. B.; VANETTI, M. C. D. Application of ultrasound and chemical sanitizers to watercress, parsley and strawberry: microbiological and physicochemical quality. **LWT – Food Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 946-952, Apr. 2015.

SÃO JOSÉ, J. F. B.; VANETTI, M. C. D. Effect of ultrasound and commercial sanitizers in removing natural contaminants and *Salmonella enterica* Typhimurium on cherry tomatoes. **Food Control**, v. 24, n. 1-2, p. 95-99, Mar./Apr. 2012.

SELMA, M. V. *et al.* Effect of gaseous ozone and hot water on microbial a sensory quality of cantaloupe and potential transference of *Escherichia coli* O157:H7 during cutting. **Food Microbiology**, v. 25, n. 1, p. 162-168, Feb. 2008.

SEYMOUR, I. J. *et al.* Ultrasound decontamination of minimally processed fruits and vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 37, n. 1, p. 547-557, June 2002.

SHEN, C. *et al.* Enhanced inactivation of *Salmonella* and *Pseudomonas* biofilms on stainless steel by use of T-128, a fresh produce washing aid in chlorinated wash solution. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D. C., v. 78, n. 19, p. 6.789-6.798, June 2012.

SILVEIRA, L. O. *et al.* Combination of peracetic acid and ultrasound reduces *Salmonella* Typhimurium on fresh lettuce (*Lactuca sativa* L. var. crispata). **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 55, n. 4, p. 1.535-1.540, Apr. 2018.

SREY, S.; JAHID, I. K.; HA, S. D. Biofilm formation in food industries: a food safety concern. **Food Control**, v. 31, p. 572-585, June 2013.



ULIANA, M. R. *et al.* Influência da sanitização na qualidade de goiabas orgânicas e convencionais. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, Hermosillo, v. 16, n. 1, p. 35-41, ago. 2015.

VELÁZQUEZ, L. C. *et al.* Evaluation of chlorine, benzalkonium chloride and lactic acid as sanitizers for reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Yersinia enterocolitica* on fresh vegetables. **Food Control**, v. 20, p. 262-268, Mar. 2009.

WANG, Z. *et al.* Effectiveness of dishwashing liquids in removing chlorothalonil and chlorpyrifos residues from cherry tomatoes. **Chemosphere**, v. 9, n. 8, p. 1.022-1.028, Aug. 2013.

ZOTTOLA, E. A.; SASAHARA, K. C. Microbial biofilms in the food processing industry – should they be a concern. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 23, p. 125-148, Oct. 1994.

## Capítulo 2

---

# *Uso da homogeneização a ultra-alta pressão em processos tecnológicos na indústria*

Yanne Boaventura Nobre  
Luciano José Quintão Teixeira  
Kátia Silva Maciel  
Estefânia Pecegueiro Prudêncio  
Joel Camilo Souza Carneiro

### **Introdução**

O tratamento térmico é uma das aplicações tecnológicas mais antigas utilizadas na conservação de alimentos (GHANI *et al.*, 1999). Desde a descoberta da apertização e da pasteurização, diversos outros métodos seguiram a mesma linha metodológica a fim de inativar enzimas e destruir ou reduzir a contaminação microbiana. Apesar de esses serem métodos seguros, diversas alterações são geradas nas características nutricionais e sensoriais dos alimentos (SHOMER; COGAN; MANNHEIM, 1994).

Em razão da nova demanda de consumo por produtos mais próximos aos naturais e ricos em termos nutricionais, novos métodos estão em desenvolvimento

e aplicação para avaliação de sua efetividade em processamento de alimentos (TAHIRI *et al.*, 2006). Tais tecnologias são denominadas não convencionais ou emergentes (SILVA, 2011) e agrupam diversos tipos de métodos conhecidos por tratamentos não térmicos, como uso de luz ultravioleta (GAVA *et al.*, 2014), ultrassom (SCHUINA *et al.*, 2014), radiação ionizante (SCOLFORO *et al.*, 2014), alta pressão dinâmica (FERREIRA *et al.*, 2014), pulsos elétricos (BERNABÉ *et al.*, 2014), entre outros.

Os tratamentos não térmicos têm sido explorados em diversos estudos com a finalidade de preservar as características sensoriais (JUAN *et al.*, 2015) e nutricionais (SUAREZ-JACOB *et al.*, 2011) dos alimentos e de prolongar a vida de prateleira deles (TAHIRI *et al.*, 2006) como forma a substituir ou complementar os tratamentos térmicos tradicionais. Caprita e Caprita (2010) afirmam que essa estratégia, por reduzir ou evitar a aplicação de calor, permite minimizar os danos gerados pelos métodos tradicionais.

A homogeneização a ultra-alta pressão (HUAP) é um tratamento não térmico que tem sido utilizado com o objetivo de reduzir o tamanho de partículas (BRIVIBA *et al.*, 2015), promover melhoria das propriedades reológicas e de textura dos alimentos (LIU; KUO, 2015), bem como inativar ou destruir microrganismos patogênicos e deteriorantes (MASSON, 2010; KHEADR *et al.*, 2002). Estudos têm relatado o uso da HUAP como um método eficaz para eliminação de microrganismos patogênicos e esporos sem afetar as características nutricionais dos produtos alimentícios (SCHUINA *et al.*, 2014; TAHIRI *et al.*, 2006).

Considerando o exposto, este capítulo apresenta uma visão geral sobre a tecnologia da alta pressão, enfatizando o uso isolado ou combinado da técnica de homogeneização a ultra-alta pressão para produtos alimentícios, como uma alternativa aos métodos convencionais aplicados na conservação de alimentos.

## **1. Histórico**

O processamento a alta pressão teve início em 1899 por Hite, ao usar uma prensa hidráulica (680 MPa) para teste de inativação de bactérias deterioradoras em leite (TRIBST, 2008). Bridgman, assim como Hite, foi um dos primeiros pesquisadores a observar e escrever sobre o uso da alta pressão. Em 1914, Bridgman testou

o efeito da alta pressão em proteínas do ovo (aproximadamente 750 MPa) e pôde verificar que as características do alimento, após o processamento, assemelhavam-se às de um ovo cozido a 100 °C. Esse experimento instigou o desenvolvimento de novos estudos quanto à influência da pressão em biomoléculas (BRIVIBA *et al.*, 2015; SILVA, 2011).

Entretanto, até os anos 1980, as pesquisas sobre o uso da alta pressão eram restritas a iniciativas isoladas. Foram difundidas posteriormente, nos anos 1990, com a criação de um programa de pesquisa do governo do Japão (ROSENTHAL; SILVA, 1997). Por meio do centro de pesquisa japonês e da aplicação da alta pressão em escala industrial em fábricas de alimentos, começaram a surgir os primeiros produtos comerciais que empregavam o processo de alta pressão. Ferreira e colaboradores (2014) relatam que o primeiro vaso de pressão para uso especificamente na cadeia de produção de alimentos foi produzido em Tóquio pela empresa Mitsubishi Heavy Industries. Assim, em processamento de alimentos, o uso da alta pressão ocorre desde 1991, sendo reconhecido como um método potencial para preservação das qualidades microbiológicas e funcionais de alguns constituintes alimentícios (SILVA, 2011; FERREIRA *et al.*, 2014).

Atualmente, diversos são os produtos processados a alta pressão. Nos mercados norte-americano, europeu e japonês há uma extensa variedade deles, sendo possível encontrar, por exemplo, sucos de frutas, geleia, guacamole, lácteos, peixes e carne embalada a vácuo, todos processados a alta pressão (GOULD, 2001). No Brasil, essa tecnologia está em expansão. Vários centros de pesquisa têm desenvolvido estudos com base na aplicação da alta pressão em alimentos. A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), em parceria com empresas alimentícias, tem concretizado projetos com a aplicação da tecnologia de alta pressão em produtos alimentícios, como polpa de manga, cajá, abacaxi, mamão, extrato hidrossolúvel de soja, produtos cárneos e leite (EMBRAPA, 2020). No mercado brasileiro há poucos produtos industrializados que são fabricados pelo método de alta pressão, tais como presunto fatiado e sucos. No entanto, não foi encontrada legislação brasileira específica que relate detalhes acerca das características, exigências e demais aspectos regulamentares quanto à aplicação dessa tecnologia no processamento de alimentos.

Ressalte-se que a tecnologia da alta pressão também tem sido empregada por outros ramos industriais. A indústria química faz uso da alta pressão na elaboração

de emulsões mais uniformes e estáveis com o objetivo de controlar a viscosidade de produtos, como silicones e ceras. Na área de fármacos, tem sido aplicada em dispersões sólidas; na biotecnologia, em extração de substâncias intracelulares, como enzimas e proteínas (VILLAY *et al.*, 2012).

A homogeneização a ultra-alta pressão (HUAP) começou a ser aplicada tardiamente, a partir do século XXI. Em razão da evolução tecnológica dos materiais e técnicas de processamento, possui a capacidade de atingir pressões de dez a quinze vezes maiores que as tecnologias de alta pressão habitualmente aplicadas. Essa característica permitiu direcionar o seu uso para a inativação de microrganismos deteriorantes e patogênicos presentes nos alimentos. A HUAP foi primeiramente aplicada pela indústria de laticínios, e em seguida pelas indústrias farmacêuticas, químicas e de biotecnologia (DIELS; MICHIELS, 2006).

No que diz respeito ao uso comercial da HUAP no Brasil, ainda há pouca aplicação na área alimentícia, porém algumas empresas de sucos já dispõem dessa tecnologia, e seus produtos são encontrados em mercados das regiões Sul e Sudeste.

A seguir, será apresentada uma revisão bibliográfica sobre a HUAP. Os termos similares serão mantidos respeitando-se a nomenclatura empregada em cada artigo citado.

## **2. Definição**

A tecnologia de alta pressão pode ser aplicada de maneiras diferentes, sendo estas classificadas como alta pressão estática, alta pressão oscilatória e homogeneização a ultra-alta pressão (HUAP), também nomeada de alta pressão dinâmica. Apesar de suas variações, de modo geral, o método se baseia na aplicação de alta pressão sobre um determinado produto. O modo como esse produto se encontra e as variações quanto a tempo, forma de distribuição, meio pressurizador e valores de pressão são os fatores que irão caracterizar cada tipo de tratamento.

A alta pressão estática é comumente conhecida por alta pressão hidrostática, visto que, em geral, se utiliza a água como o meio pressurizador (CAMPOS; DOSUALDO; CRISTIANINI, 2003). O processo ocorre em batelada dentro de uma câmara contendo o alimento, previamente embalado, o qual é submetido a uma alta pressão por toda a sua área superficial (TORREZAN, 2003; SILVA, 2011).

A alta pressão oscilatória, ou em pulsos, é bastante semelhante à alta pressão estática em relação à estrutura do equipamento e ao seu modo de ação. Porém diferem quanto à aplicação da pressão: na alta pressão oscilatória ocorrem variações de pressão em um período de tempo bastante curto (despressurização) – são os chamados pulsos. Esses pulsos podem variar em quantidade e tempo de duração. Quanto mais curto for o pulso, maior a eficácia de inativação microbiana (DONSÌ *et al.*, 2009).

A HUAP ou alta pressão dinâmica ocorre em sistema de fluxo contínuo em que o próprio alimento é o meio pressurizador. A variação de volume entre a válvula e o assento da câmara gera altos valores de pressão e diferentes fenômenos da dinâmica dos fluidos, como turbulência e cavitação. A HUAP é aplicada com o objetivo de reduzir o tamanho de partículas; inativar ou destruir microrganismos patogênicos, deterioradores e esporos; promover a melhoria das propriedades reológicas e de textura; podendo também ser utilizada para alterar a conformação de macromoléculas (CRUZ *et al.*, 2007, 2009; LIU; KUO, 2015).

Na literatura são encontradas diferentes nomenclaturas para o tratamento com a HUAP. Na Tabela 1 estão relacionadas as nomenclaturas utilizadas por diferentes autores. Conforme se observa, ainda não há um consenso quanto ao termo definido nem quanto às pressões mínima e máxima aplicadas nesse processo.

***Tabela 1 – Tratamentos de homogeneização a ultra-alta pressão expressos com diferentes nomenclaturas e os respectivos valores de pressão empregados***

Nomenclatura	Sigla	Pressão (MPa)	Autores
Alta pressão dinâmica	APD	100-200	Moroni e colaboradores (2002)
Alta pressão dinâmica	APD	100-300	Tribst (2008)
Ultra-alta pressão de homogeneização	UAPH	100-300	Fernández-Ávila, Escriu e Trujillo (2015)
Alta pressão de homogeneização	APH	150	Comuzzo e colaboradores (2015)
Alta pressão dinâmica	APD	170	Lacroix, Fliss e Makhoulouf (2005)
Ultra-alta pressão de homogeneização	UAPH	200	Juan e colaboradores (2015)
Alta pressão dinâmica	APD	200	Tahiri e colaboradores (2006)
Ultra-alta pressão de homogeneização	UAPH	200	Villay e colaboradores (2012)
Alta pressão de homogeneização	APH	300	Martínez e colaboradores (2011)
Ultra-alta pressão de homogeneização	UAPH	350	Briviba e colaboradores (2015)

Fonte: Elaboração própria.

### 3. Equipamento e mecanismo de ação

O mecanismo de ação da HUAP ainda não está completamente elucidado. Entretanto, estudos afirmam que os fenômenos de fluidização, tais como cavitação, fricção, turbulência (movimentação de ar), torção, cisalhamento (deformação ocasionada por deslocamento em diferentes planos), entre outros, sejam os responsáveis pelas alterações moleculares ocasionadas durante o processo. E o processo de cavitação, ou seja, de formação de bolhas de ar, é o fenômeno apontado com um dos principais fatores responsáveis.

A geração da HUAP ocorre em um espaço confinado, ou seja, na câmara de pressurização. Essa câmara em geral é dotada de dois pistões de pressão, um assento (canais), uma válvula de homogeneização e um resfriador para controle de temperatura (DUBBELBOER *et al.*, 2014). Durante o processo, os intensificadores de pressão (pistões de pressão ou a bomba volumétrica) bombeiam e pressurizam um fluido de baixa velocidade através de canais bem menores (VILLAY *et al.*, 2012). Esses canais direcionam e forçam a passagem do fluido por uma válvula de diâmetro bastante reduzido (SILVA, 2011).

A restrição volumétrica imposta entre o assento e a válvula de homogeneização gera altas pressões em um curto período de tempo. Essa pressão ocorre somente durante o escoamento do fluido até o encontro deste com a válvula de homogeneização, e até que o fluido sofra o processo de despressurização (MASSON, 2010). Assim, durante esse período, o fluido atinge altas velocidades e sofre diversos atritos dada a restrição volumétrica entre a válvula de homogeneização e o assento.

A despressurização do fluido provoca um aumento exorbitante de velocidade e a redução abrupta da pressão. A dissipação de energia gerada durante a despressurização pode variar entre 109 a  $1.011 \text{ Wm}^3$  durante um período bastante curto (10 a 100 ms), podendo ser ocasionada por pulsos ou ondas. Além disso, ocorre o aumento da temperatura do fluido, cerca de  $2,5 \text{ }^\circ\text{C}$  a cada 10 MPa (DIELS; MICHIELS, 2006). Essa alta energia é causada por fenômenos complexos da dinâmica de fluidização, como alongamento, turbulência, fricção, choque e cavitação, os quais, por sua vez, geram alterações conformacionais e/ou ruptura das moléculas (VILLAY *et al.*, 2012).

A intensidade e a dinâmica desses fenômenos irão variar em razão da arquitetura da válvula de homogeneização e do assento, do nível de pressão aplicado, das características físico-químicas do produto fluido, do aumento de temperatura gerado no processo, entre outros aspectos.

## 4. Aplicações da HUAP

A HUAP é utilizada em diversos processos industriais e possui aplicações potenciais em ação antimicrobiana, em tecnologia de alimentos e em biotecnologia e fármacos (DUBBELBOER *et al.*, 2014).

### 4.1. Ação antimicrobiana

A ação da HUAP gera inativação dos microrganismos por meio da ruptura da estrutura celular causada pela brusca despressurização (DIELS; TAEYE; MICHIELS, 2005) ocorrida durante a passagem do fluido pela válvula de homogeneização. Apesar de o mecanismo de inativação não estar completamente elucidado, estima-se que os fenômenos gerados (turbulência, fricção, cavitação, entre outros) justifiquem a ruptura da célula microbiana (KLEINIG; MIDDELBERG, 1998). Cheftel (1995) e Hoover e colaboradores (1989) afirmam que o efeito da alta pressão sobre os microrganismos varia conforme a estrutura morfológica celular. Assim, as células Gram-negativas são menos resistentes que as células Gram-positivas, e de modo geral as células vegetativas são menos resistentes que as esporuladas (METRICK *et al.*, 1989).

Alguns autores afirmam que, para o processamento de leite, suco de laranja e maçã, o tratamento HUAP é eficiente, pois pode gerar uma redução da contagem microbiana equiparável à que ocorre com tratamento de pasteurização (MASSON, 2010; LACROIX; FLISS; MAKHLOUF, 2005; ROIG-SAGUES *et al.*, 2015) enquanto mantém as características do produto mais próximo ao natural.

Kheadr e colaboradores (2002) mostraram que um tratamento APH (200 MPa) em leite gerou redução de 3-4 ciclos log/UFC de *Listeria innocua*. Além disso, os autores observaram que o tratamento influenciou as características dos glóbulos de gordura do leite e da estrutura da caseína micelar. Essas modificações proporcionaram uma maior retenção de água e uma textura coesiva e elástica da massa dos queijos produzidos a partir do leite processado por APH.

Estudos de Tahiri e colaboradores (2006) avaliaram o potencial da tecnologia da alta pressão dinâmica (APD) para inativação de patógenos e na destruição da microflora microbiana em suco de laranja. Os resultados obtidos em relação às reduções decimais foram: em *E. coli* O157: H7 e em *Penicillium* ssp., 4 log; em *Sacharomyce*



*cerevisae*, 2,5 log; em *Listeria plantarum*, 2,3 log; em *Listeria mesenteroides*, 1,6 log. Todas as reduções se deram em suco de laranja a 200 MPa após 3 a 5 passagens a 25 °C. Os pesquisadores concluíram que a APD tem potencial para inativar todos os microrganismos testados e constitui uma tecnologia alternativa promissora para a pasteurização a frio de sucos de frutas.

Suarez-Jacob e colaboradores (2011) testaram a APH com combinações de 100, 200 e 300 MPa, a temperaturas entre 4 e 20 °C em suco de maçã, para análise da sua capacidade antioxidante, teor de polifenóis e teor de vitaminas, e compararam os resultados com os do processo de pasteurização. Eles concluíram que o tratamento APH surte efeito antioxidante significativo, pois mantém a concentração de vitamina C sem reduzir significativamente os teores de provitamina A.

Já Comuzzo e colaboradores (2015) testaram o efeito de APH para indução de autólise em leveduras *Saccharomyces bayanus* comercial utilizadas na produção de vinho. As pressões aplicadas foram de 50, 100 e 150 MPa, sob as quais obtiveram as respectivas reduções: 1 log de UFC, 1,6 log de UFC e 2,2 log de UFC, respectivamente. Os autores confirmaram que o tratamento não permitiu completa inativação das células das leveduras.

#### 4.2. Tecnologia em alimentos

As macromoléculas e as partículas suspensas dos fluidos que são submetidos a altas pressões mecânicas sofrem torções e deformações (AUGUSTO; IBARZ; CRISTIANI, 2013). Isso porque os fenômenos de cavitação, tensão de cisalhamento e turbulência induzidas pela grande força da HUAP podem afetar a conformação das proteínas e o tamanho dos glóbulos de gorduras (FLOURY *et al.*, 2002; KEERATI-U-RAI; CORREDIG, 2009). O uso da tecnologia de HUAP permite, por sua vez, controlar as condições do processo de forma a influir sobre essa distribuição, favorecendo as características de interesse para cada tipo de produto (DUBBELBOER *et al.*, 2014). Assim, esse processo tem grande potencial tecnológico de contribuição no que diz respeito às propriedades físico-químicas dessas moléculas e suas alterações.

Nesse sentido, a tecnologia da HUAP tem sido aplicada para produção de alimentos, como leite destinado à produção de queijo (JUAN *et al.*, 2015), vinho (COMUZZO *et al.*, 2015), goma xantana (LANEUVILLE; TURGEON; PAQUIN, 2013), isolado

proteico de soja (MARTÍNEZ *et al.*, 2011), polissacarídeos (VILLAY *et al.*, 2012), farinha de soja (LIU; KUO, 2015) e suco de tomate (AUGUSTO; IBARZ; CRISTIANI, 2013), para gelificação de proteínas diversas (ALVAREZ-SABATEL; MARTÍNEZ DE MARAÑÓN; ARBOLEYA, 2015), entre outros alimentos e processos.

Para análise de aspectos qualitativos de queijos, Juan e colaboradores (2015) compararam os queijos obtidos por leites submetidos a diferentes tratamentos: pasteurização (72 °C), pasteurização a baixa pressão de homogeneização (72 °C, 20 MPa) e homogeneização a ultra-alta pressão (30 °C, 200 MPa). Eles observaram que, durante o processo de maturação, os queijos tratados por pasteurização a baixa pressão de homogeneização e HUAP obtiveram maiores níveis de retenção de água quando comparados aos queijos tratados somente com a pasteurização. Os autores concluíram que o tratamento de alta pressão expõe os glóbulos de gordura, aumentando a ação da enzima (lipase). Eles também observaram que a HUAP foi capaz de produzir um queijo com níveis de lipólise, oxidação, aroma e sabor semelhantes aos do queijo produzido a partir do leite pasteurizado.

Na aplicação de tecnologia a vinhos, Comuzzo e colaboradores (2015) fizeram uso da APH (150 MPa) para induzir autólise da estirpe comercial *Saccharomyces bayanus* para vinificação, a fim de acelerar o processo de autólise da levedura e o envelhecimento do vinho. Entretanto, o processo excedeu a produção de compostos voláteis, produzindo odores frutados (ésteres etílicos) e *off-flavours* (ácidos graxos de baixo peso molecular), fatores que depreciam o produto. Por conseguinte, os autores enfatizaram a necessidade de otimizar o processo para a produção de vinhos.

Seguindo no ramo de bebidas, Augusto, Ibarz e Cristiani (2013) empregaram a APH (até 150 MPa) em suco de tomate e observaram que o comportamento viscoelástico do suco aumentou em função do tratamento, ou seja, com o aumento da pressão. Eles atribuíram esse comportamento à ruptura de partículas suspensas.

Em outros trabalhos na área de carboidratos e proteínas, também foi explorado o uso da ultra-alta pressão. Laneuville, Turgeon e Paquin (2013), ao trabalharem com polissacarídeos, testaram o efeito de microfluidização a alta pressão dinâmica em goma xantana para avaliar o seu efeito estabilizador e de suspensão. Os autores concluíram que as propriedades físicas, após o pré-tratamento da goma xantana, foram favorecidas e geraram menores níveis de degradação quando comparados aos dos métodos químicos e oxidativos comumente aplicados. Nesse processo, os autores relatam que

a goma xantana sofreu uma degradação suave e controlada, o que viabiliza sua produção e inserção como ingrediente para produtos alimentícios.

No mesmo seguimento, Villay e colaboradores (2012) estudaram o efeito da HUAP sobre a degradação de diferentes polissacarídeos a fim de observar alterações de suas estruturas moleculares e relacioná-las à sua viscosidade aparente. Eles concluíram que, de acordo com as diferenças da estrutura e a conformação da cadeia polimérica, o tratamento surte maior ou menor impacto e que, a partir de certo valor de pressão, o polissacarídeo atinge um tamanho reduzido o suficiente para resistir aos efeitos mecânicos associados à HUAP. Desse modo, os polímeros de maior massa molecular sofreram maior efeito da aplicação de HUAP. Os autores afirmam que há necessidade de otimizar o processo acerca de previsões quanto aos mecanismos de turbulência e cavitação e à geometria do assento e da válvula.

No trabalho desenvolvido por Martínez e colaboradores (2011), o efeito da alta pressão de homogeneização (APH) foi avaliado quanto às propriedades interfaciais e de formação de espuma do isolado de proteína de soja comercial e em polissacarídeos tensoativos com variados pesos moleculares. As dispersões foram submetidas a alta pressão variando de 0 a 300 MPa, em intervalos de 100 MPa, e em pH 7. Os autores concluíram que a APH nos sistemas em espuma não está diretamente relacionada com o efeito da pressão de superfície, mas sim com um conjunto de fatores que confere o desempenho de adsorção interfacial da mistura, tais como a característica interfacial dos biopolímeros, o nível de pressão aplicada, o tipo de sistema e o peso molecular do polímero.

Os autores Liu e Kuo (2015), trabalhando com farinha de soja, investigaram o efeito do tratamento APH sob as características funcionais e a distribuição das subunidades proteicas da soja. Após aplicar pressões de 100 e 150 MPa durante 2-3 ciclos, observaram que os teores de sulfidrila e a hidrofobicidade das proteínas foram alterados, formando estruturas mais simples. Os autores compararam tais estruturas proteicas às tratadas termicamente e concluíram que o tratamento APH gera melhores resultados quanto à reorganização estrutural de partículas proteicas.

Alvarez-Sabatel, Martínez de Marañón e Arboleya (2015) observaram o impacto do tratamento APH (103, 207 ou 296 MPa) em cadeias longas de inulina sobre os aspectos de gelificação, avaliando a capacidade de retenção de água (CRA) e as propriedades reológicas dos géis formados. Observaram que o tratamento APH dispersou

as partículas de inulina, o que melhorou o comportamento de cristalização e induziu interações mais fortes. Porém a pressão de 296 MPa afetou negativamente a estrutura da inulina, permitindo a reagregação dos pequenos cristais, o que reduziu os valores de CRA. Apesar disso, os pesquisadores concluíram que, por meio da escolha adequada dos fatores do processamento da ultra-alta pressão de homogeneização, é possível produzir géis com propriedades reológicas semelhantes às daqueles que passam por tratamentos térmicos tradicionais.

#### *4.3. Biotecnologia e fármacos*

A HUAP também tem sido estudada na investigação de biomoléculas de baixa solubilidade em água, estáveis e biodisponíveis para aplicações nutricionais, farmacêuticas e na cosmética (XU *et al.*, 2014). Tais biomoléculas podem ser utilizadas durante o processamento e o armazenamento, de forma a proteger os componentes da degradação. Alguns estudos propuseram o uso dessa técnica e os relatos dessa aplicação se apresentam na sequência.

Chevalier-Lucia e colaboradores (2011) aplicaram a alta pressão de homogeneização (APH) a 100-300 MPa nas temperaturas 14 °C e 34 °C para avaliar as modificações ocasionadas na estrutura das micelas de caseína de leite, bem como em uma biomolécula a ser encapsulada. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia do tratamento, a fim de gerar alternativa aos métodos convencionais que utilizam solventes químicos. Eles observaram que o tratamento APH reduziu, de modo significativo, o tamanho das micelas de caseína. Os autores explicam que a redução se deve aos fenômenos de turbulência, cisalhamento, pressurização e cavitação e concluem que o tratamento APH pode ser eficaz para modificação estrutural de macromoléculas, podendo ser destinado ao fim pretendido no estudo.

Chen e colaboradores (2013) utilizaram a tecnologia de alta pressão dinâmica de microfluidização (APDM) no processamento de pectina de maçã, de modo a otimizar a produção de peptidioglicanos (POPs). Aplicaram um tratamento APDM a 155 MPa realizando 6 ciclos. Houve conversão de 32 % da pectina de maçã (frutoligossacarídeo) em POP. Esses resultados indicaram que os peptidioglicanos podem ser preparados a partir do tratamento de APDM e destinados e aplicados com a finalidade de efeito prebiótico.

Outras aplicações tecnológicas encontradas na literatura são apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2 – Aplicações tecnológicas do tratamento HUAP em produtos alimentícios**

Tratamento	Produto	Modificação tecnológica	P (MPa)	Referência
HPH	Leite de amêndoa e avelã	Propriedades reológicas	62, 103, 172	Bernat e colaboradores (2015)
DHMP	Pectina de maçã	Propriedades prebióticas	155	Chen e colaboradores (2013)
HPH	Inulina (carboidrato)	Gelificação	103, 207, 296	Alvarez-Sabatel, Martínez de Marañón e Arboleya (2015)
UHPH	Leite	Lipólise em queijos	20, 200	Juan e colaboradores (2015)
UHPH	Polissacarídeos	Viscosidade intrínseca e aparente	200	Villay e colaboradores (2012)
HPH	Enzima (protease)	Coagulação e propriedades reológicas	190	Leite Júnior, Tribst e Cristianini (2015)
UHPH	Proteína de soja Óleo de soja	Emulsões	100, 200, 300	Fernández-Ávila, Escriu e Trujillo (2015)
HPH	Tofu – leite de soja	Microestrutura e difusibilidade da água	50, 100, 150	Li e colaboradores (2015)
CHP	Purê de tomate	Cor e distribuição das partículas	69, 276	Tan e Kerr (2015)
HPH	Vinho	Autólise das leveduras (fermento)	50, 100, 150	Comuzzo e colaboradores (2015)
HPH	Isolado proteico de soja e polissacarídeos	Viscosidade, dispersão e tamanho das partículas	300	Martínez e colaboradores (2011)
DHPM	Enzima (tripsina)	Estabilidade e atividade enzimática	80, 100, 120, 160	Liu e Kuo (2015)
DHP	Suco de laranja (pectina)	Opalescência e estabilidade	170	Lacroix, Fliss e Makhlouf (2005)

Fonte: Elaboração própria.

## 5. Aplicação de métodos combinados

Com a finalidade de melhorar a eficiência dos tratamentos de HUAP, diversos estudos utilizam a combinação de métodos térmicos e não térmicos em conjunto com a HUAP para diversas aplicações e finalidades.

Um dos ramos é a aplicação de métodos combinados para inativação microbiana de fungos filamentosos (TRIBST, 2008), esporos (ROIG-SAGUES *et al.*, 2015) e bactérias (MORONI *et al.*, 2002; AMADOR-ESPEJO *et al.*, 2014).

No estudo de Tribst (2008), avaliou-se o efeito isolado da APD (300 MPa) em néctar de manga para inativação de *Aspergillus niger*, comparando-o com os efeitos da combinação de tratamentos: temperatura (80 °C/15 min) e APD (200, 150 e 100 MPa). O pesquisador observou que o tratamento a APD (300 MPa) isoladamente foi capaz de reduzir 5 log de UFC. Já a aplicação de 200 MPa a 80 °C/15 min gerou a redução de 3 log de UFC, sendo o mais eficiente dos tratamentos combinados. Ao comparar os resultados do tratamento de APD a 200 MPa isoladamente e os resultados do uso desse tratamento em sinergia com o tratamento térmico, o autor concluiu que o tratamento combinado com a aplicação de APD anteriormente ao tratamento térmico sensibiliza o microrganismo gerando melhor eficiência do processo. Assim, a combinação desses métodos permite uso de pressões menores, o que pode reduzir o custo do processo.

Já Roig-Sagues e colaboradores (2015) aplicaram diferentes temperaturas (T = 20, 50, 60, 70 e 80 °C) com posterior submissão ao tratamento UHPH (300 MPa) em suco de laranja para inativação de *Alicyclobacillus acidoterrestris* e *Alicyclobacillus hesperidum*. Eles observaram que a germinação e o crescimento dos esporos ao longo do armazenamento foram pouco afetados com uso de temperatura igual a 20 °C. Já em temperaturas de 70 °C e 80 °C foram obtidas significativas reduções: 5 log de UFC de *A. hesperidum* e *A. acidoterrestris*. Desse modo, a inativação de esporos pode ser alcançada por meio da combinação desses dois tratamentos.

No trabalho desenvolvido por Moroni e colaboradores (2002), ao trabalharem com leite e seu soro, aplicaram tratamentos a HPH (100-200 MPa, 25 °C em 1, 3 ou 5 ciclos) para avaliar o efeito sobre o bacteriófago *Lactococcus*. A máxima inativação obtida foi de 5 ciclos log, com uso de 200 MPa, não sendo influenciada pelo pré-tratamento térmico (50 °C). Os autores afirmam que tal tecnologia oferece vantagens

em relação aos tratamentos de calor e de pressão hidrostática, visto sua eficiência e capacidade de trabalhar com grandes volumes de fluido.

Amador-Espejo e colaboradores (2014) testaram o efeito da temperatura (20, 50, 60, 70 e 80 °C) e posterior aplicação de UHPH (300 MPa) para inativação de esporos de *Bacillus cereus*, *B. licheniformis*, *B. sporothermodurans*, *B. coagulans*, *Geobacillus stearothermophilus* e *B. subtilis* em leite. Os tratamentos UHPH com 75 °C e 85 °C geraram reduções de 5 log de UFC. A inativação completa dos esporos foi obtida com aplicação de 300 MPa a 75 °C com exceção para *G. stearothermophilus* e *B. subtilis*, cuja inativação total ocorreu a 300 MPa e 85 °C. Os autores concluíram que, dada a aptidão do método HUAP para inativar esporos, essa tecnologia pode ser empregada para obtenção de leite comercialmente estéril.

Diversos estudos também têm abordado a HUAP no uso de modificação das propriedades físico-químicas de diversas moléculas, na preservação de características nutricionais e de degradação dos alimentos. As investigações de técnicas combinadas revelam diversos resultados que serão descritos a seguir.

Trabalhando com leites de avelãs e de amêndoas, Bernat e colaboradores (2015) testaram o efeito da homogeneização a alta pressão (62, 103 e 172 MPa) com tratamentos térmicos (85 °C/30 min ou 121 °C/15 min) para avaliar a estabilidade da emulsão. No leite de amêndoas, as amostras homogeneizadas apresentaram uma redução significativa no tamanho da partícula e na melhoria da distribuição, nos índices de clareza e cor (brancura). Isso resultou em uma melhor estabilidade física do leite de amêndoas, sem afetar a viscosidade ou a estabilidade da proteína. Já para as bebidas de avelãs houve aumento da viscosidade devido ao tratamento HPH com alterações no seu comportamento reológico (mudanças na conformação da proteína). Por sua vez, as amostras de ambas as bebidas que receberam o tratamento combinado apresentaram maior estabilidade e aparência.

Em néctar de manga, Tribst (2008) avaliou os aspectos de viscosidade aparente após processamento a APD (100, 200 e 300 MPa), combinado com filtração ou tratamento enzimático. O pesquisador observou que, após o tratamento a 300 MPa, o néctar apresentou uma consistência de purê e formação de partículas insolúveis (grumos), com uma viscosidade três vezes superior à inicial. Ao submeter o néctar de manga a um pré-tratamento de filtração e posterior tratamento a APD (100 e 250 MPa), o autor observou uma diminuição da viscosidade aparente, porém

esta se apresentava maior que a do néctar sem tratamento. O mesmo ocorreu com a submissão ao aquecimento a 55 °C e posteriormente à APD. Entretanto, ao submeter o néctar ao tratamento enzimático (pectinase, celulase e hemicelulase), obteve-se redução de 52 a 61 % da viscosidade aparente. Essa viscosidade manteve-se estável por sete dias sem gerar separação de fases ou formação de aglomerados, assim como foram mantidas as características sensoriais do néctar de manga.

Com a finalidade de avaliar a perda de vitaminas em leite, Amador-Espejo e colaboradores (2015) compararam o tratamento de HUAP (300 MPa) combinado com temperaturas de entrada (45, 55, 65, 75 e 85 °C) aos tratamentos de pasteurização e UHT. Os pesquisadores observaram uma maior conservação nos teores de nicotinamida, tiamina, riboflavina e vitamina C nos leites tratados com HUAP em comparação aos demais tratamentos. A amostra tratada com 300 MPa a 45°C foi a que apresentou o teor de vitamina mais próximo ao do leite cru. Assim, os autores concluíram que a HUAP pode reduzir as perdas de vitaminas e que, portanto, essa tecnologia pode ser empregada para produção de leite com propriedades nutricionais mais elevadas.

No estudo de Polisel-Scopel e colaboradores (2014), o tratamento HUAP foi aplicado sobre o leite de soja (300 MPa, 80 °C temperatura de entrada) e comparado com o tratamento UHT quanto aos aspectos microbiológicos, físicos, químicos e sensoriais após armazenamento (seis meses) à temperatura ambiente. Os autores observaram que não houve desenvolvimento de bactérias mesófilas aeróbias, esporos aeróbios, *Bacillus cereus* e enterobactérias, em nenhuma das amostras. O leite de soja tratado com HUAP apresentou alta estabilidade coloidal e diminuição relevante no índice hidroperóxido durante o armazenamento. Apesar de ter apresentado altos teores de compostos voláteis, os resultados sensoriais indicaram que o tratamento HUAP não produziu alterações perceptíveis no leite de soja e que pudessem afetar sua preferência. Os pesquisadores concluíram, portanto, que a tecnologia HUAP é uma alternativa aos tratamentos térmicos.

## **Considerações finais**

Os estudos e seus resultados expostos neste capítulo demonstram que a tecnologia de ultra-alta pressão de homogeneização (HUAP) é uma alternativa potencial para a aplicação em processos industriais nas áreas alimentícias, farmacêuticas e de biotecnologia. Sua aplicabilidade permite potencializar processos de inativação de bactérias,



fungos filamentosos e esporos; de obtenção e preservação de características reológicas de viscosidade do fluido, microestruturais e estabilidade de emulsões, como na formação de géis; de propriedades prebióticas e funcionais de diversas macromoléculas. Além disso, a aplicação da HUAP combinada com outros métodos pode aumentar a eficiência de diferentes processos.

## Referências

ALVAREZ-SABATEL, S.; MARTÍNEZ DE MARAÑÓN, I.; ARBOLEYA, J.-C. Impact of high pressure homogenisation (HPH) on inulin gelling properties, stability and development during storage. **Food Hydrocolloids**, v. 44, p. 333-344, Jan. 2015.

AMADOR-ESPEJO, G. G. *et al.* Effect of ultra high-pressure homogenization on hydro and liposoluble milk vitamins. **Food Research International**, v. 77, p. 49-54, Apr. 2015.

AMADOR-ESPEJO, G. G. *et al.* Inactivation of bacillus spores inoculated in milk by ultra high pressure homogenization. **Food Microbiology**, v. 44, p. 204-210, Dec. 2014.

AUGUSTO, P. E. D.; IBARZ, A.; CRISTIANINI, M. Effect of high pressure homogenization (HPH) on the rheological properties of tomato juice: viscoelastic properties and the Cox–Merz rule. **Journal of Food Engineering**, v. 114, n. 1, p. 57-63, Jan. 2013.

BERNABÉ, B. M. *et al.* Influência de processamentos não térmicos na preservação de aromas. *In*: TEIXEIRA, L. J. Q.; OLIVEIRA, A. N.; SARTORI, M. A. (org.). **Tópicos especiais em engenharia de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2014. p. 427-440.

BERNAT, N. *et al.* Effect of high pressure homogenisation and heat treatment on physical properties and stability of almond and hazelnut milks. **LWT – Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 488-496, June 2015.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química de processamento de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2001.

BRIVIBA, K. *et al.* Ultra high pressure homogenization of almond milk: physico-chemical and physiological effects. **Food Chemistry**, v. 192, p. 82-89, June 2015.

CAMPOS, F. P.; DOSUALDO, G. L.; CRISTIANINI, M. Utilização da tecnologia de alta pressão no processamento de alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 351-357, jul./dez. 2003.

CAPRITA, A.; CAPRITA, R. Modification of the soluble protein content of heat-processed soybean flour. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, Cluj-Napoca, v. 38, n. 2, p. 98-101, 2010. Special Issue. Disponível em: <http://www.notulaebotanicae.ro/index.php/nbha/article/viewFile/4747/4518>. Acesso em: 31 mar. 2020.

CHEFTEL, J. C. Review: high pressure, microbial inactivation and food preservation. **Food Science and Technology International**, v. 1, n. 2-3, p. 75-90, Aug. 1995.

CHEN, J. *et al.* Pectic-oligosaccharides prepared by dynamic high-pressure microfluidization and their in vitro fermentation properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 1, p. 175-182, Jan. 2013.

CHEVALIER-LUCIA, D. *et al.* Processing of phosphocasein dispersions by dynamic high pressure: effects on the dispersion physico-chemical characteristics and the binding of  $\alpha$  tocopherol acetate to casein micelles. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 12, n. 4, p. 416-425, Oct. 2011.

COMUZZO, P. *et al.* Potential of high pressure homogenization to induce autolysis of wine yeasts. **Food Chemistry**, v. 185, p. 340-348, Oct. 2015.

CRUZ, N. *et al.* Soymilk treated by ultra high pressure homogenization: acid coagulation properties and characteristics of a soy-yogurt product. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 2, p. 490-496, Mar. 2009.

CRUZ, N. *et al.* Ultra high pressure homogenization of soymilk: microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. **Food Research International**, v. 40, p. 725-732, July 2007.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. (ed.). **Fennema's Food Chemistry**. 4th ed. Boca Raton: CRC, 2010.

DIELS, A. M. J.; MICHIELS, C. W. High-pressure homogenization as a non-thermal technique for the inactivation of microorganisms. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 32, n. 4, p. 201-216, Dec. 2006.

DIELS, A. M. J.; TAEYE, J. D.; MICHIELS, C. W. Sensitization of *Escherichia coli* to antibacterial peptides and enzymes by high-pressure homogenization. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 105, n. 2, p. 165-175, Dec. 2005.

DONSÌ, F. *et al.* Main factors regulating microbial inactivation by high-pressure homogenization: operating parameters and scale of operation. **Chemical Engineering Science**, v. 64, p. 520-532, Feb. 2009.

DUBBELBOER, A. *et al.* Population balances combined with computational fluid dynamics: a modeling approach for dispersive mixing in a high pressure homogenizer. **Chemical Engineering Science**, v. 117, p. 376-388, Sept. 2014.

EMBRAPA. **Soluções tecnológicas**. [Processos, produtos e serviços relacionados ao uso de alta pressão]. [Resultado de busca pelo termo “alta pressão”]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/busca/alta%20press%C3%A3o?>. Acesso em: 31 mar. 2020.

FERNÁNDEZ-ÁVILA, C.; ESCRIBU, R.; TRUJILLO, A. J. Ultra-high pressure homogenization enhances physicochemical properties of soy protein isolate stabilized emulsions. **Food Research International**, v. 75, p. 357-366, May 2015.

FERREIRA, G. A. M. *et al.* Uso de alta pressão na germinação de esporos em sucos de frutas. *In: TEIXEIRA, L. J. Q.; OLIVEIRA, A. N.; SARTORI, M. A. (org.). Tópicos especiais em engenharia de alimentos.* Visconde do Rio Branco: Suprema, 2014. p. 83-101.

FLOURY, J. *et al.* Degradation of methylcellulose during ultra-high pressure homogenisation. **Food Hydrocolloids**, v. 16, n. 1, p. 47-53, Jan. 2002.

GAVA, A. P. *et al.* A luz ultravioleta na conservação de alimentos. *In: TEIXEIRA, L. J. Q.; OLIVEIRA, A. N.; SARTORI, M. A. (org.). Tópicos especiais em engenharia de alimentos.* Visconde do Rio Branco: Suprema, 2014. p. 161-178.

GHANI, A. A. G. *et al.* Numerical simulation of natural convection heating of canned food by computational fluid dynamics. **Journal of Food Engineering**, v. 41, p. 55-64, 1999.

GOULD, G. W. New processing technologies: an overview. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 60, n. 4, p. 463-474, Dec. 2001.

HOOVER, D. G. *et al.* Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. **Food Technology**, Chicago, v. 43, n. 3, p. 99-107, 1989.

JUAN, B. *et al.* Lipolysis of cheeses made from goat milk treated by ultra-high pressure homogenization. **LWT – Food Science and Technology**, v. 60, n. 2, p. 1.034-1.038, Mar. 2015.

KEERATI-U-RAI, M.; CORREDIG, M. Effect of dynamic high pressure homogenization on the aggregation state of soy protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D. C., v. 57, p. 3.556-3.562, June 2009.

KHEADR, E. E. *et al.* Effect of dynamic high pressure on microbiological, rheological and microstructural. **International Dairy Journal**, v. 12, p. 435-446, Dec. 2002.

KLEINIG, A. R.; MIDDELBERG, A. P. J. On the mechanism of microbial cell disruption in high pressure homogenization. **Chemical Engineering Science**, v. 53, n. 5, p. 891-898, Feb. 1998.

LACROIX, N.; FLISS, I.; MAKHLOUF, J. Inactivation of pectin methylesterase and stabilization of opalescence in orange juice by dynamic high pressure. **Food Research International**, v. 38, n. 5, p. 569-576, June 2005.

LANEUVILLE, S. I.; TURGEON, S. L.; PAQUIN, P. Changes in the physical properties of xanthan gum induced by a dynamic high-pressure treatment. **Carbohydrate Polimers**, v. 92, n. 2, p. 2.327-2.336, Feb. 2013.

LEITE JÚNIOR, B. R. C.; TRIBST, A. A. L.; CRISTIANINI, M. Influence of high pressure homogenization on commercial protease from *Rhizomucor miehei*: effects on proteolytic and milk-clotting activities. **LWT – Food Science and Technology**, v. 63, p. 739-744, Sept. 2015.

LI, T. *et al.* Study of the dynamic states of water and effects of high-pressure homogenization on water distribution in tofu by using low-field nuclear magnetic resonance. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 30, p. 61-68, Apr. 2015.

LIU, H.-H.; KUO, M.-I. Ultra high pressure homogenization effect on the proteins in soy flour. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 741-748, Aug. 2015.

MARTÍNEZ, K. D. *et al.* Effect of dynamic high-pressure treatment on the interfacial and foaming properties of soy protein isolate hydroxypropylmethylcelluloses systems. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 6, p. 1.640-1.645, Aug. 2011.

MASSON, L. M. P. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada submetida ao processamento térmico e/ou à homogeneização a ultra-alta pressão**. 2010. 123 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

METRICK, C.; HOOVER, D. G.; FARKAS, D. F. Effects of high hydrostatic pressure on heat-resistant and heat-sensitive strains of *Salmonella*. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 54, n. 6, p. 1.547-1.549, Nov. 1989.

MORONI, O. *et al.* Inactivation of lactococcal bacteriophages in liquid media using dynamic high pressure. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 11, p. 907-913, Dec. 2002.

PINHO, C. R. G. *et al.* Avaliação de escoamento de leite desnatado durante homogeneização a alta pressão (HAP) por meio de fluidodinâmica computacional (CFD). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 232-240, July/Sept. 2011.

POLISELI-SCOPEL, F. H. *et al.* Sterilization and aseptic packaging of soymilk treated by ultra high pressure homogenization. **Food Science and Emerging Technologies**, v. 22, p. 81-88, Apr. 2014.

ROIG-SAGUES, A. X. *et al.* Improving the efficiency of ultra-high pressure homogenization treatments to inactivate spores of *Alicyclobacillus* spp. in orange juice controlling the inlet temperature. **LWT – Food Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 866-871, Oct. 2015.

ROSENTHAL, A.; SILVA, J. L. Alimentos sob pressão. **Engenharia de Alimentos**, São Paulo, v. 14, p. 37-39, 1997.

SCHUINA, G. L. *et al.* Aplicação de ultrassom para a conservação de alimentos. *In*: TEIXEIRA, L. J. Q.; OLIVEIRA, A. N.; SARTORI, M. A. (org.). **Tópicos especiais em engenharia de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2014.

SCOLFORO, C. Z. *et al.* Radiação ionizante e seu efeito nas características sensoriais e na aceitação de alimentos. **Tópicos especiais em engenharia de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2014. p. 195-208.

SHOMER, R.; COGAN, U.; MANNHEIM, C. H. Thermal death parameters of orange juice and effect of minimal heat treatment and carbon dioxide on shelf-life. **Journal of Food Processing and Preservation**, London, v. 18, n. 4, p. 305-315, May 1994.

SILVA, J. de M. **Inativação de *Escherichia coli* utilizando dióxido de carbono supercrítico**. 2011. 53 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Ciências Agrárias, Univesidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2011.

STUMBO, C. R. **Thermobacteriology in food processing**. 2nd ed. New York: Academic Press, 1973.

SUAREZ-JACOB, A. *et al.* Influence of ultra-high pressure homogenisation on antioxidant capacity, polyphenol and vitamin content of clear apple juice. **Food Chemistry**, v. 127, n. 2, p. 447-454, July 2011.

TAHIRI, I. *et al.* Inactivation of food spoilage bacteria and *Escherichia coli* O157:H7 in phosphate buffer and orange juice using dynamic high pressure. **Food Research International**, v. 39, n. 1, p. 98-105, Jan. 2006.

TAN, J.; KERR, W. L. Rheological properties and microstructure of tomato puree subject to continuous high pressure homogenization. **Journal of Food Engineering**, v. 166, p. 45-54, Dec. 2015.

TORREZAN, R. Uso da tecnologia de alta pressão para a inativação de microrganismos em produtos cárneos. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 21, n. 2, p. 249-266, 2003.

TRIBST, A. A. L. **Efeito do processamento por alta pressão dinâmica combinado com tratamento térmico brando na inativação de *Aspergillus niger* em néctar de manga**. 2008. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

VILLAY, A. *et al.* Comparison of polysaccharide degradations by dynamic high-pressure homogenization. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 2, p. 278-286, June 2012.

WUYTACK, E. Y.; DIELS, A. M. J.; MICHIELS, C. W. Bacterial inactivation by high pressure homogenization and high hydrostatic pressure. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 77, n. 3, p. 205-212, Sept. 2002.

XU, L. *et al.* Preparation of high-performance ultrafine budesonide particles for pulmonary drug delivery. **Chemical Engineering Journal**, v. 252, p. 281-287, Sept. 2014.



## Capítulo 3

---

# *Aplicação de pulsos luminosos na descontaminação microbiana*

Estefânia Pecegueiro Prudêncio

Luciano José Quintão Teixeira

Yanne Boaventura Nobre

Kátia Silva Maciel

### **Introdução**

Durante a evolução humana, ocorrem modificações na aquisição e na forma de preparo dos alimentos. Atualmente, a mudança nos hábitos alimentares está relacionada a uma preferência por alimentos seguros, práticos e com “frescor” próximo ao natural, no que se refere a características sensoriais, como cor, sabor, textura e aparência. Segundo Kramer e Muranyi (2013), os consumidores buscam por alimentos saudáveis, com extensa vida útil e com o mínimo possível de processamento.

A fim de atender essa demanda e minimizar os danos provocados nas características sensoriais e estruturais dos alimentos, a indústria tem realizado várias pesquisas com o objetivo de substituir ou complementar os tratamentos térmicos empregados na conservação de alimentos. O processamento de alimentos visa fornecer uma maior variedade de produtos com uma vida útil mais extensa do que a dos naturais

e, ao mesmo tempo, garantir a segurança dos alimentos em relação aos perigos químicos, físicos e, sobretudo, biológicos.

Os principais tratamentos empregados têm como princípio ativo de inativação microbiana o calor, que, apesar de muito eficiente, pode provocar alterações na cor, no sabor, na textura, entre outras. Como alternativa ao tratamento térmico, têm sido estudados os tratamentos não térmicos, tais como irradiação, campos elétricos pulsados de alta intensidade, ultrassom, alta pressão hidrostática, plasma a frio, aplicação de luz ultravioleta e de pulsos luminosos.

O objetivo deste capítulo é abordar o emprego da tecnologia de pulsos luminosos, que é uma técnica que consiste na aplicação repetida, por intervalos curtos, de pulsos sucessivos de luz branca capazes de inativar microrganismos e enzimas, mantendo o alimento estável e seguro (ARTÍGUEZ; MARTÍNEZ DE MARAÑÓN, 2015). São utilizados em alimentos líquidos, devido à sua alta absorção de luz, e também em superfícies sólidas, como embalagens. A eficiência do processo é influenciada pela composição, pela coloração, pela densidade populacional de microrganismos e pela presença de substâncias que competem pela absorção da luz (HSU; MORARU, 2011; PALGAN *et al.*, 2011; ARTÍGUEZ; ARBOLEYA; MARTÍNEZ DE MARAÑÓN, 2012; MUÑOZ *et al.*, 2012b).

Nas seções seguintes, a tecnologia de pulsos luminosos será abordada mais detidamente, bem como seu uso para inativação de microrganismos e em embalagens.

## **1. Pulsos luminosos**

Em 1928, Gates descobriu a ação bactericida da luz UV (JÄGGER, 1967; SMITH, 1977; ABAD-LOZANO; RODRIGUEZ-VELERA, 1984). Os dispositivos de pulsos luminosos foram desenvolvidos por volta de 1970 no Japão, para uso industrial, com o emprego de lâmpadas com pulsos de luz. A patente dessa técnica foi registrada por Hiramoto em 1984, e a empresa Maxwell Technologies a deteve por quatro anos, ampliando a aplicação de pulsos luminosos; depois disso, foi patenteada por Dunn e colaboradores (1989) com o nome de PureBright. Com o passar do tempo surgiram pesquisas científicas sobre o uso de pulsos luminosos e o desenvolvimento de equipamentos (CACACE; PALMIERI, 2014).

Atualmente, a tecnologia de pulsos luminosos pode ser empregada em tratamentos estéticos, dermatológicos e médicos; na esterilização de utensílios e ambientes, tais como laboratórios e hospitais; na descontaminação de ar em dutos condicionantes; na etapa de cura de materiais, como disco ótico, madeiras e plásticos (BARBOSA-CÁNOVAS *et al.*, 1997; MORARU; UESUGI, 2009); e como método de tratamento não térmico para conservação de alimentos. Pulsos de alta intensidade e ultracurtos de espectro abrangente de luz, entre 200 nm e 1.100 nm (GÓMEZ-LÓPEZ *et al.*, 2007), são aplicados em frações de segundos com a finalidade de inativar células vegetativas, bolores e leveduras e esporos de bactérias (BARBOSA-CÁNOVAS *et al.*, 1997; BIALKA; DEMIRCI, 2008; OMS-OLIU; MARTÍN-BELLOSO; SOLIVA-FORTUNY, 2010). A aplicação dos pulsos luminosos é feita por meio de lâmpadas de *flash* com gás inerte, capazes de realizar a conversão de pulsos elétricos de curta duração em pulsos luminosos nas regiões do espectro de ultravioleta (UV), infravermelho (IV) e visível (JAGGER, 1967; SMITH, 1977; ABAD-LOZANO; RODRIGUEZ-VELERA, 1984). Durante o tratamento com pulsos luminosos, há formação de um espectro de luz vinte mil vezes maior do que a luz solar incidente sobre a terra (DUNN *et al.*, 1996).

A aplicação dos pulsos luminosos na indústria de alimentos é aprovada pela FDA desde 1996 e visa a esterilização ou redução de microrganismos presentes nas superfícies de embalagens (ELMNASSER *et al.*, 2007). Segundo Butz e Tauscher (2002), o uso dessa tecnologia resulta em decréscimo da carga microbiana em bolos, doces, pães, frutos do mar e carne, promovendo um aumento da vida útil desses produtos. Além disso, pode ser empregada para higienizar superfícies, plantas de processamentos de alimentos e tubulações de ar e água que estejam envolvidos nesse processo (CACACE; PALMIERI, 2014).

O tratamento com pulsos luminosos em alimentos não deixa nenhum tipo de resíduo, apresenta baixo custo e rápido tempo de processo e tem eficácia comprovada contra patógenos e microrganismos deterioradores. Por outro lado, o aquecimento em vegetais, a falta de homogeneidade na aplicação dos pulsos (SOUZA, 2014) e o fato de a ação ser superficial (cerca de 2 mm) em embalagens e alimentos opacos (WALLEN *et al.*, 2001) são limitações que dificultam o uso da técnica na indústria alimentícia.

## 2. Princípios dos pulsos luminosos

A luz se propaga por meio de ondas com comprimento ( $\lambda$ ), frequência ( $\nu$ ) e energia ( $E$ ). A emissão da luz pode ocorrer de diferentes mecanismos de transmissão espontâneos entre átomos em estado energizado para uma circunstância com baixa energia. A liberação dessa energia ocorre de maneira discreta e pode ser determinada por (CACACE; PALMIERI, 2014):

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (\text{Equação 01})$$

Na Equação 01,  $E$  é a energia liberada,  $h$  é a constante de Planck,  $c$  é a velocidade da luz no vácuo e  $\lambda$  é o comprimento de onda. Em relação ao  $\lambda$ , quanto menor o seu valor, maior será a energia liberada. Desse modo, a tecnologia de pulsos luminosos se apresenta mais eficaz do que as técnicas de incidência de luz, como a radiação ultravioleta (CACACE; PALMIERI, 2014).

A ação da radiação pode ser avaliada por meio da densidade energética, cuja unidade é  $\text{J}/\text{cm}^2$ , ou seja, pela energia disponibilizada sobre uma superfície do material a ser tratado (CACACE; PALMIERI, 2014). Essa energia pode ser refletida ou absorvida. A luz absorvida com os componentes do produto a ser tratado se espalha até completa dissipação e não apresenta vestígios (MORARU; UESUGI, 2009). A energia da luz absorvida ( $E_d$ ) é dissipada na forma de calor:

$$E_d = E_{(x)} (1 - e^{-kd}) \quad (\text{Equação 02})$$

$$\Delta T = \frac{E_d}{\rho C_p A_d} \quad (\text{Equação 03})$$

Em 02,  $E_{(x)}$  é a energia transmitida pela luz; em 03,  $\rho$  é a densidade do material,  $C_p$  é o calor específico do material,  $A$  é a área da superfície e  $\Delta T$  é a diferença na temperatura entre os pontos interno e externo. A variação da temperatura entre o exterior e o interior do material é possível pela dissipação da energia (PALMIERI; CACACE; DALL'AGLIO, 1999).

A luz pode ser fornecida de modo contínuo ou por meio de pulsos. Quando ocorre na forma de pulsos, é necessário atentar-se ao número de pulsos e ao tempo de duração, visto que a energia transmitida na forma de pulsos é maior do que na forma contínua. Dessa forma, quanto menor o tempo, maior é o poder de ação do pulso e também menor o dano provocado pelo aquecimento térmico do material durante a condução da energia (DUNN *et al.*, 1989; DUNN, 1996; CACACE; PALMIERI, 2014). Por conta da dose aplicada, ou seja, da densidade energética, é possível realizar a comparação dos tratamentos com pulsos luminosos e com luz contínua (GÓMEZ-LÓPEZ *et al.*, 2007).

### **3. Sistema para a obtenção dos pulsos luminosos**

Um sistema de tecnologia de pulsos luminosos compreende a geração de pulsos elétricos e a sua conversão em pulsos de luz de alta intensidade. Assim, a energia elétrica é coletada de uma fonte, acumulada e armazenada em interruptores, para que ocorra a sua liberação e conversão em pulsos e posterior emissão sobre o alvo. O poder do pulso é aumentando ao se acumular energia elétrica no condensador para curtos intervalos de tempo. A energia acumulada serve como força motriz para execução do tratamento (DUNN, 1996; CACACE; PALMIERI, 2014).

Para a indústria alimentícia, um sistema de tratamento com pulsos luminosos deve conter um compartimento que forneça energia elétrica, uma lâmpada para conversão em pulsos luminosos, uma câmara de tratamento e outros equipamentos e dispositivos para controle do tempo, armazenamento de dados e sistema de refrigeração (CACACE; PALMIERI, 2014).

A maior preocupação do tratamento com pulsos luminosos é a elevação da temperatura, que reduz a vida útil de lâmpadas, levando ao maior custo do processo, e provoca danos nos alimentos. O aumento da temperatura no processo depende da intensidade dos pulsos, da dose e do tempo de tratamento (DUNN *et al.*, 1989; BIALKA; DEMIRCI, 2008; KEKLIK; DEMIRCI; PURI, 2009; PATARO *et al.*, 2011). Jun e colaboradores (2003), ao tratarem farinha de milho com pulsos luminosos para inativar os esporos do fungo *Aspergillus niger*, observaram que a temperatura atingiu 120 °C após um tempo de exposição de 100 s. Os autores relatam que esse aumento de temperatura limitou a aplicação de pulsos luminosos por alterar características do produto. Para minimizar a elevação da temperatura, o sistema de pulsos luminosos

deve conter um sistema de refrigeração, por meio de fluxo de água ionizada ou por corrente de ar (PUREBRIGHT, 2000).

Os interruptores presentes no sistema de pulsos luminosos são capazes de converter pulsos de baixa potência em alta intensidade com ciclos curtos que podem ligar e desligar. Esses dispositivos são controlados e determinam o formato do pulso e as condições de funcionamento do gerador de energia elétrica, com o objetivo de obter um comprimento de onda específico (PAI; ZHANG, 1995).

A potência elétrica é transformada em pulsos luminosos por meio de lâmpadas de *flash* com gás. A energia elétrica passa pelo gás, no qual ocorre a transferência de elétrons para os átomos do gás, alterando o estado de excitação de energia. Em seguida, os elétrons perdem e emitem a energia absorvida na forma de pulsos luminosos intensos (MORARU; UESUGI, 2009).

As lâmpadas de *flash* são confeccionadas com material transparente e resistente ao choque mecânico e térmico, como o quartzo fundido. Apresentam-se nas formas cilíndrica, esférica, espiral, entre outras. No seu interior, contêm gás e dois eletrodos metálicos junto do condensador para transferência de corrente elétrica. O gás mais empregado é o xenônio, devido à sua alta eficiência de conversão de pulsos elétricos em luminosos com valor próximo a 50 %. A vida útil desta lâmpada é de seis a doze meses dependendo das condições de operação (DUNN *et al.*, 1989; PUREBRIGHT, 2000; MORARU; UESUGI, 2009).

Os sistemas podem operar de forma contínua ou em batelada e são empregados para tratamento de alimentos tanto sólidos quanto líquidos. No sistema em batelada para alimentos sólidos, um lote de alimento entra na câmara de tratamento, na qual ocorre a emissão de pulsos. Já no sistema contínuo, para o mesmo tipo de produto, os alimentos são transportados por meio de esteiras com velocidade ajustada para o tempo mínimo de tratamento. Para alimentos líquidos, o tratamento ocorre dentro da lâmpada (CACACE; PALMIERI, 2014).

#### **4. Inativação de microrganismos**

A alta intensidade dos pulsos luminosos é capaz de inativar microrganismos, e diversos mecanismos explicam esse efeito. A teoria mais aceita é a combinação de efeitos fotoquímicos e efeitos fototérmicos (CACACE; PALMIERI, 2014; HEINRICH *et al.*, 2015).

O efeito fotoquímico ocorre graças à luz UV presente na luz branca que atua sobre o DNA dos microrganismos (GÓMEZ-LÓPEZ *et al.*, 2007). Os fótons UV agem sobre as ligações duplas das proteínas e dos ácidos nucleicos (DNA), impedindo a multiplicação celular. Além disso, promovem a ativação de reações fotoquímicas que têm como produto final substâncias como dímeros de pirimidina ciclobutil, pirimidina, adenina-timina, citosina e timina, que inibem a reprodução microbiana (KRISHNAMURTHY; DEMIRCI; IRUDAYARAJ, 2008). A geração do dímero de timina é a principal causa da inativação de microrganismos (TYRRELL, 1973; GIESE; DARBY, 2000).

Para esporos, o mecanismo fotoquímico é semelhante ao das células vegetativas, porém os produtos formados são diferentes, tais como 5-timina-5,6-dihidroxitimina, que é o produto envolvido na destruição de esporos (SETLOW; SETLOW, 1987; SLIEMAN; NICHOLSON, 2000).

A molécula de DNA é capaz de se autorreparar com auxílio de enzimas, porém a aplicação dos pulsos luminosos reduz essa reparação (FRIEDBERG, 1985; PURE-BRIGHT, 2000). A justificativa para tal redução é o fato de que a aplicação de pulsos curtos com alta intensidade causa danos extensos e impede a ação das enzimas (BARBOSA-CÁNOVAS *et al.*, 1997). Além disso, ocorre a inativação das enzimas de reparação, o que pode ser considerado o principal motivo pelo qual os microrganismos não conseguem reparar os danos ao DNA sofridos pela exposição ao tratamento com pulsos luminosos (DUNN *et al.*, 1996; MCDONALD; CURRY; HANCOCK, 2002).

Outra ação química na inativação de microrganismos, com ação indireta, é a formação de substâncias com caráter bactericida durante a aplicação dos pulsos, tais como radicais livres, hidroxilas, gás ozônio e água oxigenada (MALLEY, 2002).

O efeito fototérmico se deve à dissipação do calor, que provoca aumento de temperatura. A dose aplicada ocasiona aquecimento instantâneo dos microrganismos e proporciona a esterilização; por isso os pulsos luminosos podem ser considerados uma forma de esterelização não térmica (HIRAMOTO, 1984; DUNN *et al.*, 1989). Em alimentos líquidos o efeito fototérmico é mínimo, pois os microrganismos absorvem os pulsos em curtos períodos de tempo, e assim a temperatura do alimento sofre pouca influência do tratamento com pulsos (KRISHNAMURTHY; DEMIRCI; IRUDAYARAJ, 2007).

Outro mecanismo que auxilia na inativação microbiana é o fotofísico, que provoca danos estruturais nas células vegetativas, devido à perturbação causada pelos pulsos (KRISHNAMURTHY; DEMIRCI; IRUDAYARAJ, 2007). Takeshita e colaboradores (2003) identificaram esses danos estruturais em *Saccharomyces cerevisiae* submetido a pulsos luminosos. O mesmo foi observado por Krishnamurthy, Demirci e Irudayaraj (2007) ao estudarem o comportamento de *Staphylococcus aureus* sob tratamento com pulsos luminosos. Esses autores verificaram que as células perderam a membrana e a parede celular e que, além disso, ocorreu um colapso celular provocado pelo encolhimento de membranas.

Silva Ramirez, Castro Silupu e Oblitas Cruz (2010), ao pesquisarem a influência da turbidez na ação antimicrobiana de pulsos luminosos em néctar de laranja *Citrus sinensis*, observaram que a turbidez do suco reduziu proporcionalmente o poder antimicrobiano dos pulsos. Isso pode ser explicado pelo baixo poder de penetração dos pulsos luminosos.

Artíguez e Martínez de Marañón (2015a) realizaram estudos para melhorar o processo de descontaminação de *Listeria innocua* no soro de leite com o emprego de pulsos luminosos. Os autores utilizaram como substratos água, soro de leite, soro de leite diluído e soro de leite desnatado, todos líquidos. Nesses substratos foram aplicadas diferentes doses de pulsos, que variaram de 0,11 a 1,11 J/cm<sup>2</sup>. Os autores notaram que as doses maiores proporcionaram uma maior redução da quantidade de *L. innocua* e concluíram que a dose influencia na redução dos microrganismos presentes no alimento. Esse resultado demonstra a importância de estudos para a escolha das doses na aplicação de pulsos.

A inativação de *Escherichia coli* presente em suco de maçã por meio de pulsos luminosos e termossonificação foi estudada por Muñoz e colaboradores (2012b). Os autores aplicaram os tratamentos de pulsos luminosos (4,03 J/cm<sup>2</sup> ou 5,1 J/cm<sup>2</sup>) e de termossonificação (40 °C/2,9 min ou 50 °C/5 min), tanto isoladamente quanto de modo combinado. Os autores perceberam que, ao aplicarem os tratamentos isolados no suco de maçã, houve uma redução máxima de 2,7 e 4,9 log UFC/ml, respectivamente, para termossonificação e pulsos luminosos. Assim, nota-se maior redução decimal com o tratamento de pulsos luminosos do que com termossonificação. Já, com a combinação de ambas as técnicas, houve uma redução de 6 log UFC/ml de suco de maçã, o que representa um efeito aditivo no poder de descontaminação.



A Tabela 1 apresenta as reduções na contagem de alguns microrganismos em alimentos tratados com pulsos luminosos.

**Tabela 1 – Redução decimal na contagem de microrganismos por tratamento com pulsos luminosos**

Alimento	Microrganismo	Redução (ciclo log)	Referência
Suco de maçã	<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> (esporos)	3,0	Ferrario, Alzamora e Guerrero (2015)
Suco de maçã	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4,4	Ferrario, Alzamora e Guerrero (2015)
Filé de peixe-gato	<i>Listeria monocytogenes</i> e <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0,7	Hierro e colaboradores (2012)
Melancia recém-cortada	<i>Escherichia coli</i>	3,0	Ramos-Villarroel e colaboradores (2012a)
Cogumelos	<i>Listeria innocua</i>	3,01	Ramos-Villarroel e colaboradores (2012a, 2012b)
Cogumelos	<i>Escherichia coli</i>	3,03	Ramos-Villarroel e colaboradores (2012a, 2012b)
Carpaccio	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,2	Hierro e colaboradores (2012)
Carpaccio	<i>Salmonella enterica</i> sorovar Typhimurium	0,9	Hierro e colaboradores (2012)
Salsicha	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,81	Ganan e colaboradores (2013)

Fonte: Elaboração própria.

## 5. Fatores que afetam a eficiência dos pulsos luminosos

A matriz a ser tratada, a natureza e o grau de contaminação microbiana e os parâmetros do processo afetam a eficiência do tratamento com pulsos luminosos (HEINRICH *et al.*, 2015).

A superfície ou matriz a ser aplicada influencia a eficiência do tratamento devido aos aspectos de opacidade, composição e propriedades. Quando a matriz tem baixo poder de reflexão e alto de absorção e transmissão, ocorre um processo com excelentes resultados. Desse modo, líquidos transparentes apresentam alta capacidade de absorção e transmissão de luz (DUNN *et al.*, 1989; GÓMEZ-LÓPEZ *et al.*, 2007; PALMIERI; CACACE, 2005). A camada superficial do alimento-alvo ou da embalagem deve apresentar baixa rugosidade, para facilitar a incidência da luz sobre todos os

microrganismos, até mesmo aqueles que possam ser cobertos por essas irregularidades (DUNN *et al.*, 1996; GÓMEZ-LÓPEZ *et al.*, 2007; LAGUNAS-SOLAR; GÓMEZ-LÓPEZ, 2006; PALMIERI; CACACE, 2005). Além disso, a superfície não deve apresentar substâncias que possam competir pela absorção da luz, como é o caso de proteínas e lipídeos (RAJKOVIC *et al.*, 2010).

A contaminação microbiana da superfície impacta a eficiência do processo devido à interação dos microrganismos e dos pulsos, à composição fisiológica, à densidade populacional e a fatores intrínsecos e extrínsecos de crescimento (DUNN *et al.*, 1989). Os microrganismos apresentam diferenças na susceptibilidade ao tratamento com pulsos luminosos; por exemplo, bactérias Gram-positivas possuem maior resistência em comparação com as Gram-negativas, os fungos têm maior resistência do que as bactérias, e os esporos são mais resistentes que as células vegetativas (ANDERSON *et al.*, 2000).

## **6. Aplicação em embalagens**

A empresa PurePulse desenvolveu dois processos para inativar microrganismos em embalagens de alimentos denominados PureBright e CoolPure. O processo PureBright utiliza raios de luz branca de curto tempo para inativar microrganismos, incluindo fungos e esporos. Os pulsos duram em torno de milionésimos de segundos e têm intensidade duzentas mil vezes maior do que a luz normal (DUNN, 1996).

O uso de pulsos luminosos permite descontaminar superfícies de alimentos e embalagens, até mesmo após o envase, visando evitar a recontaminação (HEINRICH *et al.*, 2015). O resultado satisfatório da aplicação ocorre quando o material da embalagem permite a transmissão da luz. Materiais opacos podem interferir na dissipação da luz, cuja incidência deve ser uniforme para inativar microrganismos (DUNN *et al.*, 1989; ELMNASSER *et al.*, 2007; PASCALL; HAN, 2007; OMS-OLIU; MARTÍN-BELLOSO; SOLIVA-FORTUNY, 2010; PALMIERI; CACACE, 2005). Na indústria alimentícia, há utilização de um vasto número de embalagens de papel-cartão, papel laminado, material polimérico, metal e vidro que protegem os alimentos dos microrganismos, porém apenas o plástico (polímero) e o vidro permitem a passagem da luz (DUNN *et al.*, 1989; EIE, 2009).

A função básica da embalagem é conter e proteger o alimento. Desse modo, não pode ocorrer migração de componentes da embalagem para o

conteúdo armazenado em quantidades que sejam nocivas à saúde do consumidor (EUROPEAN UNION, 2004). Os materiais utilizados na elaboração da embalagem e os aditivos do processo passam por análise toxicológica (EUROPEAN UNION, 2011) para prevenir os riscos à saúde. Há poucos estudos sobre a influência dos pulsos luminosos nos materiais da embalagem no que tange à estabilidade física e mecânica e à ocorrência ou não de migração de compostos após a aplicação do tratamento (CASTILLO *et al.*, 2013; PASCALL; HAN, 2007). Mas já se sabe que a força e a elasticidade dos materiais da embalagem podem ser influenciadas quando se utilizam intensidades médias e altas de pulsos (KEKLIK; DEMIRCI; PURI, 2009). Ringus e Moraru (2013) investigaram as possíveis modificações estruturais e físicas em superfícies de polietileno de baixa e alta densidade e três filmes laminados (MET, TR e EP) submetidos a pulsos luminosos e notaram mudanças no ângulo de contato da água e na superfície, o que demonstra alteração na hidrofobicidade da embalagem. Os pesquisadores também verificaram que a rugosidade média da superfície foi determinada e houve modificação na forma como a superfície refletia ou absorvia a luz. Nos filmes laminados, observaram uma maior rugosidade e baixo poder de descontaminação. As alterações nos materiais da embalagem demonstraram que a aplicação de pulsos luminosos interfere pouco no ângulo de contato entre a água e a superfície e nas propriedades da embalagem.

### **Considerações finais**

O tratamento com pulsos luminosos pode ser aplicado em alimentos líquidos e sólidos, apresentando resultados satisfatórios quanto à redução de contaminantes microbianos, tais como bactérias, fungos, leveduras e esporos. Apesar de serem altos os custos de manutenção do equipamento, estes podem ser controlados por meio da correta aplicação do método. Esse tratamento também pode ser aplicado em embalagens, entretanto é necessário desenvolver mais pesquisas a fim de esclarecer aspectos relacionados à possibilidade de migração de compostos para os alimentos.

A aplicação de pulsos luminosos tem alto potencial e amplo aproveitamento para a indústria alimentícia, podendo ser uma alternativa viável e eficiente para a produção de alimentos seguros e saudáveis.

## Referências

ABAD-LOZANO, J. L.; RODRIGUEZ-VELERA, F. Photodynamic inactivation of *Bacillus subtilis* spores. **Journal of Applied Bacteriology**, London, v. 57, n. 2, p. 339-343, 1984.

ANDERSON, J. G. *et al.* Inactivation of food-borne enteropathogenic bacteria and spoilage fungi using pulsed-light. **IEEE Transactions on Plasma Science**, New York, v. 28, n. 1, Feb. 2000.

ARTÍGUEZ, M. L.; ARBOLEYA, J.-C.; MARTÍNEZ DE MARAÑÓN, I. Influence of  $\beta$ -lactoglobulin and  $\beta$ -casein on *Listeria innocua* inactivation by pulsed light. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, n. 1-2, p. 223-228, Feb. 2012.

ARTÍGUEZ, M. L.; MARTÍNEZ DE MARAÑÓN, I. Improved process for decontamination of whey by a continuous flow-through pulsed light system. **Food Control**, v. 47, p. 599-605, Jan. 2015a.

ARTÍGUEZ, M. L.; MARTÍNEZ DE MARAÑÓN, I. Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by combined pulsed light and thermal treatments. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 214, p. 31-37, Dec. 2015b.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. *et al.* Application of light pulses in the sterilization of foods, packaging materials. In: BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. *et al.* **Nonthermal preservation of foods**. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 139-159.

BIALKA, K. L.; DEMIRCI, A. Efficacy of pulsed UV-light for the decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on raspberries and strawberries. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 5, p. 201-207, July 2008.

BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Emerging technologies: chemical aspects. **Food Research International**, v. 35, n. 2, p. 279-284, Dec. 2002.

CACACE, D.; PALMIERI, L. High-intensity pulsed light technology. *In*: SUN, D.-W. (ed.). **Emerging technologies for food processing**. 2nd ed. New York: Academic Press, 2014. p. 239-257.

CASTILLO, R. *et al.* Comprehensive on-line HPLC-GC for screening potential migrants from polypropylene into food: the effect of pulsed light decontamination as an example. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, n. 9, p. 1.679-1.687, Sept. 2013.

DUNN, J. E. Pulsed light and pulsed electric field for foods, eggs. **Poultry Science**, v. 75, n. 9, p. 1.133-1.136, Sept. 1996.

DUNN, J. E. *et al.* **Methods for preservation of foodstuffs**. US Patent 4871559. Arlington: USPTO, 1989.

EIE, T. Light protection from packaging. *In*: YAM, K. L. (ed.). **Encyclopedia of packaging technology**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2009.

ELMNASSER, N. *et al.* Bacterial inactivation using pulsed light. **Acta Alimentaria**, Budapeste, v. 36, n. 3, p. 373-380, Sept. 2007.

EUROPEAN UNION. Commission Regulation (EU) n. 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food. 2011. **Official Journal of the European Union**, Bruxelles, L 12, p. 1-89, 15 Jan. 2011.

EUROPEAN UNION. Regulation (EC) n. 1935/2004 of the European Parliament and the Council of 27 October 2004 on materials and articles intended to come into contact with food and repealing Directives 80/590/EEC and 89/109/EEC. **Official Journal of the European Union**, Bruxelles, L 338, p. 4-17, 13 Nov. 2004.

FDA. Pulsed light for the treatment of food. 21 FR 179.41. **Electronic Code of Federal Regulations**, Washington, D. C., 3 Apr. 2020. Disponível em:

[https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=2e69c99b80877eca26e49bc149b9cee7&mc=true&node=se21.3.179\\_141&rgn=div8](https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=2e69c99b80877eca26e49bc149b9cee7&mc=true&node=se21.3.179_141&rgn=div8). Acesso em: 4 abr. 2020.

FERRARIO, M.; ALZAMORA, S. M.; GUERRERO, S. Study of the inactivation of spoilage microorganism in apple juice by pulsed light and ultrasound. **Food Microbiology**, v. 46, p. 635-642, Apr. 2015.

FRIEDBERG, E. C. **DNA Repair**. New York: W. H. Freeman, 1985.

GANAN, M. *et al.* Use of pulsed light to increase the safety of ready-to-eat cured meat products. **Food Control**, v. 32, n. 2, p. 512-517, Aug. 2013.

GIESE, N.; DARBY, J. Sensitivity of microorganisms to different wavelengths of UV light: implications on modeling of medium pressure UV systems. **Water Research**, v. 34, n. 16, p. 4.007-4.013, Nov. 2000.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. *et al.* Pulsed light for food decontamination: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 9, p. 464-473, Sept. 2007.

HEINRICH, V. *et al.* Post-packaging application of pulsed light for microbial decontamination of solid foods: a review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 30, p. 145-156, 2015.

HIERRO, E. *et al.* Pulsed light treatment for the inactivation of selected pathogens and the shelf-life extension of beef and tuna *carpaccio*. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 158, n. 1, p. 42-48, July 2012.

HIRAMOTO, T. **Method of sterilization**. US Patent 4464336. Arlington: USPTO, 1984.

HSU, L.; MORARU, C. I. Quantifying and mapping the spatial distribution of fluence inside a pulsed light treatment chamber and various liquid substrates. **Journal of Food Engineering**, v. 103, n. 1, p. 84-91, Mar. 2011.

JAGGER, J. **Introduction to research in ultraviolet photobiology**. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1967.

JUN, S. *et al.* Pulsed UV-light treatment of corn meal for inactivation of *Aspergillus niger* spores. **International Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 38, n. 8, p. 883-888, Dec. 2003.

KEKLIK, N. M.; DEMIRCI, A.; PURI, V. M. Inactivation of *Listeria monocytogenes* on unpackaged and vacuum-packaged chicken frankfurters using pulsed UV light. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 74, n. 8, p. 431-439, Oct. 2009.

KRAMER, B.; MURANYI, P. Effect of pulsed light on structural and physiological properties of *Listeria innocua* and *Escherichia coli*. **Journal of Applied Microbiology**, London, v. 116, p. 596-611, Nov. 2013.

KRISHNAMURTHY, K.; DEMIRCI, A.; IRUDAYARAJ, J. M. Inactivation of *Staphylococcus aureus* in milk and milk foam by pulsed UV-light treatment and surface response modeling. **Transactions of the Asabe**, St. Joseph, v. 51, n. 6, 2008.

KRISHNAMURTHY, K.; DEMIRCI, A.; IRUDAYARAJ, J. M. Inactivation of *Staphylococcus aureus* in milk using flow-through pulsed UV-light treatment system. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, n. 7, p. 233-239, Oct. 2007.

LAGUNAS-SOLAR, M. C.; GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. Cost Sub-Committee Report on UV units, UV sources specification and experimental producers. **Cost Sub-Committee Report**, 19 Nov. 2006.

MALLEY, J. P. Ultraviolet disinfection. *In*: LINGIREDDY, S. (ed.). **Control of microorganism in drinking water**. Reston: American Society of Civil Engineers, 2002. p. 213-235.

MCDONALD, K. F.; CURRY, R. D.; HANCOCK, P. J. Comparison of pulsed and CW ultraviolet light sources to inactivate bacterial spores on surfaces. **IEEE Transactions on Plasma Science**, New York, v. 30, n. 5, p. 1.986-1.989, Oct. 2002.

MORARU, C. I.; UESUGI, A. R. Pulsed-light treatment principles and applications. *In*: KOUTCHMA, T.; FORNEY, L. J.; MORARU, C. I. (ed.). **Ultraviolet light in food technology: principles and applications**. Boca Raton: CRC, 2009. p. 235-265.

MUÑOZ, A. *et al.* Combinations of selected non-thermal technologies and antimicrobials for microbial inactivation in a buffer system. **Food Research International**, v. 47, n. 1, p. 100-105, June 2012a.

MUÑOZ, A. *et al.* Effects on *Escherichia coli* inactivation and quality attributes in apple juice treated by combinations of pulsed light and thermosonication. **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 299-305, Jan. 2012b.

OMS-OLIU, G.; MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Pulsed light treatments for food preservation. A review. **Food Bioprocess Technology**, v. 3, n. 1, p. 13-23, Feb. 2010.

PAI, S. T.; ZHANG, Q. **Introduction to high power pulse technology**. Singapore: World Scientific, 1995.

PALGAN, I. *et al.* Combined effect of selected non-thermal technologies on *Escherichia coli* and *Pichia fermentans* inactivation in an apple and cranberry juice blend and on product shelf life. **International Journal of Food Microbiology**, v. 151, n. 1, p. 1-6, June 2011.

PALMIERI, L.; CACACE, D. High-intensity pulsed light technology. *In*: SUN, D.-W. (ed.). **Emerging technologies for food processing**. New York: Academic Press, 2005. p. 279-306.



PALMIERI, L.; CACACE, D.; DALL'AGLIO, G. Non-thermal methods of food preservation based on electromagnetic energy. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 37, n. 2, p. 145-149, Apr. 1999.

PASCALL, M. A.; HAN, J. H. (ed.). **Packaging for nonthermal processing of food**. New York: John Wiley & Sons, 2007.

PATARO, G. *et al.* Bacterial inactivation in fruit juices using a continuous flow pulsed light (PL) system. **Food Research International**, v. 44, n. 6, p. 1.642-1.648, July 2011.

PUREBRIGHT Sterilization Systems. PurePulse Technologies, now Maxwell Technologies. San Diego, 2000.

RAJKOVIC, A. *et al.* Pulsed UV light as an intervention strategy against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 on the surface of meat slicing knife. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 3, p. 446-451, Oct. 2010.

RAMOS-VILLARROEL, A. Y. *et al.* Influence of spectral distribution on bacterial inactivation and quality changes of fresh-cut watermelon treated with intense light pulses. **Postharvest Biology and Technology**, v. 69, p. 32-39, 2012a.

RAMOS-VILLARROEL, A. Y. *et al.* The role of pulsed light spectral distribution in the inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on fresh-cut mushrooms. **Food Control**, v. 24, n. 1-2, p. 206-213, Mar./Apr. 2012b.

RINGUS, D. L.; MORARU, C. I. Pulsed light inactivation of *Listeria innocua* on food packaging materials of different surface roughness and reflectivity. **Journal of Food Engineering**, v. 114, n. 3, p. 331-337, Feb. 2013.

SETLOW, B.; SETLOW, P. Thymine-containing dimers as well as spore photoproducts are found in ultraviolet irradiated *Bacillus subtilis* spores that lack

small acid-soluble proteins. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, D. C., v. 84, n. 2, p. 421-423, Jan. 1987.

SILVA RAMIREZ, M.; CASTRO SILUPU, W.; OBLITAS CRUZ, J. Influencia de la turbidez en el efecto antimicrobiano de la luz ultravioleta y de los pulsos luminosos de luz blanca en néctar de naranja (*Citrus sinensis*). **Scientia Agropecuaria**, Trujillo, v. 1, n. 2, p. 139-145, abr./jun. 2010.

SLIEMAN, T. A.; NICHOLSON, W. L. Artificial and solar UV radiation induces strand breaks and cyclobutane dimers in *Bacillus subtilis* spore DNA. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D. C., v. 66, n. 1, p. 199-205, Jan. 2000.

SMITH, K. **The science of photobiology**. New York: Plenum, 1977.

SOUZA, J. F. **Utilização de luz ultravioleta contínua (UV-C) e luz pulsada para conservação de mangas cv. Tommy Atkins minimamente processadas**. 2014. 136 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2014.

TAKESHITA, K. *et al.* Damage of yeast cells induced by pulsed light irradiation. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 85, n. 1-2, p. 151-158, Aug. 2003.

TYRRELL, R. M. Induction of pyrimidine dimers in bacterial DNA by 365 nm radiation. **Photochemistry and Photobiology**, Herndon, v. 17, n. 1, p. 69-73, Jan. 1973.

WALLEN, R. D. *et al.* Sterilization of a new medical device using broad-spectrum pulsed light. **Biomedical Instrumentation & Technology**, Arlington, v. 35, n. 5, p. 323-330, Sept. 2001.

## Capítulo 4

---

# *Plasma frio: uma tecnologia promissora para aumentar a segurança dos alimentos*

Kátia Silva Maciel

Luciano José Quintão Teixeira

Estefânia Pecegueiro Prudêncio

Yanne Boaventura Nobre

Christiano Jorge Gomes Pinheiro

Milton de Jesus Filho

Sérgio Henriques Saraiva

### **Introdução**

A contaminação dos alimentos por microrganismos é uma grande preocupação para a indústria alimentícia, as agências reguladoras e os consumidores. Por isso, os métodos térmicos de esterilização são utilizados como forma de garantir a segurança, bem como de aumentar a vida de prateleira dos alimentos. No entanto, o calor provoca efeitos indesejáveis nas propriedades sensoriais, nutricionais e funcionais de alguns alimentos (SONG *et al.*, 2009). Tais efeitos e a demanda crescente por alimentos mais frescos têm motivado o desenvolvimento de pesquisas sobre métodos não térmicos com o objetivo de preservar a qualidade, a segurança

e manter as características sensoriais e nutricionais dos alimentos, visando substituir ou complementar o tratamento térmico. Um desses métodos é o plasma frio.

O plasma é o estado da matéria mais comum no universo e pode ser formado na natureza de diversas formas, por exemplo: em material interestrelar, devido a altíssimas temperaturas; e, na Terra, na forma visível conhecida como aurora boreal. De forma artificial, o plasma é produzido por meio de lâmpadas de vapor de mercúrio, lâmpadas de vapor de sódio e lâmpadas fluorescentes.

Uma das formas de aproveitamento do plasma artificial é o método não térmico de descontaminação e preservação conhecido como plasma frio, que é amplamente utilizado para modificar superfícies em materiais termicamente instáveis e tem aplicação em medicina, biologia, ciência de alimentos, entre outras áreas. Na ciência dos alimentos, sua utilização tem uma abordagem relativamente nova, com a finalidade de melhorar a segurança microbiológica em conjunto com a manutenção de sabor, cor, aroma, textura e nutrientes dos alimentos tratados (ZIUZINA *et al.*, 2015), além de poder ser empregado em qualquer tipo de alimento e embalagem.

O plasma frio é obtido, geralmente, pela passagem de um ou mais gases por um campo elétrico (entre dois eletrodos) para ambos os campos, contínuo ou alternado, formando assim descargas (BOGAERTS *et al.*, 2002). Os tratamentos inicialmente eram efetuados em condições de vácuo, e posteriormente pesquisadores desenvolveram um plasma a pressão atmosférica (YUN *et al.*, 2010), dando, com isso, grande contribuição para o desenvolvimento da tecnologia.

A possibilidade de gerar descargas de plasma não térmicas a pressão atmosférica torna o processo de conservação prático e barato. Além disso, o fato de a temperatura do gás dessas descargas permanecer baixa torna o uso de plasma frio aplicável a produtos sensíveis ao calor (SONG *et al.*, 2009).

Com o objetivo de apresentar as demais características desse método, este trabalho apresenta um histórico da utilização do plasma frio como forma de conservação de alimentos, os princípios dos equipamentos, os efeitos sobre os microrganismos e as características sensoriais e nutricionais dos alimentos.

## 1. Histórico

Atualmente, a Física classifica a matéria em cinco estados físicos: sólido, líquido, gasoso, plasma e condensado de Bose-Einstein. Dependendo da variação de temperatura e pressão, uma substância pode existir em um ou mais desses três primeiros estados da matéria. O físico Irving Langmuir, em 1929, publicou um artigo na revista *Physical Review*, no qual ele chamou de “plasma” uma “sopa” de íons e elétrons separados das moléculas e átomos de um gás submetido a uma energia de ionização.

Os plasmas foram empregados pela primeira vez na indústria mundial há mais de cinquenta anos. Uma das primeiras aplicações se deu em válvulas a gás e em indústrias sólidas. No início dos anos 1970 uma crescente atenção ao plasma surgiu na área de processamento de materiais, e nos anos 1990 o plasma foi utilizado em aplicações ambientais, como no tratamento de lixo tóxico industrial (UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 2011).

O aparelho que utiliza a tecnologia do plasma frio foi inventado e patenteado por Gregory Watson em 1960 nos Estados Unidos, e suas primeiras aplicações se deram na medicina, para controle de microrganismos hospitalares (LAW *et al.*, 2012).

Stanley L. Miller e Harold C. Urey realizaram um trabalho pioneiro na década de 1950 na área de síntese de aminoácidos (MILLER, 1955), que foi relatado como um exemplo clássico da aplicação do plasma frio no campo de síntese de compostos orgânicos.

O primeiro relatório sobre o plasma como um agente de esterilização foi realizado e patenteado por Menashi em 1968. Ele foi capaz de esterilizar a superfície interior de tubos de ensaio contendo  $10^6$  esporos em tempos de menos de um segundo, utilizando plasma de argônio atmosférico (MENASHI, 1968).

Por sua vez, Boucher (1980), em sua patente, explicou o papel da radiação UV na inativação microbiana com o plasma. Relatou que fótons UV podem penetrar a uma profundidade de até um micrômetro e que o plasma podia penetrar a uma profundidade de dez micrômetros, verificando, assim, a viabilidade para a destruição de bactérias esporuladas.

## 2. Definições e princípios de funcionamento dos equipamentos

O plasma pode ser classificado em duas categorias, conforme seu nível de energia, temperatura e densidade iônica: plasma de alta temperatura e de baixa temperatura, ou plasma térmico e plasma frio, respectivamente. O plasma frio também é chamado de plasma não térmico ou plasma fora do equilíbrio (LIU; XU; WANG, 1999).

Os plasmas térmicos estão em equilíbrio termodinâmico, quando a temperatura dos elétrons é igual à temperatura das partículas pesadas, estando essas temperaturas associadas à energia cinética das partículas com temperaturas entre dois mil a cinquenta mil graus (BORGES, 2012).

O plasma frio ou plasma não térmico é caracterizado pelo não equilíbrio termodinâmico em que a temperatura das partículas pesadas está próxima da temperatura ambiente. Ele pode ser definido como um gás constituído de elétrons, átomos e moléculas altamente excitadas, íons, radicais, fótons e partículas neutras, em que os elétrons têm muito mais energia do que as partículas gasosas neutras (FRIDMAN *et al.*, 2008).

O plasma é gerado ao submeter-se um gás a uma descarga, utilizando-se dois eletrodos. Quando um potencial alto o suficiente é aplicado entre os eletrodos, o gás se ioniza e um plasma de descarga é formado. Se a pressão for elevada o bastante (aproximadamente igual à pressão atmosférica) e a energia de formação for muito alta, o processo de ionização torna-se muito forte, e a descarga então se torna uma onda de choque de plasma. Tal efeito induz a quebra das moléculas do gás, fazendo com que o processo gere elétrons acelerados (BALDISSARELLI, 2012).

A energia aplicada pode ser de diferentes fontes, tais como combustão, chamas, forno aquecido eletricamente, descargas elétricas (corona, faísca, luminescente, micro-ondas, jato de plasma, plasma de radiofrequência e barreira dielétrica) e choques (elétricos, magnéticos e químicos) (VENUGOPALAN; VEPREK, 1983). O plasma frio pode ser gerado e mantido por descargas elétricas (LARKIN *et al.*, 2001; LIEBERMAN; LICHTENBERG, 1994), e estas podem ter características diversas, dependendo do tipo de tensão aplicada e da especificidade do reator (ISTADI; AMIN, 2006). A ionização de um gás ocorrerá somente se a energia aplicada for maior que a energia de ionização do gás, e, entre as formas de se produzir o plasma, a escolha irá depender da aplicação desejada (BALDISSARELLI, 2012).

O gás utilizado para gerar o plasma frio pode ser de vários tipos, tais como O<sub>2</sub> (KIM *et al.*, 2011), CO<sub>2</sub>, argônio (SUROWSKY *et al.*, 2014), ar (ROWAN *et al.*, 2007), N<sub>2</sub> (LEE *et al.*, 2006), He (NORIEGA *et al.*, 2011), SO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub> (MISRA *et al.*, 2014), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (HURY *et al.*, 1998), bem como uma combinação de gases, como He e O<sub>2</sub> (NORIEGA *et al.*, 2011), N<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> (LEE *et al.*, 2006), entre outras.

Segundo Thirumdas, Sarangapani e Annapure (2014), a eficiência da inativação dos microrganismos depende: da superfície do produto em que é realizada a aplicação do plasma, do dispositivo de plasma e do tipo de gás utilizado. Por isso, o uso do plasma requer o estudo de uma série de variáveis inter-relacionadas, a fim de verificar as condições em que o processamento deve ser realizado, para garantir a segurança microbiológica e preservar ao máximo as características sensoriais, nutricionais e funcionais dos alimentos. A Tabela 1 mostra de forma resumida alguns parâmetros que devem ser considerados ao aplicar-se o tratamento de plasma frio.

**Tabela 1 – Parâmetros importantes no processo de aplicação de plasma frio**

<b>Câmara de tratamento</b>	Distância entre os eletrodos
	Material do eletrodo
	Contato ou não com o plasma durante o tratamento do alimento e/ou embalagem
<b>Processo de aplicação do plasma</b>	Pressão atmosférica ou pressão inferior à atmosférica
	Tipo de gás utilizado e/ou mistura de gases
	Duração do tratamento
	Tipo de energia aplicada
	Vazão do gás
	Distância da aplicação do gás e a amostra
	Tamanho da amostra
Material da amostra	

Fonte: Elaboração própria.

Um dos tipos mais comuns de plasma é o plasma de capacidade acoplado (MILOSAVLJEVIĆ *et al.*, 2008), que consiste em dois eletrodos de metal colocados em uma câmara e separados por uma pequena distância. A pressão do gás na câmara pode ser inferior ou igual à atmosférica. Um sistema típico de plasma de capacidade acoplado é conduzido por um único fornecimento de energia de radiofrequência,

geralmente a 13,56 MHz. Um dos dois eletrodos está ligado à fonte de alimentação, e o outro é aterrado. Os plasmas de capacidade acoplados têm aplicação ampla, incluindo a deposição, a pulverização catódica e a limpeza (RYAN; O'FARRELL; ELLINGBOE, 2011).

Outro tipo de fonte pode ser o plasma indutivo, que é um modelo de plasma em que a fonte de energia é fornecida por correntes elétricas propagadas por indução eletromagnética, ou seja, por campos magnéticos variáveis no tempo (MILOSAVLJEVIĆ; FAULKNER; HOPKINS, 2007). Existem duas formas ou duas variedades geométricas: plana e cilíndrica. Na geometria plana, o eletrodo é uma bobina de metal plana enrolada como uma espiral. Na geometria cilíndrica, é como uma mola helicoidal. Quando a corrente elétrica passa através da bobina, durante um tempo e variando-se o campo magnético em torno dela, são induzidas correntes elétricas no gás rarefeito, levando à quebra e à formação de plasma. O uso do plasma indutivo para processar alimentos é vantajoso, visto que é relativamente livre de contaminação, pois os eletrodos ficam fora da câmara onde ocorre a reação (BAUER *et al.*, 2013).

### **3. Plasma frio na conservação de alimentos**

#### *3.1. Efeito sobre microrganismos, esporos e enzimas*

Tecnologias baseadas em plasma frio demonstraram sucesso na inativação de diferentes tipos de microrganismos, tais como vírus (TERRIER *et al.*, 2009), bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (GADRI *et al.*, 2000; LOCKE *et al.*, 2006), esporos (LEE *et al.*, 2006; FEICHTINGER *et al.*, 2003), enzimas (DOBRYNIN *et al.*, 2009) e na eliminação de biofilme bacteriano (ALKAWAREEK *et al.*, 2012; NIEMIRA; BOYD; SITES, 2014).

O plasma produz espécies antimicrobianas ativas, como íons positivos e negativos, elétrons e fótons ultravioletas (UV), bem como espécies neutras reativas (radicais, átomos e moléculas excitadas) com energia suficiente para quebrar ligações covalentes e iniciar reações químicas. Durante o tratamento com o plasma, os microrganismos são inativados pelo resultado do contato direto com as espécies antimicrobianas ativas (MOISAN *et al.*, 2001), em que as espécies reativas interagem com a água presente



conduzindo à formação de íons OH\* (ZOU; LIU; ELIASSON, 2004). Os íons OH\* são reativos e prejudiciais para as células, sendo responsáveis por 90 % dos danos ao DNA (THIRUMDAS; SARANGAPANI; ANNAPURE, 2014). Eles podem reagir com compostos orgânicos e gerar erosão da superfície (LAROUCSI; LEIPOLD, 2004; GALLAGHER *et al.*, 2007), oxidação das membranas das células e destruição da cadeia de moléculas de DNA e outros componentes celulares (DOBRYNIN *et al.*, 2009), bem como a desnaturação de proteínas.

São vários os estudos conduzidos para verificar a eficiência do tratamento com plasma frio na inativação de células microbianas (Tabela 2).

**Tabela 2 – Efeitos da aplicação de plasma frio em diferentes microrganismos**

Microrganismo	Meio	Gás	Tempo de aplicação	Redução decimal	Referência
<i>Listeria innocua</i>	Carne de frango	He e O <sub>2</sub>	4 min	> 3,5	Noriega e colaboradores (2011)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Queijo	Ar	2 min	2,78	Song e colaboradores (2009)
<i>Escherichia coli</i>	Alface e tomate	O <sub>2</sub>	10 min	1,6	Bermúdez-Aguirre e Barbosa-Cánovas (2013)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Alface	Ar	5 min	2,3	Ziuzina e colaboradores (2015)
<i>Aspergillus flavus</i>	Pimenta	Ar	20 min	2,5	Kim e colaboradores (2014)
<i>Salmonella</i>	Maçã	Ar	3 min	3,7	Niemira e Sites (2008)
<i>Escherichia coli</i>	Leite cru	N <sub>2</sub>	3 min	4,5	Gurol e colaboradores (2012)
<i>Salmonella Typhimurium</i>	Morango	Ar	15 min	1,76	Fernández e colaboradores (2012)
<i>Salmonella enteritidis</i>	Ovos	Ar	90 min	4,5	Rowan e colaboradores (2007)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Superfície	He e O <sub>2</sub>	4 min	4,0	Alkawareek e colaboradores (2012)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Alface	N <sub>2</sub>	10 min	1,8	Lee e colaboradores (2006)

Fonte: Elaboração própria.

O efeito do plasma é altamente dependente da presença de água, podendo-se observar uma maior efetividade do tratamento quando há maior teor de água no meio, em comparação com o que ocorre em menor teor de água. Estudo verificado por Ragni e colaboradores (2010) demonstra que, após noventa minutos de

tratamento, houve redução de *Salmonella enteritidis* de até 2,5 log UFC/casca de ovo e 4,5 log UFC/casca de ovo, utilizando-se ar com baixa e alta umidade, respectivamente.

Segundo Niemira (2012), os agentes patogênicos, tais como *Salmonella*, podem formar biofilmes resistentes a produtos químicos, difíceis de remover de superfícies. Em quinze segundos de tratamento com plasma frio usando ar atmosférico, verificou-se a redução de biofilmes de *Salmonella* em até 2,13 log UFC/ml em superfície. Alkawareek e colaboradores (2012) obtiveram a redução de 4 log do número de células de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* após o tratamento de quatro minutos de plasma de hélio e oxigênio (Tabela 2).

Um dos primeiros trabalhos citados na literatura sobre o efeito do plasma na inativação de esporos é de 1976, de Fraser e colaboradores, que observaram que a inativação de *Bacillus subtilis* com plasma de O<sub>2</sub> teve uma eficácia menor, uma vez requerida a 300 W e quinze minutos de exposição, mas provavelmente devido a diferentes condições de funcionamento. Boucher (1985) observou que alguns gases, como o CO<sub>2</sub>, foram mais eficientes que outros, por exemplo o gás argônio aplicado na inativação de esporos bacterianos. O pesquisador também alegou que esporos pré-embebidos durante uma hora em água são mais susceptíveis à inativação.

Nelson e Berger (1989) mostraram que plasma de O<sub>2</sub> pode ser muito eficaz como meio de esterilização de *Bacillus subtilis* e *Clostridium botulinum*. O plasma foi aplicado por um sistema de condicionamento de íon reativo, em que a descarga é alcançada entre duas placas condutoras paralelas com um campo de radiofrequência de 13,56 MHz. Esse sistema acelera os íons enquanto estes derivam na direção dos eletrodos em que os esporos foram localizados. Com 200 W, a população de *Bacillus subtilis* foi reduzida em mais de 3,5 log em cinco minutos.

Outros trabalhos realizados a fim de testar o poder oxidativo do plasma para preservar as características de frutas e hortaliças relatam que esse tratamento pode promover a inativação de enzimas (PANKAJ *et al.*, 2014; SUROWSKY *et al.*, 2013; TAPPI *et al.*, 2014). Aplicações foram dirigidas principalmente para a redução da atividade de enzimas oxidantes, tais como polifenoloxidase em maçãs frescas de corte (TAPPI *et al.*, 2014) e peroxidase em tomate (PANKAJ *et al.*, 2014). Tappi e colaboradores (2014) encontraram um efeito significativo sobre a atividade de enzimas de degradação e, em alguns casos, com a conseqüente melhoria da qualidade visual do produto para as maçãs minimamente processadas.

### 3.2. Efeito sobre o valor nutricional e as características sensoriais dos alimentos

A capacidade de gerar plasma frio a pressão atmosférica oferece uma nova fonte para a descontaminação de alimentos frescos, além de não ocasionar grandes alterações nos alimentos quando empregada de forma apropriada.

Misra e colaboradores (2014), ao tratarem morangos com plasma frio atmosférico, gerado com 60 kV de descarga de barreira dielétrica e pulsado a 50 Hz, verificaram que a taxa de respiração dos produtos tratados, medida pela abordagem de sistema fechado, não mostrou nenhum aumento significativo e, além disso, nenhum efeito foi observado sobre a cor e a firmeza dos morangos.

No tratamento de alface por plasma frio utilizando O<sub>2</sub>, compostos flavonoides puros demonstraram uma degradação dependente do tempo, enquanto fenólicos permaneceram inalterados (GRZEGORZEWSKI *et al.*, 2011).

Kovacević e colaboradores (2016) verificaram que, após o tratamento de suco de romã com plasma, ocorreu maior teor de antocianina (21 a 35 %). Os autores atribuem esse aumento à melhoria da extração e rompimento da integridade da membrana celular em partículas do suco de romã. A maior estabilidade das antocianinas foi obtida em condições de funcionamento do plasma frio no tempo de tratamento de três minutos, volume da amostra de 5 cm<sup>3</sup> e fluxo de gás de 0,75 dm<sup>3</sup>/min. Os pesquisadores observaram também que não houve mudança de cor ao variarem o volume e o tempo de tratamento da amostra, mas que houve uma diminuição da cor com o aumento do fluxo de gás.

Ramazzina e colaboradores (2015) verificaram que o tratamento de plasma frio em kiwis recém-cortados influenciou positivamente a manutenção da qualidade do produto, com uma melhor retenção da cor e redução na formação de área escura durante o armazenamento, sem induzir qualquer alteração estrutural em comparação com o controle. Além disso, os autores relatam que o tratamento com o plasma causou uma ligeira perda imediata dos pigmentos, porém uma melhor retenção durante o armazenamento, não ocorrendo alterações significativas na atividade antioxidante.

## 4. Aplicação do plasma em embalagens

O processo de embalagem é um importante ponto crítico de controle na indústria alimentícia, por ser destinado a preservar a qualidade dos alimentos ao longo

da distribuição e armazenamento, com o objetivo de protegê-los da deterioração, danos e contaminação externa. Desse modo, as embalagens devem ser devidamente esterilizadas, para que não ocorra a contaminação dos alimentos nem, conseqüentemente, gerem-se riscos à saúde dos consumidores ou perdas econômicas (MISRA; KADAM; PANKAJ, 2011).

Vale ressaltar que a principal desvantagem das técnicas de esterilização convencionais é a formação de efluentes líquidos, o que, além de gerar resíduos, eleva o custo do processo. Já a esterilização por plasma frio é um método rápido, seguro, que não deixa resíduos e aplicável a uma ampla variedade de materiais de embalagens. No entanto, essa técnica pode alterar ou modificar as superfícies de alguns materiais, ocasionando, por exemplo, o aumento da higroscopicidade.

Tenn e colaboradores (2012) avaliaram a permeabilidade ao vapor de água em películas com diferentes teores de etileno. Os autores relataram que a hidrofobicidade foi significativamente maior após o tratamento com plasma para todas as películas, sendo a permeabilidade à água reduzida em até 28 %.

Padilha, Giacon e Bartoli (2010) estudaram a modificação de filmes finos de poli(metacrilato de metila) por plasma de gás fluorado. Os resultados mostraram um aumento na hidrofobicidade dos filmes, devido à presença de átomos de flúor na superfície, o que diminuiu a energia livre de superfície e, conseqüentemente, elevou os valores do ângulo de contato. Entretanto, ocorreu um aumento da rugosidade da superfície dos filmes após o tratamento.

Por sua vez, Yun e colaboradores (2010) estudaram o efeito do plasma a pressão atmosférica sobre *Listeria monocytogenes* inoculado em recipientes descartáveis para alimentos, como bandejas descartáveis de plástico, papel alumínio e copos. Os resultados mostraram que não houve células viáveis detectadas em 120 s de tratamento em bandejas descartáveis, e foram alcançadas três reduções decimais em papel alumínio e em copos.

## **Considerações finais**

O plasma é aplicado em vários segmentos industriais, na agricultura, na medicina e na ciência, com diversos propósitos. Na área de conservação de alimentos, o plasma frio constitui uma técnica promissora para substituir o tratamento térmico, e sua utilização

é destacada em uma vasta gama de alimentos com a finalidade de inativar microrganismos e, conseqüentemente, aumentar a vida de prateleira. Tem como vantagem uma melhor preservação das características sensoriais e nutricionais dos alimentos, em comparação com outros métodos. No entanto, constata-se que há necessidade de novos estudos no desenvolvimento e aperfeiçoamento dos equipamentos, devido ao grande número de parâmetros que devem ser considerados durante o processo de aplicação de plasma frio em cada tipo de alimento, além da elaboração de uma legislação específica para o seu processamento.

## Referências

ALKAWAREEK, M. Y. *et al.* Eradication of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by atmospheric pressure non-thermal plasma. **Plos One**, San Francisco v. 7, n. 8, e44289, p. 1-8, Aug. 2012.

BALDISSARELLI, V. Z. **Estudo da degradação do CH<sub>4</sub> e da mistura CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub> por plasma térmico de argônio**: identificação e caracterização dos produtos obtidos. 2012. 173 p. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

BAUER, S. *et al.* Engineering biocompatible implant surfaces: part I: materials and surfaces. **Progress in Materials Science**, v. 58, n. 3, p. 261-326, Apr. 2013.

BERMÚDEZ-AGUIRRE, D.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: chlorine, acid citric, ultraviolet light and ozone. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 82-90, 2013.

BOGAERTS, A. *et al.* Gas discharge plasmas and their applications. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 4, p. 609-658, Apr. 2002.

BORGES, A. M. G. **Estudo de adesão e proliferação celular sobre superfícies de filmes poliméricos modificados por processo de plasma frio com descarga de**

**barreira dielétrica.** 2012. 183 p. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

BOUCHER, R. M. **Seeded gas plasma sterilization method.** US Patent 4207286. Arlington: USPTO, 1980.

BOUCHER, R. M. State of the art in gas plasma sterilization. **Medical Device Diagnostics Industry**, v. 7, p. 51-56, 1985.

DOBRYNIN, D. *et al.* Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue. **New Journal of Physics**, v. 11, n. 11, p. 1-26, Nov. 2009.

FEICHTINGER, J. *et al.* Sterilisation with low-pressure microwave plasmas. **Surface and Coatings Technology**, v. 174-175, p. 564-569, Sept. 2003.

FERNÁNDEZ, A. *et al.* Effect of microbial loading on the efficiency of cold atmospheric gas plasma inactivation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 152, n. 3, p. 175-180, 2012.

FRASER, S. J.; GILLETTE, R. B.; OLSON, R. L. **Sterilizing process and apparatus utilizing gas plasma.** US Patent 3948601. Arlington: USPTO, 1976.

FRIDMAN, G. *et al.* Applied plasma medicine. **Plasma Processes and Polymers**, Weinheim, v. 5, p. 503-533, 2008.

GADRI, R. B. *et al.* Sterilization and plasma processing of room temperature surfaces with a one atmosphere uniform glow discharge plasma (OAUGDP). **Surface and Coatings Technology**, v. 131, n. 1-3, p. 528-541, 2000.

GALLAGHER, M. J. *et al.* Rapid inactivation of airborne bacteria using atmospheric pressure dielectric barrier grating discharge. **IEEE Transactions on Plasma Science**, New York, v. 35, n. 5, p. 1.501-1.510, Nov. 2007.

GRZEGORZEWSKI, F. *et al.* Treating lamb's lettuce with a cold plasma – influence of atmospheric pressure and plasma immanent species on the phenolic profile of *Valerianella locusta*. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, n. 10, p. 2285-2289, Dec. 2011.

GUROL, C. *et al.* Low temperature plasma for decontamination of *E. coli* in milk. **International Journal of Food Microbiology**, v. 157, n. 1, p. 1-5, June 2012.

HURY, S. *et al.* A parametric study of the destruction efficiency of *Bacillus spores* in low pressure oxygen-based plasmas. **Letters in Applied Microbiology**, London, v. 26, n. 6, p. 417-421, June 1998.

ISTADI, I.; AMIN, N. A. S. Co-generation of synthesis gas and C2C hydrocarbons from methane and carbon dioxide in a hybrid catalytic-plasma reactor: a review. **Fuel**, v. 85, n. 5-6, p. 577-592, Mar./Apr. 2006.

KIM, B. *et al.* Effect of atmospheric pressure plasma on inactivation of pathogens inoculated onto bacon using two different gas compositions. **Food Microbiology**, v. 28, n. 1, p. 9-13, Feb. 2011.

KOVACEVIĆ, D. B. *et al.* Effects of cold atmospheric gas phase plasma on anthocyanins and color in pomegranate juice. **Food Chemistry**, v. 190, p. 317-323, Jan. 2016.

LARKIN, D. W. *et al.* Product selectivity control and organic oxygenate pathways from partial oxidation of methane in a silent electric discharge reactor. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, Washington, D. C., v. 40, n. 23, p. 5496-5506, Oct. 2001.

LAROUSSE, M.; LEIPOLD, F. Evaluation of the roles of reactive species, heat and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 233, n. 1-3, p. 81-86, Apr. 2004.

LAW, V. J. *et al.* Electrical power dissipation within a helium APPJ flowing afterglow and its impact on spatial-temporal properties. **IEEE Transactions on Plasma Science**, New York, v. 40, p. 2.994-3.002, 2012.

LEE, K. *et al.* Sterilization of bacteria, yeast, and bacterial endospores by atmospheric-pressure cold plasma using helium and oxygen. **Journal of Microbiology**, Seoul, v. 44, n. 3, p. 269-275, June 2006.

LIEBERMAN, M. A.; LICHTENBERG, A. J. **Principles of plasma discharges and materials processing**. New York: Wiley, 1994.

LIU, C. J.; XU, G. H.; WANG, T. Non-thermal plasma approaches in CO<sub>2</sub> utilization. **Fuel Processing Technology**, v. 58, n. 2-3, p. 119-134, Mar. 1999.

LOCKE, B. R. *et al.* Electrohydraulic discharge and nonthermal plasma for water treatment. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, Washington, D. C., v. 45, n. 3, p. 882-905, Feb. 2006.

MENASHI, W. P. **Treatment of surfaces**. US Patent 3383163. Arlington: USPTO, 1968.

MILLER, S. L. Production of some organic compounds under possible primitive earth conditions. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, D. C., v. 77, n. 9, p. 2.351-2.361, May 1955.

MILOSAVLJEVIĆ, V. *et al.* Real-time plasma control in a dual-frequency, confined plasma etcher. **Journal of Applied Physics**, College Park, v. 103, n. 8, p. 1-10, Apr. 2008.

MILOSAVLJEVIĆ, V.; FAULKNER, R.; HOPKINS, M. B. Real time sensor for monitoring oxygen in radio-frequency plasma applications. **Optics Express**, Washington, D. C., v. 15, n. 21, p. 13.913-13.923, Oct. 2007.



MISRA, N. N. *et al.* In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of strawberries. **Journal of Food Engineering**, v. 125, p. 131-138, Mar. 2014.

MISRA, N. N.; KADAM, S. U.; PANKAJ, S. K. An overview of nonthermal technologies in food processing. **Indian Food Industry**, Mysore, v. 30, n. 5-6, p. 45-52, 2011.

MOISAN, M. *et al.* Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 226, n. 1-2, p. 1-21, Sept. 2001.

NELSON, C. L.; BERGER, T. J. Inactivation of microorganisms by oxygen gas plasma. **Current Microbiology**, New York, v. 18, n. 4, p. 275-276, Apr. 1989.

NIEMIRA, B. A. Cold plasma decontamination of foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, Palo Alto, v. 3, n. 1, p. 125-142, Apr. 2012.

NIEMIRA, B. A.; BOYD, G.; SITES, J. Cold plasma rapid decontamination of food contact surfaces contaminated with *Salmonella* biofilms. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 79, n. 5, p. 917-922, May 2014.

NIEMIRA, B. A.; SITES, J. Cold plasma inactivates *Salmonella* Stanley and *Escherichia coli* O157:H7 inoculated on golden delicious apples. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 71, n. 7, p. 1.357-1.365, July 2008.

NORIEGA, E. *et al.* Cold atmospheric gas plasma disinfection of chicken meat and chicken skin contaminated with *Listeria innocua*. **Food Microbiology**, v. 28, n. 7, p. 1.293-1.300, Oct. 2011.

PADILHA, G. S.; GIACON, V. M.; BARTOLI, J. R. Modificação da superfície dos filmes de PMMA por plasma de CHF<sub>3</sub>. **Exacta**, São Paulo, v. 8, n. 1, p. 13-18, jan./abr. 2010.

PANKAJ, S. K. *et al.* Applications of cold plasma technology in food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, n. 1, p. 5-17, Jan. 2014.

RAGNI, L. *et al.* Non-thermal atmospheric gas plasma device for surface decontamination of shell eggs. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 1, p. 125-132, Sept. 2010.

RAMAZZINA, I. *et al.* Effect of cold plasma treatment on physico-chemical parameters and antioxidant activity of minimally processed kiwifruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 107, p. 55-65, Sept. 2015.

ROWAN, N. J. *et al.* Pulsed-plasma gas-discharge inactivation of microbial pathogens in chilled poultry wash water. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 70, n. 12, p. 2.805-2.810, Dec. 2007.

RYAN, K.; O'FARRELL, D.; ELLINGBOE, A. R. Spatial structure of plasma potential oscillation and ion saturation current in VHF multi-tile electrode plasma source. **Current Applied Physics**, v. 11, n. 5, p. S114-S116, Sept. 2011. Supplement.

SONG, H. P. *et al.* Evaluation of atmospheric pressure plasma to improve the safety of sliced cheese and ham inoculated by 3-strain cocktail *Listeria monocytogenes*. **Food Microbiology**, v. 26, n. 4, p. 432-436, June 2009.

SUROWSKY, B. *et al.* Cold plasma effects on enzyme activity in a model food system. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 19, p. 146-152, July 2013.

SUROWSKY, B. *et al.* Impact of cold plasma on *Citrobacter freundii* in apple juice: inactivation kinetics and mechanisms. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 174, p. 63-71, Jan. 2014.

TAPPI, S. *et al.* Atmospheric gas plasma treatment of fresh-cut apples. **Innovative Food Science Emerging Technologies**, v. 21, p. 114-122, 2014.

TENN, N. *et al.* Improvement of water barrier properties of poly(ethylene-co-vinyl alcohol) films by hydrophobic plasma surface treatments. **Journal of Physical Chemistry C**, Washington, D. C., v. 116, n. 23, p. 12.599-12.612, Apr. 2012.

TERRIER, O. *et al.* Cold oxygen plasma technology efficiency against different airborne respiratory viruses. **Journal of Clinical Virology**, v. 45, n. 2, p. 119-124, May 2009.

THIRUMDAS, R.; SARANGAPANI, C.; ANNAPURE, U. S. Cold plasma: a novel non-thermal technology for food processing. **Food Biophysics**, v. 10, n. 1, p. 1-11, Nov. 2014.

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO. Laboratório de Análise de Resíduos. **Tecnologia de plasma**. Rio de Janeiro: LAR/Uerj, mar. 2011.

VENUGOPALAN, M.; VEPREK, S. Kinetics and catalysis in plasma chemistry. *In*: BOSCHKE, F. L. (ed.). **Topic in current chemistry: plasma chemistry IV**. New York: Springer-Verlag, 1983.

YUN, H. *et al.* Inactivation of *Listeria monocytogenes* inoculated on disposable plastic tray, aluminum foil, and paper cup by atmospheric pressure plasma. **Food Control**, v. 21, n. 8, p. 1.182-1.186, Aug. 2010.

ZIUZINA, D. *et al.* Cold plasma inactivation of internalised bacteria and biofilms for *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 210, p. 53-61, June 2015.

ZOU, J. J.; LIU, C. J.; ELIASSON, B. Modification of starch by glow discharge plasma. **Carbohydrate Polymers**, v. 55, n. 1, p. 23-26, Jan. 2004.

## Capítulo 5

---

# *Antocianinas: extração e quantificação por diferentes métodos*

Marina Carvalho Martins

Emília Maria França Lima

Pollyanna Ibrahim Silva

### **Introdução**

As antocianinas são pigmentos naturais encontrados facilmente na natureza e que conferem cores entre vermelho e azul a flores e frutos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; RODRIGUEZ-SAONA; WROLSTAD, 2001). Estão presentes em alimentos, como morango, uva, jabuticaba, vinho, cereja, jambolão, amora, maçã, figo, marmelo, repolho roxo, berinjela, laranja, romã (MALACRIDA; MOTTA, 2006), no fruto da palmeira-juçara (BORGES *et al.*, 2011), em hibiscos, no sabugueiro, no capim-gordura, na maria-pretinha (TEIXEIRA; STRINGHETA; OLIVEIRA, 2008), entre outros vegetais.

Tais pigmentos têm atraído muita atenção, pois, além do seu alto poder corante, possuem propriedades benéficas à saúde, por se tratarem de compostos fenólicos com elevada atividade antioxidante e estarem, por isso, relacionados à redução do risco de doenças cardiovasculares, câncer, entre outras alterações de

saúde (WANG; STONES, 2008). Sabe-se que os corantes sintéticos, apesar de serem mais estáveis, causam danos à saúde, como alergias, asma e hiperatividade em crianças (PRADO; GODOY, 2007). Assim, as antocianinas surgem como uma alternativa aos corantes sintéticos, de forma a fornecer alimentos mais saudáveis.

O primeiro passo para a obtenção do pigmento é o processo de extração, que pode ocorrer por diferentes métodos. A extração por métodos convencionais está associada a baixo rendimento, longo tempo de processo e utilização de grande volume de solvente. Assim, novas tecnologias vêm sendo estudadas com o objetivo de aprimorar a extração de antocianinas, como a utilização de micro-ondas, dióxido de carbono supercrítico, ultrassom (IVANOVIĆ *et al.*, 2014) e campo elétrico pulsado (YANG *et al.*, 2016), e são consideradas promissoras devido à simplicidade dos métodos, ao rendimento da extração e à maior eficiência quanto ao tempo e ao consumo de solvente (IVANOVIĆ *et al.* 2014).

No processo de extração de antocianinas, a fim de se otimizar o processo, também devem ser considerados parâmetros como tempo de extração, temperatura, tipo e concentração do solvente, razão solução:polpa, valor de pH e tipo e concentração do ácido utilizado.

A seguir, serão explorados mais detalhes acerca do uso de antocianinas, os métodos de extração e a quantificação.

## **1. Antocianinas**

A coloração de um produto tem grande influência na aceitação dos consumidores e, com isso, os corantes alimentícios são amplamente adicionados a produtos com a finalidade de restaurar a aparência original do alimento, tornar o produto mais atraente, fortificar as cores presentes e colorir os desprovidos de cor (CONSTANT, 2003).

Os corantes disponíveis para uso em alimentos se dividem em duas classes, os artificiais e os naturais. Conforme mencionado, os artificiais têm, a cada dia, seu uso restringido, pois é sabido que podem causar danos à saúde (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Dessa forma, os corantes naturais surgem como uma boa alternativa para a incorporação e a substituição de corantes sintéticos de tonalidades vermelha e rósea no alimento.

Dos corantes naturais mais utilizados nas indústrias de alimentos, destacam-se as antocianinas, que representam uma das maiores classes de substâncias coloridas do reino vegetal. Além do alto poder corante, as antocianinas, devido à sua estrutura fenólica, são capazes de conferir atividade antioxidante por meio da doação de elétrons dos átomos de hidrogênio (NOVELLO, 2011). Estudos sugerem que o consumo de alimentos com alta atividade antioxidante reduz o risco de algumas doenças, como o câncer (FERRARI; TORRES, 2002), doenças cardíacas (OLIVEIRA; COSTA; ROCHA, 2015) e acidente vascular cerebral (NOVELLO, 2011). Além disso, as antocianinas possuem ação anti-inflamatória (POULOSE *et al.*, 2012; OLIVEIRA; COSTA; ROCHA, 2015), antimicrobiana (MACIEL *et al.*, 2012; PINHO *et al.*, 2012) e antiviral (KAPADIA *et al.*, 1997). Na Tabela 1, apresentam-se diversas fontes antocianicas estudadas por diferentes autores.

**Tabela 1 – Teores de antocianinas em diferentes fontes**

Fontes	Teor de antocianinas	Autores
Morango	17,59 mg.100g <sup>-1</sup>	Copetti (2010)
Repolho roxo	61,44 mg.100g <sup>-1</sup>	Teixeira, Stringheta e Oliveira (2008)
Jambolão	112,2 mg.100g <sup>-1</sup>	Kuskoski e colaboradores (2006)
Açaí	32,32 mg.100g <sup>-1</sup>	Ribeiro, Mendes e Pereira (2011)
Juçara	197,56 mg.100g <sup>-1</sup>	Borges e colaboradores (2011)
Jabuticaba	48,06 mg.100g <sup>-1</sup>	Silva e colaboradores (2010)
Sabugueiro	221,45 mg.100g <sup>-1</sup>	Teixeira, Stringheta e Oliveira (2008)
Jambo	30,56 mg.100g <sup>-1</sup>	Augusta e colaboradores (2013)
Berinjela	56,75 mg.100g <sup>-1</sup>	Teixeira, Stringheta e Oliveira (2008)
Amora	41,8 mg.100g <sup>-1</sup>	Kuskoski e colaboradores (2006)
Hibiscos	229,75 mg.100g <sup>-1</sup>	Teixeira, Stringheta e Oliveira (2008)

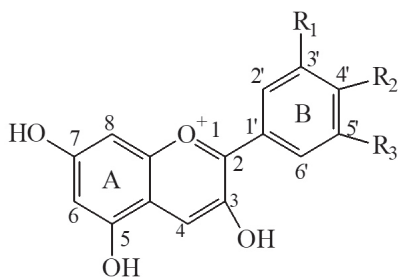
Fonte: Elaboração própria.

As antocianinas podem ser quimicamente definidas como glicosídeos de antocianidinas, e são poli-hidroxi e/ou polimetoxi derivadas do 2-fenilbenzopirilium, ou cátion flavilium (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). A molécula de antocianina é formada por duas ou três porções: aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, comumente, um grupo de ácidos orgânicos (SCHULTZ, 2008). De acordo com Damodaran, Parkin e Fennema (2010), existem diferentes formas antocianicas, e

esses compostos se distinguem por: número de grupos hidroxila e/ou grupos metoxi presentes; tipo, número e sítios de ligação de açúcares; tipo, número e sítios de ligação de ácidos alifáticos ou aromáticos ligados aos açúcares da molécula. Os açúcares mais comuns são glicose, galactose, arabinose, ramnose e xilose. E os ácidos que mais participam da acilação dos açúcares são: p-cumárico, cafeico, ferúlico, sinápico, malônico, acético, málico, succínio ou oxálico.

A seguir, a Figura 1 apresenta a estrutura geral das antocianidinas mais comuns e a Figura 2 mostra uma estrutura química de uma antocianina acilada.

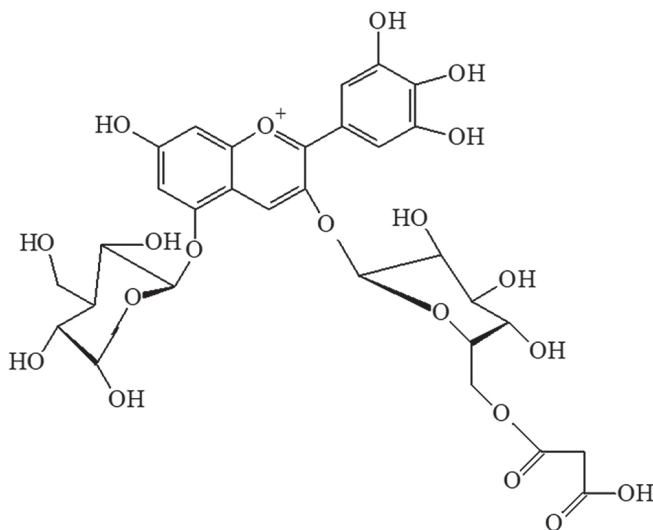
**Figura 1 – Estrutura geral das antocianidinas mais comuns**



<b>Antocianidinas</b>	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>
Cianidina	OH	OH	H
Delfinidina	OH	OH	OH
Pelargonidina	H	OH	H
Petunidina	OMe	OH	OH
Malvidina	OMe	OMe	OMe
Peonidina	OMe	OH	H

Fonte: Silva (2011).

**Figura 2 – Estrutura química da delphinidina-3-malonilglicosídeo-5-glicosídeo**



Fonte: Silva (2011).

As antocianinas são compostos altamente instáveis e muito suscetíveis a degradação (GIUSTI; WROLSTAD, 2003), e o estudo da estabilidade desses compostos é de suma importância devido a sua potencial aplicação, seus efeitos benéficos e sua substituição aos corantes sintéticos (REIN, 2005). Sabe-se que a estabilidade das antocianinas pode ser afetada por alguns fatores, como pH, temperatura, luz e oxigênio (WANG; HE; LI, 2010). No que tange ao pH, por exemplo, em pH 1 predomina o cátion flavilium (AH<sup>+</sup>), que contribui para cores roxas e vermelhas. Aumentando-se o pH para valores entre 2 e 4, prevalece a base quinoidal conferindo coloração azul. Em valores de pH entre 5 e 6, podem ser observadas duas espécies incolores, que são as pseudobases carbinol e chalcona. Já, em valores de pH acima de 7, as antocianinas frequentemente são degradadas (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009). A temperatura (ou calor) também pode degradar as antocianinas durante o processamento e armazenamento dos alimentos, porque, com o aumento da temperatura, ocorre a clivagem do anel heterocíclico da pseudobase com formação da chalcona (SUI; DONG; ZHOU, 2014). A luz é um fator que atua de duas maneiras sobre as antocianinas: favorecendo a sua biossíntese e acelerando sua degradação (LIMA; MÉLO;



LIMA, 2005). E o oxigênio afeta a estabilidade das antocianinas porque estas possuem estrutura insaturada, tornando-se suscetíveis ao oxigênio molecular (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

## 2. Extração de antocianinas

### 2.1. Extração convencional

O primeiro passo para a obtenção de antocianinas é a adequada extração. A eficiência desse processo depende de alguns fatores, como tipo e concentração do solvente, tipo de ácido utilizado para a redução do pH, razão solução:polpa (CONSTANT, 2003; BORGES *et al.*, 2011; VIEIRA *et al.*, 2013), temperatura, tempo de extração (POMPEU; SILVA; ROGÉZ, 2009; VIEIRA *et al.*, 2013) e pH (POMPEU; SILVA; ROGÉZ, 2009).

As antocianinas, por serem polares, podem ser extraídas empregando-se diversos solventes. Entre os mais comuns estão o metanol, o etanol, a acetona (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009), a água (BORGES *et al.*, 2011) e os compostos sulfurados (MEZARROBA, 2001). De acordo com Francis (1982), a solução metanólica acidificada é um dos solventes mais eficientes para obtenção do extrato antocianínico. No entanto, para fins alimentícios, o etanol deve ser preferido, devido à alta toxicidade do metanol. Na Tabela 2 são apresentados os teores de antocianinas extraídas de uma mesma matriz, o fruto da palmeira-juçara, também conhecido como juçaí, utilizando-se diferentes solventes.

**Tabela 2 – Teores de antocianinas do juçara (*Euterpe edulis* Martius) extraídas com diferentes solventes**

Solventes extratores	Teores de antocianinas	Autores
Etanol	113,87 mg.100 <sup>-1</sup>	Barros e colaboradores (2015)
Etanol	157,17 mg.100 <sup>-1</sup>	Martins (2016)
Etanol	136,12 mg.100 <sup>-1</sup>	Borges e colaboradores (2011)
Acetona	169,06 mg.100 <sup>-1</sup>	Martins (2016)
Metanol	178,37 mg.100 <sup>-1</sup>	Martins (2016)
Metanol	205,9 mg.100 <sup>-1</sup>	Borges e colaboradores (2011)
Água	143,98 mg.100 <sup>-1</sup>	Borges e colaboradores (2011)
Água	180,97 mg.100 <sup>-1</sup>	Martins (2016)

Fonte: Elaboração própria.

Aliado às diversas taxas de efetividade do poder extrator de diferentes solventes, o aumento da razão solução:polpa pode favorecer a extração de antocianinas, uma vez que proporciona a formação de maior gradiente de concentração, facilitando a extração do interior da matriz para o meio, até ocorrer a saturação do solvente.

A concentração do solvente também pode influenciar a extração de antocianinas; no entanto, nem sempre melhores extrações são realizadas com maiores concentrações de solvente. Por se tratar de um pigmento polar, a extração pode ser realizada utilizando-se água, e tem-se observado bons resultados de extração de antocianinas empregando combinações de solventes orgânicos e água em diversos estudos (ROCKENBACH *et al.*, 2008; BORGES *et al.*, 2011; MARTINS, 2016).

Os ácidos são adicionados nas soluções durante a extração com o objetivo de reduzir o valor do pH, pois se sabe que em meio ácido as antocianinas apresentam estabilidade e coloração vermelho-brilhante e que a intensidade da cor diminui com o aumento do pH (CONSTANT, 2003). Os mais utilizados nas extrações são o ácido cítrico e o ácido clorídrico (BORGES *et al.*, 2011).

De acordo com Malacrida e Motta (2006), a temperatura é um fator de grande relevância na extração, pois esse processo, quando realizado a quente, facilita a solubilização das antocianinas. No entanto, o aquecimento excessivo deve ser evitado, já que se trata de um pigmento termossensível.

O fator tempo também deve ser considerado durante a extração de antocianinas. Existem vários tempos de extração utilizados em diferentes estudos, como tempos curtos da ordem de dez minutos (GOLMOHAMADI *et al.*, 2013) e quinze minutos (BORGES *et al.*, 2011) e tempos longos da ordem de 24 horas (TEIXEIRA; STRINGHETA; OLIVEIRA, 2008). No entanto, de acordo com Martins (2016), o tempo de extração depende da matriz antociânica analisada; por exemplo, quando polpas de frutas são utilizadas, a extração é facilitada devido à natureza particulada das polpas, podendo ocorrer até de forma instantânea.

Além desses fatores, o método empregado no processo de extração de antocianinas deve ser considerado. O método convencional de extração de antocianinas se baseia apenas na utilização de solventes acidificados, que atuam na modificação das membranas celulares, ocasionando a solubilização do pigmento e sua extração por meio do gradiente de concentração da matriz para o meio (FULEKI; FRANCIS, 1968; RODRIGUEZ-SAONA; WROLSTAD, 2001). Embora seja uma técnica muito

utilizada, a extração convencional está associada a longos tempos, grandes quantidades de solventes e baixa eficiência (SHIRSATH; SONAWANE; GOGATE, 2012).

Dessa forma, diversas tecnologias são sugeridas a fim de permitir rápida extração de compostos fenólicos e antocianinas, como extração por micro-ondas (NAYAK *et al.*, 2014; GAROFULIĆ *et al.*, 2013), ultrassom (IVANOVIĆ *et al.*, 2014), com dióxido de carbono supercrítico (PAES *et al.*, 2014; IVANOVIĆ *et al.*, 2014) e por campo elétrico pulsado (PUÉRTOLAS *et al.*, 2013; YANG *et al.*, 2016).

## *2.2. Extração assistida por ultrassom*

As ondas ultrassônicas são ondas mecânicas capazes de se propagar em qualquer meio material com frequência superior a 16 kHz. Elas fazem parte de uma das três regiões principais em que se divide o espectro acústico: faixa dos infrassons (menores que 16 Hz), faixa dos sons (entre 16 Hz e 18 kHz) e faixa dos ultrassons (superiores a 18 kHz). A região de ultrassons ainda pode ser dividida em duas faixas: de baixa frequência (entre 16 kHz e 1 MHz) e de alta frequência (acima de 1 MHz) (SÃO JOSÉ, 2013).

Segundo Shirsath, Sonawane e Gogate (2012), a eficiência da extração empregando-se ultrassom tem sido atribuída à cavitação das ondas ultrassônicas. Esse fenômeno gera a formação de cavidades, para as quais os gases dissolvidos no sistema migram, desenvolvendo microbolhas que aumentam e diminuem de tamanho, provocando ciclos de expansão e compressão até o colapso das bolhas, que liberam grande quantidade de calor. Materiais sólidos no meio ocasionam implosão assimétrica das bolhas, originando jatos que colidem com partículas sólidas (SHIRSATH; SONAWANE; GOGATE, 2012). Tais colisões permitem o rompimento das células vegetais, colaborando para a difusão do solvente extrator para o interior da matriz (ADJÉ *et al.*, 2010).

Em alimentos, os sistemas de aplicação de ultrassom mais utilizados são banhos e sondas. Os banhos possuem transdutor unido à base ou às paredes do tanque, e a energia ultrassônica é cedida diretamente a um líquido, normalmente a água, que preenche o recipiente, transferindo essa energia ao alimento que está direta ou indiretamente imerso nesse líquido (ALVES *et al.*, 2013). Apesar de o ultrassom de banho apresentar menor custo, com o tempo ocorrem perda da intensidade da energia ultrassônica e distribuição de maneira não uniforme, o que interfere na repetibilidade e reprodutividade dos dados (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011).

No sistema de sondas, a energia ultrassônica é direcionada ao alimento por meio de uma haste metálica, sem necessidade de adição de um meio líquido entre o alimento e a sonda. Por isso, esse sistema possui a vantagem de transmitir energia ultrassônica em uma região mais discreta, favorecendo o processo de extração (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011).

### *2.3. Extração assistida por micro-ondas*

A extração de antocianinas utilizando o micro-ondas vem sendo estudada nos últimos anos por se tratar de uma tecnologia promissora, que se baseia na extração do pigmento por meio da energia das micro-ondas. Essa energia permite o aquecimento da solução de forma rápida e eficiente (YANG; ZHAI, 2010), provocando a ruptura celular e, conseqüentemente, facilitando o processo de extração. A migração dos íons dissolvidos favorece a penetração do solvente no interior da matriz, o que aumenta o rendimento da extração (WANG; WELLER, 2006).

Parâmetros como potência, temperatura e tempo de extração devem ser cuidadosamente apurados nesse processo. Em geral, altas temperaturas elevam a taxa de difusão do solvente na matriz, o que aumenta o rendimento. No entanto, também podem reduzir a seletividade da extração e, com isso, ocasionar a obtenção de compostos não desejáveis. Além disso, a alta temperatura e o longo tempo de extração podem acarretar a degradação térmica, que prejudica a obtenção do pigmento. Dessa forma, sabendo que os fatores tempo e temperatura estão associados à potência de micro-ondas, esta deve ser corretamente selecionada para que o processo de extração de antocianinas seja eficiente (CAMEL, 2000).

A extração assistida por micro-ondas apresenta vantagens em relação à técnica tradicional de extração, como redução do consumo de solvente, menor tempo de extração, elevadas recuperações, manipulação mínima de amostra durante o processo e boa reprodutibilidade (GAROFULIĆ *et al.*, 2013).

### *2.4. Extração com uso de campos elétricos pulsados*

O campo elétrico pulsado é uma tecnologia emergente que vem despertando grande interesse nas indústrias de alimentos por facilitar as operações de transferência de

massa (PUÉRTOLAS *et al.*, 2013). O processo consiste na aplicação de campos elétricos externos que levam à eletroporação da membrana celular, facilitando a difusão de solutos (YANG *et al.*, 2016). Essa permeabilização da membrana pode ser alcançada em campos elétricos moderados (<10 kV/cm) e baixa energias específicas (<10 kJ/kg) (PUÉRTOLAS *et al.*, 2013).

O campo elétrico pulsado permite a realização do processo a frio ou a temperaturas moderadas. Do mesmo modo, essa técnica possibilita eliminar ou minimizar a utilização de solventes como etanol, metanol e acetona, empregando apenas água (SARKIS, 2014).

### *2.5. Extração utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico*

A extração de antocianinas utilizando fluido supercrítico se baseia no uso de um componente puro conservado a pressão e temperatura acima do seu ponto crítico. O composto mais utilizado em processo de extração supercrítica na indústria alimentícia é o dióxido de carbono, por se tratar de um composto não inflamável, não corrosivo, inerte, de baixo custo e alto grau de pureza (BRUNNER, 2005).

Quando comparada à extração convencional, a utilização do fluido supercrítico apresenta diversas vantagens, como facilidade de remoção do solvente por meio da redução da temperatura e/ou pressão, menor gasto energético, facilidade de extração devido à alta difusividade e capacidade de solvatação (VASCONCELLOS, 2007).

Além disso, a extração com fluido supercrítico necessita de pouco ou nenhum solvente, e com isso esse método pode ser considerado uma tecnologia ecologicamente adequada, já que o dióxido de carbono é recirculado no sistema (VASCONCELLOS, 2007).

Na Tabela 3 estão apresentados os diferentes métodos emergentes na extração de antocianinas, seus resultados e as vantagens apresentadas em relação ao método convencional.

**Tabela 3 – Métodos, resultados e vantagens das tecnologias emergentes na extração de antocianinas em diferentes fontes**

Fonte de antocianina	Método	Resultado	Vantagens	Autores
Batata-doce roxa ( <i>Solanum tuberosum</i> )	Campo elétrico pulsado	Extração eficiente com água e etanol quando aplicado o campo elétrico pulsado	Solvente água; baixo custo energético; redução do uso de solventes orgânicos	Puértolas e colaboradores (2013)
Folhas de <i>Arrabidaea chica</i>	Extração sequencial com três etapas: CO <sub>2</sub> supercrítico, etanol acidificado, água acidificada	Obtenção de extratos diferentes em termos de composição fenólica, em cada etapa	Elevado rendimento de extração; obtenção de extratos com os principais compostos de interesse	Paula e colaboradores (2014)
Mirtilo ( <i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	CO <sub>2</sub> supercrítico e líquidos pressurizados	Maiores teores de antocianina obtidos com água acidificada Melhor condição para extração dos compostos funcionais: fluido supercrítico com 90 % de CO <sub>2</sub> + 5 % de água e 5 % de etanol	Curto tempo de extração (10 min); redução do uso de solventes orgânicos	Paes e colaboradores (2014)
Espiga de milho-roxo ( <i>Zea mays</i> L.)	Extração assistida por micro-ondas	Maior teor de antocianinas obtido com 19 min, razão solução:polpa 01:20, e potência do micro-ondas de 555 W	Altamente eficiente e rápida na extração de antocianinas, em comparação com a extração convencional	Yang e Zhai (2010)
Cascas de uva “Tintilla de Rota”	Extração assistida por micro-ondas	Melhor extração de antocianinas a partir de 5 min, temperatura de 100 °C e 40 % de metanol em água como solvente Variável mais importante: solvente	Baixo tempo de extração (5 min); possibilita tratamento simultâneo de várias amostras; boa reprodutibilidade e repetibilidade do método	Liaizid e colaboradores (2011)
Mirtilo	Extração assistida por micro-ondas	Condições ótimas para extração: 7 min, 47 °C, etanol 55,5 % e razão solução:polpa 01:34 (g/ml) Fatores que mais influenciaram o teor de antocianinas: razão > concentração do etanol > temperatura > tempo	Redução do tempo de extração e do uso de solventes orgânicos	Zheng e colaboradores (2013)
Cereja ( <i>Prunus cerasus</i> var. Marasca)	Extração assistida por micro-ondas	Baixas temperaturas (60 °C) e baixo tempo Maior extração de antocianinas a 60 °C e tempo de 6-9 min. Maior rendimento de fenólicos com 70 °C e tempo de irradiação mais longo 10 min	Maior eficiência e menor tempo de extração em relação ao método tradicional	Garofulić e colaboradores (2013)

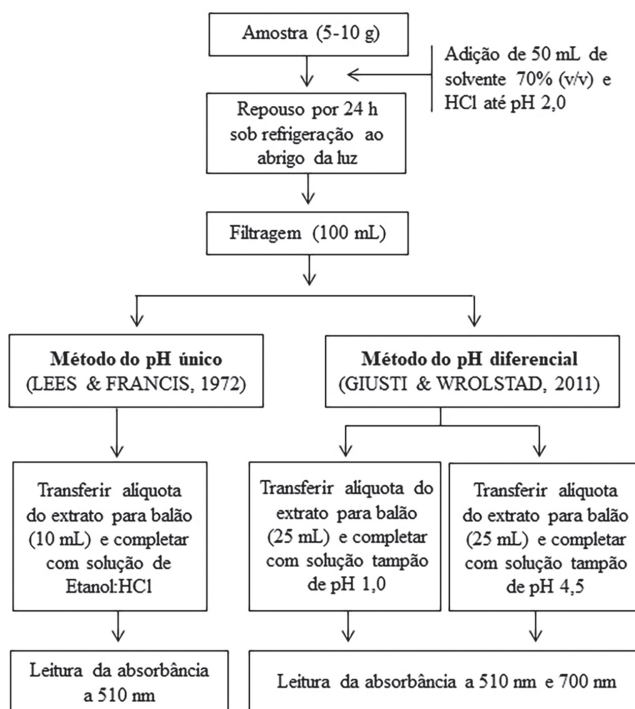
Fonte: Elaboração própria.

### 3. Quantificação de antocianinas

Da extração de antocianinas, obtém-se o extrato, constituído pelo pigmento e pelo solvente acidificado. A partir desse extrato, é realizada a quantificação do pigmento, que pode ocorrer por diferentes métodos, sendo os métodos espectrofotométricos de pH único e pH diferencial os mais utilizados. Outras técnicas também podem ser utilizadas, como a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (Clae-DAD) e acoplada a espectrômetros de massa (EM).

A quantificação das antocianinas pelo método do pH diferencial consiste na leitura direta em espectrofotômetro, no comprimento de onda de máxima absorção da antocianina predominante, do extrato diluído em tampão de pH 1 e pH 4,5, fundamentada na sensibilidade do pigmento ao pH (FULEKI; FRANCIS, 1968). Já o método do pH único é mais simples, sendo realizada apenas uma leitura (em comprimento de onda de máxima absorção da antocianina) em espectrofotômetro do extrato diluído em etanol:HCl (LEES; FRANCIS, 1972). A Figura 3 apresenta o processo de quantificação de antocianinas pelos métodos de pH único e pH diferencial.

**Figura 3 – Fluxograma do processo de quantificação de antocianinas pelos métodos do pH único e diferencial**



Fonte: Elaboração própria.

É comum se observarem divergências no teor de antocianinas de uma mesma fonte quando quantificadas por diferentes metodologias. Isso pode ocorrer devido às características próprias que distinguem cada metodologia, ao número diverso de passos a serem seguidos e a fontes de erros ligadas a cada um dos métodos, o que contribui para uma maior variabilidade dos dados. Em geral, recomenda-se a utilização da quantificação de antocianinas pelo método do pH diferencial, baseada nas transformações estruturais que ocorrem nas antocianinas com a mudança do pH (pH 1 – formas coloridas; pH 4,5 – formas incolores). Nesse método, antocianinas poliméricas em sua forma degradada são resistentes à mudança de cor com a alteração no pH. Com isso, no cálculo final, consegue-se eliminar a interferência das antocianinas poliméricas (LEE; DURST; WROLSTAD, 2005; TEIXEIRA; STRINGHETA; OLIVEIRA, 2008). No entanto, alguns autores, ao avaliarem os diferentes métodos



para uma mesma fonte antociânica, recomendam a utilização do pH único pela maior simplicidade (MARTINS, 2016; TEIXEIRA; STRINGHETA; OLIVEIRA, 2008).

### **Considerações finais**

Na natureza, encontram-se diversas fontes de antocianinas, e sua extração pode ser facilitada modulando-se parâmetros, como tempo, temperatura, tipo e concentração de solvente, tipo e concentração de ácido e razão solução:polpa.

Para a extração, podem ser empregadas diversas metodologias, desde a tradicional, que utiliza apenas solventes, até novas tecnologias, como micro-ondas, campo elétrico pulsado, ultrassom e fluido supercrítico, técnicas que têm apresentado grandes vantagens em relação à extração convencional. No entanto, por se tratarem de tecnologias emergentes, novos estudos devem ser realizados a fim de se obterem maiores informações sobre tais métodos.

Por conseguinte, métodos e parâmetros do processo de extração de antocianinas devem ser criteriosamente selecionados, de modo que haja uma extração mais eficiente e com menor custo, o que impactará diretamente na qualidade do pigmento a ser incorporado com função de corante em um alimento processado.

### **Referências**

ADJÉ, F. *et al.* Optimization of anthocyanin, flavonol and phenolic acid extractions from *Delonix regia* tree flowers using ultrasound-assisted water extraction. **Industrial Crops and Products**, v. 32, n. 3, p. 439-444, Nov. 2010.

ALVES, L. L. *et al.* O ultrassom no amaciamento de carnes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 8, p. 1.522-1.528, ago. 2013.

AUGUSTA, I. M. *et al.* Teor de antocianinas totais e atividade antioxidante da flor de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*). **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 27, n. 218-219, p. 1.631-1.634, mar./abr. 2013. Encarte.

BARROS, E. C. M. *et al.* Efeitos da pasteurização sobre características físico-químicas, microbiológicas e teor de antocianinas da polpa de juçai (*Euterpe edulis* Martius). **Revista Eletrônica Teccen**, Vassouras, v. 8, n. 1, p. 21-26, jan./jun. 2015.

BORGES, S. C. G. *et al.* Optimization of the extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of *Euterpe edulis* using the response surface methodology. **Food Research International**, v. 44, n. 3, p. 708-715, Apr. 2011.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application of food processing. **Journal of Food Engineering**, v. 67, n. 1-2, p. 21-33, Mar. 2005.

CAMEL, V. Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. **Analytical Chemistry**, Washington, D. C., v. 19, n. 2, p. 229-248, Apr. 2000.

CASTAÑEDA-OVANDO, A. *et al.* Chemical studies of anthocyanins: a review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859-871, Apr. 2009.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA, M.; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in foods technology: processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813-835, July 2011.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açai (*Euterpe oleracea*, M.)**. 2003. 183 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

COPETTI, C. **Atividade antioxidante *in vitro* e compostos fenólicos em morangos (*Fragaria x ananassa* Duch)**: influência da cultivar, sistema de cultivo e período de colheita. 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

DAMODARAN, S.; PARKIN, L.; FENNEMA, O. R. (org.). **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

FERRARI, C. K. B.; TORRES, E. A. F. S. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 48, n. 3, p. 375-382, 2002.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins in foods. *In*: MARKAKIS, P. (ed.). **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 181-207.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 33, n. 1, p. 78-83, Jan. 1968.

GAROFULIĆ, I. E. *et al.* The effect of microwave assisted extraction on the isolation of anthocyanins and phenolic acids from sour cherry Marasca (*Prunus cerasus* var. Marasca). **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 437-442, Aug. 2013.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**, v. 14, n. 3, p. 217-225, June 2003.

GOLMOHAMADI, A. *et al.* Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1.316-1.323, Sept. 2013.

IVANOVIĆ, J. *et al.* Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar "Čačanska Bestrna". **Industrial Crops and Products**, v. 53, p. 274-281, Feb. 2014.

KAPADIA, G. J. *et al.* Inhibition of 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced Epstein-Barr virus early antigen activation by natural colorants. **Cancer Letters**, v. 115, n. 2, p. 173-178, May 1997.

KUSKOSKI, E. M. *et al.* Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1.283-1.287, jul. 2006.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. **Journal of Aoac International**, Rockville, v. 88, n. 5, p. 1.269-1.278, Sept./Oct. 2005.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analysis in cranberries. **HortScience**, Alexandria, v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.

LIAZID, A. *et al.* Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins. **Food Chemistry**, v. 124, n. 3, p. 1.238-1.243, Feb. 2011.

LIMA, V. L. A. G. de; MÉLO, E. de A.; LIMA, D. E. da S. Efeito da luz e da temperatura de congelamento sobre a estabilidade das antocianinas da pitanga roxa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 92-94, jan./mar. 2005.

MACIEL, M. J. *et al.* Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) como fator de proteção antibacteriana e antioxidante. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 71, n. 3, p. 462-470, 2012.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. D. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 59-82, jan./jun. 2006.

MARTINS, M. C. **Estudo de parâmetros de extração de polifenóis e antocianinas de jussara (*Euterpe edulis Martius*)**. 2016. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2016.

MEZAROBA, M. E. de P. C. **Extração de antocianina de casca de uva isabel**. 2001. 91 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2001.

NAYAK, B. *et al.* Comparison of microwave, ultrasound and accelerated-assisted solvent extraction for recovery of polyphenols from *Citrus sinensis* peels. **Food Chemistry**, v. 187, p. 507-516, Nov. 2015.

NOVELLO, A. A. **Extração de antocianinas dos frutos do açaí da Mata Atlântica (*Euterpe edulis Martius*) e sua atuação nas atividades antioxidante e antiaterogênica em camundongos ApoE -/-**. 2011. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) – Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

OLIVEIRA, A. G.; COSTA, M. C. D.; ROCHA, S. M. B. M. Benefícios funcionais do açaí na prevenção de doenças cardiovasculares. **Journal of Amazon Health Science**, Rio Branco, v. 1, n. 1, p. 1-10, 2015.

OLIVEIRA, A. P. da S. *et al.* Consumo de corantes artificiais em balas e chicletes por crianças de seis a nove anos. **Revista Analytica**, Sao Paulo, v. 8, n. 44, p. 79-85, dez. 2009/jan. 2010.

PAES, J. *et al.* Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) residues using supercritical CO<sub>2</sub> and pressurized liquids. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 25, p. 8-16, Nov. 2014.

PAULA, J. T. *et al.* Extraction of anthocyanins and luteolin from *Arrabidaea chica* by sequential extraction in fixed bed using supercritical CO<sub>2</sub>, ethanol and water as solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 86, p. 100-107, Feb. 2014.

PINHO, L. de *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 2, p. 326-331, Feb. 2012.

POMPEU, D. R.; SILVA, E. M.; ROGEZ, H. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 6.076-6.082, Aug. 2009.

POULOSE, S. M. *et al.* Anthocyanin-rich açai (*Euterpe oleracea* Mart.) fruit pulp fractions attenuate inflammatory stress signaling in mouse brain BV-2 microglial cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D. C., v. 60, n. 4, p. 1084-1093, Feb. 2012.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 268-273, 2007.

PUÉRTOLAS, E. *et al.* Pulsed-electric-field-assisted extraction of anthocyanins from purple-fleshed potato. **Food Chemistry**, v. 136, n. 3-4, p. 1.330-1.336, Feb. 2013.

REIN, M. **Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins.** 2005. 87 f. Dissertation (Master of Food Sciences) – Faculty of Agriculture and Forestry, University of Helsinki, Helsinki, 2005.

RIBEIRO, L. de O.; MENDES, M. F.; PEREIRA, C. de S. S. Avaliação da composição centesimal, mineral e teor de antocianinas da polpa de juçará (*Euterpe edulis* Martius). **Revista Eletrônica Teccen**, Vassouras, v. 4, n. 2, p. 5-16, set./dez. 2011.

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

RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; WROLSTAD, R. E. Extraction, isolation, and purification of anthocyanins. **Current Protocols in Foods Analytical Chemistry**, v. 00, n. 1, p. F1.1.1-F1.1.11, Apr. 2001.

SÃO JOSÉ, J. F. B. de. **Caracterização físico-química e microbiológica de tomate cereja (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*) minimamente processado submetido a diferentes tratamentos de sanitização.** 2013. 141 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

SARKIS, J. R. **Extração de compostos bioativos de tortas de nozes e sementes e aplicação de tecnologias elétricas no gergelim.** 2014. 227 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

SCHULTZ, J. **Compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante de açais de *Euterpe edulis* Martius e *Euterpe oleracea* Martius submetidos a tratamentos para sua conservação.** 2008. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations – a review of current status. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 53, p. 10-23, Mar. 2012.

SILVA, G. J. F. *et al.* Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jabuticaba (*Myrciaria* ssp.). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 3, p. 429-436, jul./set. 2010.

SILVA, P. I. **Otimização da extração e microencapsulamento de polifenóis e antocianinas de jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*).** 2011. 159 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

SUI, X.; DONG, X.; ZHOU, W. Combined effect of pH and high temperature on the stability and antioxidant capacity of two anthocyanins in aqueous solution. **Food Chemistry**, v. 163, p. 163-170, Nov. 2014.

TEIXEIRA, N. L.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 55, n. 4, p. 297-304, 2008.

VASCONCELOS, C. M. C. **Extração supercrítica dos óleos voláteis de *Achyrocline satureioides* (Macela) e *Vetiveria zizanioides* (Vetiver):** determinação da cinética de extração e estimativa de custos de manufaturas. 2007. 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Campinas, Campinas, 2007.

VIEIRA, G. S. *et al.* Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*). **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 2, p. 196-204, Nov. 2013.

WANG, B. C.; HE, R.; LI, Z. M. The stability and antioxidant activity of anthocyanins from blueberry. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 48, n. 1, p. 42-49, Jan. 2010.

WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 6, p. 300-312, June 2006.

WANG, W. D.; STONES, G. D. Mini review – anthocyanins and their role in cancer prevention. **Cancer Letters**, v. 269, n. 2, p. 281-290, Oct. 2008.

YANG, N. *et al.* Pulsed electric field technology in the manufacturing processes of wine, beer, and rice wine: a review. **Food Control**, v. 61, p. 28-38, Mar. 2016.

YANG, Z.; ZHAI, W. Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob and identification with HPLC-MS. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 3, p. 470-476, July 2010.

ZHENG, X. *et al.* Extraction characteristics and optimal parameters of anthocyanin from blueberry powder under microwave-assisted extraction conditions. **Separation and Purification Technology**, v. 104, p. 17-25, Feb. 2013.



## Capítulo 6

---

# *Microencapsulamento de pigmentos naturais*

Emília Maria França Lima  
Marina Carvalho Martins  
Pollyanna Ibrahim Silva

### **Introdução**

A cor é um atributo sensorial que exerce grande influência na aceitação de um produto. E é para despertar o interesse dos consumidores que o setor alimentício utiliza corantes, naturais ou artificiais (CONSTANT, 2003; KAIMAINEN *et al.*, 2015). Todavia, pesquisas recentes demonstram a correlação entre consumo de corantes artificiais e danos à saúde, como reações tóxicas no metabolismo desencadeantes de alergias, alterações no comportamento, dificuldade respiratória e carcinogenicidade (observada a longo prazo) (DOSSIÊ..., 2009; KAIMAINEN *et al.*, 2015; POLÔNIO; PERES, 2009; ROCHA, 2013).

Nesse contexto, existe um crescente interesse no desenvolvimento de produtos alimentícios com corantes naturais, como substituição aos corantes sintéticos. No entanto, de forma geral, eles apresentam instabilidade a alguns fatores e processos tecnológicos, o que dificulta sua utilização em larga escala (BARROS; STRINGHETA, 2006; MAHDAVI *et al.*, 2014). Uma das alternativas que aumenta a estabilidade de pigmentos naturais durante o processamento e a estocagem,

viabilizando sua utilização, é a microencapsulação, ou microencapsulamento, técnica que será tema deste capítulo.

## **1. Pigmentos naturais**

Os pigmentos naturais são provenientes de diversas substâncias e processos, como compostos fenólicos e produtos de sua oxidação; resultado de reações enzimáticas ou não enzimáticas (por exemplo, a reação de Maillard); derivados de porfirinas, como grupo heme e clorofila, entre outros (ARAÚJO, 2015). Estão relacionados com importantes atividades biológicas, propriedades antioxidantes, proteção contra componentes celulares, efeitos anti-inflamatórios, anticarcinogênicos, prevenção de doenças crônicas não transmissíveis, alegações de propriedades funcionais, presença de compostos bioativos, para citar alguns exemplos (OLIVEIRA *et al.*, 2011; VOLP; RENHE; STRINGHETA, 2009).

Na Tabela 1 serão apresentados os principais pigmentos encontrados na natureza, a coloração, as fontes e as principais características deles, bem como dados sobre estabilidade.

**Tabela 1 – Principais pigmentos naturais: fonte, características e estabilidade**

Pigmento	Coloração	Fontes	Características e estabilidade
Clorofila	Verde	Cloroplastos de plantas, vegetais de folhas verdes	Degradação pela enzima clorofilase, sensível a luz, calor, oxigênio
$\beta$ -caroteno	Amarelo a laranja	Cenoura, laranja, pêssego, pimenta.	Carotenoide de ocorrência mais comum, oxida facilmente devido às ligações duplas conjugadas
Licopeno	Laranja a vermelho	Tomate, goiaba, melancia, mamão	Classe dos carotenoides; lipossolúvel, extração com solventes orgânicos
Bixina e norbixina	Amarelo a vermelho	Urucum	Classe dos carotenoides; lipossolúvel, boa estabilidade, sensível a pH ácido, estabilidade térmica < 100 °C
Capsantina	Laranja a vermelho	Pimentão vermelho	Classe dos carotenoides; sensível ao oxigênio e à luz; oxidação de lipídeos altera a cor para castanho
Luteína	Amarelo a laranja	<i>Tagetes erecta</i> L., calêndula, vegetais folhosos verde-escuros	Classe dos carotenoides, ainda estudado para aumento da estabilidade oxidativa e aplicação em alimentos
Carmim (ácido carmínico)	Vermelho	Inseto cochonilha ( <i>Dactylopius coccus</i> )	Hidrossolúvel; estável ao calor, à luz e em pH > 3,5
Curcumina	Amarelo	Rizomas de cúrcuma ( <i>Curcuma longa</i> )	Lipossolúvel; estabilidade térmica e em pH até atingir alcalinidade, altamente sensível quando solubilizado
Betalaínas	Vermelho a roxo (betacianinas) e amarelo (betaxantinas)	Beterraba e amaranto	Hidrossolúvel; maior estabilidade em pH 4-6, sensível ao calor e ao oxigênio, oxidação acelerada pela luz
Antocianinas	Vermelho a azul	Açaí, casca de jabuticaba, uva, casca de berinjela, amora, repolho roxo	Corante predominante do grupo dos flavonoides; estável em pH ácido, sensível a luz, calor, oxigênio e enzimas
Pigmento de <i>Monascus purpureus</i>	Vermelho	Arroz chinês fermentado por <i>M. purpureus</i>	Monacolina k contribui para a manutenção dos níveis normais de colesterol no sangue
Compostos heme (oximioglobina, mioglobina, metamioglobina)	Vermelho a marrom	Carnes frescas	Manutenção da cor depende de exposição a luz, temperatura, umidade, pH e presença de bactérias
Caramelo	Amarelo a marrom	Tratamento térmico controlado de carboidratos	Produzido em quatro classes com alta estabilidade, é utilizado em uma infinidade de produtos alimentícios

Fonte: Adaptado de Araújo (2015), Damodaran, Parkin e Fennema (2010), “Dossiê corantes” (2009) e Volp, Renhe e Stringheta (2009).

Os corantes naturais são utilizados há anos sem evidências de danos à saúde, e sua incorporação em produtos alimentícios como forma de substituição aos corantes sintéticos tem ocorrido de forma gradativa, à medida que os estudos vão demonstrando suas particularidades, características, viabilidade de utilização e propriedades benéficas (DOSSIÊ, 2009). O principal fator que dificulta ou impede a sua utilização é a instabilidade a fatores intrínsecos e extrínsecos ao alimento. Conforme exposto na Tabela 1, observa-se que, dependendo do pigmento, a estabilidade é afetada, por exemplo, pela presença de luz, oxigênio, enzimas, íons metálicos, açúcares, entre outros (BAKOWSKA-BARCZAK; KOLODZIEJCZYK, 2011; MAHDAVI *et al.*, 2014; ROBERT; FREDES, 2015). Por isso, a utilização de pigmentos naturais requer conhecimento acerca da estrutura química e da estabilidade deles, para adaptá-los às condições de processamento, embalagem e distribuição.

Nesse contexto, algumas técnicas devem ser utilizadas para viabilizar a utilização de corantes naturais. É o caso do microencapsulamento, técnica capaz de aumentar a estabilidade de pigmentos naturais durante o processamento e a estocagem, aumentando a sua vida útil (FÁVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008; SILVA *et al.*, 2014), e cujo detalhamento se dará nas partes que seguem.

## **2. Microencapsulamento**

O microencapsulamento é um processo de empacotamento de substâncias sólidas, líquidas ou gasosas em cápsulas extremamente pequenas, as quais podem liberar o conteúdo de forma controlada e sob condições específicas (PELLISSARI *et al.*, 2016). Surge como uma alternativa para amenizar as modificações sofridas pelos corantes naturais ao longo do tempo, ao preservar a sua atividade antioxidante e promover maior estabilidade a fatores como calor, pH, incidência de luz, presença de oxigênio, enzimas, metais, açúcares, entre outros (BARROS; STRINGHETA, 2006; MAHDAVI *et al.*, 2014; RUTZ, 2013; SILVA *et al.*, 2014; ZAIDEL *et al.*, 2014).

O êxito no emprego dessa tecnologia deve-se a uma correta escolha da técnica de microencapsulamento, do material encapsulante, das temperaturas utilizadas e dos demais parâmetros do processo, conforme o método escolhido. Com esse objetivo, pesquisadores vêm estudando técnicas de microencapsulamento de pigmentos extraídos de diferentes fontes. Na Tabela 2, pode-se observar dados de pesquisas analisadas para este capítulo.

**Tabela 2 – Estudos envolvendo o microencapsulamento de pigmentos naturais**

<b>Matéria-prima</b>	<b>Pigmento majoritário</b>	<b>Método</b>	<b>Agentes encapsulantes</b>	<b>Referência</b>
Pitanga roxa ( <i>Eugenia uniflora</i> L.)	Licopeno	Liofilização	Gomas arábica, xantana e tara, hidrogel de gomas, quitosana	Rutz (2013)
Groselha preta ( <i>Ribes nigrum</i> L.)	Antocianinas	<i>Spray dryer</i>	Maltodextrina e inulina	Bakowska-Barczak; Kolodziejczyk (2011)
Casca de jabuticaba ( <i>Myrciaria jaboticaba</i> )	Antocianinas	<i>Spray dryer</i>	Maltodextrina, goma-arábica, amido modificado	Silva e colaboradores (2013)
Pera de cacto ( <i>Opuntia ficus-indica</i> )	Betalainas	<i>Spray dryer</i>	Maltodextrina e inulina	Silva e colaboradores (2013)
Urucum ( <i>Bixa orellana</i> L.)	Bixina	<i>Spray dryer</i>	Goma-arábica, sacarose e maltodextrina	Saénz e colaboradores (2009)
Hibisco ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) e repolho roxo ( <i>Brassica oleracea</i> )	Antocianinas	Técnica assistida por microondas	Maltodextrina	Barbosa (2009)
Extrato de licopeno	Licopeno	<i>Spray chilling</i>	Goma-arábica, CMC, óleos de semente de algodão, palma e soja	Zaidel e colaboradores (2014)
Extrato de $\beta$ -caroteno	$\beta$ -caroteno	<i>Spray dryer</i> e leite fluidizado	Caseinato de sódio, maltodextrina e celulose	Pelissari e colaboradores (2016)
Amora-preta	Antocianinas	<i>Spray dryer</i> , coacervação e liofilização	Goma-arábica e gelatina	Coronel-Aguilera e San Martín-González (2015)
Padrão de urucum	Urucum	Impregnação, coacervação, modificação química	Microesferas de quitosana	Parize, Souza e Brighente (2008)

Fonte: Elaboração própria.

A confirmação do microencapsulamento pode ser obtida pela caracterização da microcápsula. As principais propriedades e técnicas utilizadas para esse propósito estão descritas na Tabela 3.

**Tabela 3 – Propriedades e técnicas utilizadas para caracterização da microcápsula**

<b>Propriedades e características</b>	<b>Técnicas e análises</b>
Estrutura geral, externa e interna	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)
Estrutura cristalina ou amorfa	Difração de raios-X
Tamanho e distribuição das partículas	Microscopia eletrônica e softwares de analisador de tamanho de partículas
Composição da parede e do recheio	Calorimetria diferencial de varredura (DSC), cromatografia e espectroscopia
Propriedades físicas	Compressão estática, resistência ao cisalhamento, granulometria
Comportamento de liberação	Mudanças de peso, cromatografia, espectroscopia
Estabilidade do pigmento	Espectroscopia, cromatografia

Fonte: Adaptado de Fávoro-Trindade, Pinho e Rocha (2008), Landim (2008) e Rutz (2013).

### *2.1. Classificação das microcápsulas*

As cápsulas podem ser classificadas quanto ao tamanho da seguinte forma: macrocápsulas apresentam tamanhos superiores a 5000  $\mu\text{m}$ ; microcápsulas, tamanhos de 0,2 a 5000  $\mu\text{m}$ ; e nanocápsulas, tamanho inferior a 0,2  $\mu\text{m}$  (BARROS; STRINGHETA, 2006). Quanto à forma, as cápsulas são idealmente lisas e esféricas, embora seu formato e aspecto sejam influenciados pelo componente microencapsulado, pelo material de parede e pelo método de microencapsulação. Quanto à estrutura física, podem ser divididas em dois grupos: microcápsulas e microesferas. Nas microcápsulas, que são as mais comuns, o núcleo é nitidamente concentrado na região central, envolvido por uma camada formando um sistema do tipo reservatório. A substância microencapsulada é chamada de núcleo ou fase interna, enquanto a fase externa é a parede ou revestimento.

As microesferas constituem um sistema matricial, no qual o núcleo é uniformemente disperso na matriz encapsulante. A substância a ser microencapsulada pode estar adsorvida, incorporada ou ligada à matriz polimérica, formando sistemas de dissolução, de dispersão ou sistemas porosos (BRASILEIRO, 2011; FÁVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

## 2.2. Métodos de microencapsulamento

O princípio básico do microencapsulamento é a deposição de um agente encapsulante sobre o material ativo, seguindo uma série de etapas. Os métodos diferenciam-se pelo tipo de envolvimento do material ativo pelo agente encapsulante, visto que esta combinação pode ser de natureza física, química ou físico-química (CALEFFI, 2014; LANDIM, 2008; OLIVEIRA, 2014):

- métodos físicos: *spray drying*, *spray chilling*, cocristalização, liofilização, leite fluidizado e pulverização em banho térmico;
- métodos químicos: modificação química, inclusão molecular, polimerização interfacial, gelificação;
- métodos físico-químicos: coacervação simples e complexa, separação de fase orgânica, lipossomas, emulsificação seguida de evaporação do solvente, pulverização em agente formador de reticulação.

A eficiência dos métodos de microencapsulamento é influenciada por vários fatores, comuns e particulares. Por conseguinte, a seleção do método a ser utilizado deve considerar diversos aspectos, como as propriedades físico-químicas dos materiais (como a solubilidade), a intenção e a aplicação da micropartícula, as escalas e os custos de produção, a textura e a forma desejadas e o mecanismo de liberação do núcleo.

Algumas das limitações relatadas sobre o microencapsulamento são os custos elevados do investimento inicial e do processamento, bem como a falta de disponibilidade de determinados materiais encapsulantes (BRASILEIRO, 2011; OLIVEIRA, 2014).

A seguir, apresentam-se as características e o funcionamento dos principais métodos de microencapsulamento de pigmentos naturais.

### 2.2.1. *Spray dryer*

A secagem por atomização, pulverização ou *spray dryer* é o método mais comum e econômico de encapsulação de ingredientes alimentícios (MAHDAVI *et al.*, 2014). A aplicação desse processo para pigmentos naturais pode resultar em um produto rico nutricionalmente, ao preservar os compostos bioativos durante o processamento e o armazenamento (TONON; BRABET; HUBINGER, 2010).

O processo consiste basicamente na emulsificação do material ativo com uma solução e no posterior bombeamento da mistura através de um bico atomizador a uma câmara com corrente de ar a alta temperatura. A água se evapora rapidamente ao entrar em contato com o ar aquecido e as partículas tomam forma esférica, “empacotando” o composto bioativo. O pó se direciona para a parte inferior da câmara e passa por um ciclone, no qual então serão coletados os pós finos. O tempo de exposição das partículas ao calor é muito curto, tornando possível a conservação de compostos termossensíveis (ABREU; FERREIRA, 2013; LANDIM, 2008; MAHDAVI *et al.*, 2014).

As características finais do pó dependem de algumas variáveis do processo, tais como particularidades do líquido atomizado, temperatura do ar de secagem, vazão de alimentação e fluxo de ar, além da correta escolha do material encapsulante, fator determinante para a estabilidade da microcápsula e a eficiência do microencapsulamento (OLIVEIRA; PETROVICK, 2009; TONON; BRABET; HUBINGER, 2009). A secagem de amostras com alto conteúdo de açúcares pode acarretar a obtenção de produtos com alta pegajosidade e higroscopicidade, o que diminui o rendimento do processo. Dessa forma, a utilização de agentes com alto peso molecular (como polímeros e gomas) é recomendada, visando facilitar o processo de secagem e as operações de transporte e armazenamento (FERRARI; RIBEIRO; AGUIRRE, 2012).

As principais vantagens do microencapsulamento por *spray dryer* são a secagem rápida, a produção contínua em larga escala, os baixos custos de mão de obra e a operação relativamente simples. Já as principais limitações são o elevado investimento inicial e a necessidade de um material com umidade alta o suficiente para garantir o bombeamento até o atomizador (FELLOWS, 2006).

### 2.2.2. *Leito fluidizado*

O microencapsulamento por leito fluidizado é um processo de revestimento de partículas por meio da pulverização de um agente encapsulante sobre um leito. A cápsula formada sobre a superfície do material ativo confere uma barreira a interações ambientais e químicas que poderiam afetar a estabilidade do material (CORONEL-AGUILERA; SAN MARTÍN-GONZÁLEZ, 2015).

O processo baseia-se na distribuição de ar quente através de uma bandeja de tela que contém o alimento particulado, fazendo com que este fique suspenso no ar



e seja vigorosamente agitado, expondo a máxima área superficial para secagem. O leito de partículas torna-se semelhante a um líquido em ebulição – por isso o termo fluidização. Enquanto as partículas do núcleo são suspensas, o material da parede é atomizado para dentro da câmara, aderindo-se sobre as partículas do núcleo por evaporação do solvente ou por arrefecimento da partícula encapsulada. Quando as partículas atingem o topo da coluna ascendente, são lançadas em uma coluna descendente de ar, retornando para o leito fluidizado, sendo novamente revestidas e secas. As sucessivas passagens por esse ciclo de revestimento asseguram a maior uniformidade da parede, sendo obtidas, assim, verdadeiras microcápsulas (AZE-REDO, 2005; FELLOWS, 2006).

O processo é indicado para produtos alimentícios pequenos e particulados, capazes de serem fluidizados sem muitos danos mecânicos. Algumas variáveis, como temperatura do ar, umidade do alimento, taxa de alimentação e taxa de circulação, exercem influência na aglomeração dos pós, na formação da cápsula e na eficiência do processo, devendo ser otimizadas para obtenção de um produto com características adequadas (CORONEL-AGUILERA; SAN MARTÍN-GONZÁLEZ, 2015).

O fato de o equipamento permitir um bom controle das condições de secagem, o tamanho compacto e as altas taxas de secagem são vantagens desse método. Além disso, é uma das poucas tecnologias que possibilita o revestimento de partículas com praticamente qualquer tipo de agente encapsulante (polissacarídeos, proteínas, ceras, lipídeos) e a obtenção de uma gama de produtos com formas de liberação controlada. Uma das limitações é que, normalmente, o leito fluidizado exige a utilização de uma quantidade significativa de substância a encapsular, sendo indicado, portanto, para grandes produções (BRASILEIRO, 2011; FELLOWS, 2006).

### *2.2.3. Coacervação*

O microencapsulamento pelo método de coacervação é um fenômeno físico-químico em que ocorre a separação espontânea de duas fases: uma líquida, rica em coloides (coacervado), e outra pobre em coloides (sobrenadante). A separação ocorre como resultado de alterações das características físico-químicas do meio, como redução da solubilidade, alteração da temperatura, do pH, adição de uma solução iônica concentrada, entre outras (CALEFFI, 2014; SILVA *et al.*, 2014). O

mecanismo geral da coacervação por separação de fases baseia-se em três etapas, realizadas sob agitação contínua, conforme apresentado a seguir:

- Etapa 1 – Formação de três fases quimicamente imiscíveis: a fase líquida é composta pelo solvente do agente encapsulante e atua como veículo; a outra fase é composta pelo material ativo; e a terceira, pelo agente encapsulante;
- Etapa 2 – Deposição do agente encapsulante: a deposição do agente sobre o material ativo forma a parede da cápsula. Um fator crucial nesta etapa, e que constitui um pré-requisito para um revestimento efetivo, é a capacidade de o agente se adsorver na interface formada entre o material ativo e a fase do veículo líquido;
- Etapa 3 – Solidificação do agente encapsulante: ocorre o endurecimento da parede e o isolamento das microcápsulas, que podem ser secas com auxílio de técnicas térmicas (*spray drying* ou leito fluidizado), para que se estenda o tempo de estocagem e para tornar viável seu uso em produtos desidratados. Ainda podem ser recolhidas por centrifugação ou filtração, ou lavadas com solvente apropriado (AZEREDO, 2005; CALEFFI, 2014; CORONEL-AGUILERA; SAN MARTÍN-GONZÁLEZ, 2015).

Alguns fatores importantes para a formação e a estabilidade das microcápsulas são a razão da mistura entre os compostos poliméricos, a densidade da carga e da força iônica da solução e o tamanho das partículas. A precipitação e a separação de fases ocorrerão somente sob certas condições, como pH ótimo e correta proporção dos materiais. Portanto, é crucial preparar esses complexos sob condições apropriadas (CALEFFI, 2014; MARFIL, 2014).

A coacervação pode ser simples ou complexa. No sistema simples, emprega-se apenas uma substância como agente encapsulante, e no complexo dois polímeros de cargas opostas formam um complexo. A técnica é indicada para a microencapsulação de ingredientes hidrofóbicos, e sua principal vantagem está na ausência de calor envolvido, ideal para microencapsular ingredientes termossensíveis.

A possibilidade de ocorrer a agregação das micropartículas, causada pelo rápido aumento da viscosidade na região rica em polímeros, é uma limitação do método (AZEREDO, 2005). Outras desvantagens são o elevado custo, a instabilidade das microcápsulas, a presença de resíduos de solventes nas superfícies das cápsulas, além do fato de ser um método complexo e dispendioso (MAHDAVI *et al.*, 2014).

#### 2.2.4. Liofilização

A liofilização é um método baseado na desidratação por sublimação de um produto congelado. Consiste em duas etapas: congelamento rápido do produto e posterior sublimação do gelo sob vácuo. Dessa forma, a secagem ocorre sem submeter a amostra a altas temperaturas (SILVA *et al.*, 2014).

Para o processo de microencapsulação, liofiliza-se uma emulsão do material ativo com o agente encapsulante. O método gera produtos de excelente qualidade, uma vez que minimiza as alterações associadas a altas temperaturas, ideal para compostos aromáticos voláteis (AZEREDO, 2005).

Algumas vantagens da liofilização são descritas por Fellows (2006), das quais se destacam a manutenção de cor, odor e sabor do alimento, a grande retenção de nutrientes, a rápida e completa reidratação do pó e as mínimas mudanças estruturais, além do fato de ser um método bem-sucedido para secagem da maioria dos alimentos. No entanto, o processo é demorado e pode custar até quatro vezes mais que a secagem convencional, o que limita a aplicação comercial.

### 3. Agentes encapsulantes

A seleção do agente encapsulante, ou material de parede, é uma das principais dificuldades a serem resolvidas no planejamento de um processo de microencapsulação. A escolha do agente depende de diversos fatores, como a não reatividade com o material a ser encapsulado, o processo utilizado para a formação da microcápsula e o mecanismo de liberação ideal (FÁVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

Conforme já visto na seção 2.2.1, sobre o *spray dryer*, a secagem de amostras com alto conteúdo de açúcares, por exemplo, pode gerar produtos com muita pegajosidade e higroscopicidade e, assim, diminuir o rendimento do processo. Desse modo, para facilitar a secagem, recomenda-se utilizar agentes encapsulantes com peso molecular mais alto (FERRARI; RIBEIRO; AGUIRRE, 2012). Além disso, o material encapsulante deve apresentar: baixa higroscopicidade; poder de emulsificação; viabilidade econômica; fácil manipulação; capacidade de formar filmes, de solubilizar em solvente de grau alimentício, de resistir ao trato gastrointestinal e de ser biodegradável (AZEREDO, 2005; BARROS; STRINGHETA, 2006; SILVA *et al.*, 2014).

O uso de materiais distintos cria paredes com espessura e densidade específicas, proporcionando diferentes proteções ao composto bioativo (CAI; CORKE, 2000). Como nem todos os agentes satisfazem às características desejáveis, podem ser utilizadas combinações e outros modificadores, como eliminadores de oxigênio, antioxidantes, agentes quelantes e tensoativos (MAHDAVI *et al.*, 2014; OLIVEIRA; PETROVICK, 2009; SILVA *et al.*, 2014). Os agentes encapsulantes podem apresentar origem natural, semissintética ou sintética, incluindo materiais poliméricos, hidrofílicos ou hidrofóbicos. As classes mais utilizadas são exemplificadas a seguir:

- carboidratos: maltodextrina, amidos nativos e modificados, celulose, xarope de milho, inulina, quitosana;
- celulosas: carboximetilcelulose (CMC), acetilcelulose, nitrocelulose;
- gomas: goma-arábica, carragena, xantana, alginatos e ágar;
- lipídeos: cera, parafina, triestearina, ácido esteárico, monoglicérides, diglicérides, óleos e gorduras hidrogenadas;
- proteínas: gelatina, proteína isolada de soja, proteínas do leite, do soro e do glúten;
- materiais inorgânicos: sulfato de cálcio e silicatos;
- sintéticos: polímeros do ácido acrílico e copolímeros.

Desses, a maltodextrina, a goma-arábica e a inulina merecem destaque por serem amplamente utilizados, principalmente na secagem por *spray dryer*, o que demonstra seu potencial no microencapsulamento de pigmentos naturais. Na sequência, serão descritos esses três materiais mais empregados, assim como a gelatina e a ciclodextrina.

### **3.1. Maltodextrina**

As maltodextrinas são produtos da hidrólise parcial do amido e são amplamente utilizadas na indústria de alimentos devido à sua propriedade de espessante, como substituta da gordura e para aumentar os sólidos solúveis. Em geral, são hidrossolúveis, possuem baixa densidade, uma boa relação custo-benefício e sabor suave (ABREU; FERREIRA, 2013; SAÉNZ *et al.*, 2009). São classificadas de acordo com seu grau de hidrólise, expresso em dextrose equivalente (DE), uma medida essencialmente empírica da quantidade de açúcar redutor presente no produto e que indica uma média

do peso molecular. Com o aumento do grau de hidrólise, a média do peso molecular diminui, e assim as dextroses usadas como padrão mínimo e máximo são o amido (DE = 0) e a glicose (DE = 100) (MALTODEXTRINAS..., 2018).

O papel das maltodextrinas como agentes de secagem de produtos alimentícios é desempenhado em três momentos:

- antes da secagem, como auxiliar de dispersão, para evitar a aglomeração do produto nas tubulações;
- durante a secagem, para a obtenção de uma granulometria homogênea dos pós;
- depois da secagem, para a dispersão dos pós em água ou solvente.

A utilização de maltodextrinas com diferentes DEs no microencapsulamento de pigmentos naturais tem sido amplamente estudada, e, em sua maioria, os pesquisadores obtiveram resultados promissores que indicaram a estabilidade do pigmento (BAKOWSKA-BARCZAK; KOLODZIEJCZYK, 2011; FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014; FERRARI; RIBEIRO; AGUIRRE, 2012; SILVA *et al.*, 2013; JAYA; DAS, 2004; SAÉNZ *et al.*, 2009; TONON; BRABET; HUBINGER, 2010).

### 3.2. Goma-arábica

A goma-arábica é uma resina natural extraída das espécies *Acacia senegal* e *Acacia seyal*, da região subsaariana, que a liberam quando sujeitas a condições de seca ou quando feridas. Para estimular a liberação de uma maior quantidade de goma, os produtores fazem cortes na casca dessas árvores ou retiram partes dela, deixando uma área exposta.

Essa goma é uma mistura complexa e ramificada constituída de duas frações: a primeira, composta de cadeias de polissacarídeos (unidades de galactose, arabinose, ramnose, alguns ácidos derivados, como os glucurônicos), corresponde a cerca de 70 % da molécula; e a segunda, com alto peso molecular, tem múltiplas proteínas como parte integral de sua estrutura, que são as responsáveis pela propriedade emulsificante da goma. Trata-se de um material praticamente inodoro, insípido, hidrossolúvel, pouco ácido e atóxico (BICUDO, 2014; FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014; LANDIM, 2008; TONON, 2009).

A goma-arábica é considerada um dos melhores materiais de parede para a microencapsulação por *spray dryer* (BERNSTEIN; ZAPATA NOREÑA, 2015), devido

principalmente a suas propriedades emulsificantes e sua alta solubilidade em água, além da capacidade de aumentar a viscosidade, formar géis e acrescentar características de textura e sensação bucal aos substitutos de gorduras.

No entanto, alguns problemas estão associados com a sua utilização, como o elevado custo, o fornecimento limitado e as variações na capacidade emulsificante (teor de proteínas) nos diferentes lotes. Por isso, a procura de substitutos completos ou parciais de goma-arábica tem sido incentivada (BICUDO, 2014; FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014).

### 3.3. Inulina

A inulina é um polissacarídeo solúvel em água e pertence a um grupo de carboidratos não digeríveis, chamado frutanos. É composta de unidades de  $\beta$ -D-frutofuranosil unidas por ligações (2 $\rightarrow$ 1) (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Está amplamente disponível em cerca de 36 mil espécies de plantas, como alcachofra-de-jerusalém, tubérculos, dália, batata yacon, aspargos, alho-poró, com destaque para a raiz de chicória, principal fonte de extração (SHOAIB *et al.*, 2016).

É encontrada na forma de pó branco, inodoro, de sabor neutro e com alta pureza, tornando possíveis diversas aplicações sem alteração significativa das características de sabor e odor dos alimentos e com aumento da concentração de fibras no produto. Possui alegação de propriedade funcional ou de saúde por estimular o crescimento de bactérias benéficas presentes no cólon. É muito utilizada como prebiótico em alimentos, como substituto de macronutrientes, como gordura, e modificador da textura, promovendo o aumento da viscosidade do produto (LEITE, 2015; SAITO, 2014; SHOAIB *et al.*, 2016).

Atualmente, a inulina vem sendo estudada como agente encapsulante como forma de substituição de materiais convencionais, como gomas e maltodextrina. Pesquisadores indicam que seu uso combinado pode ser um material potencial para campos industriais, devido às características desejáveis obtidas, como o aumento da molhabilidade dos pós. Além disso, a utilização da inulina atende a uma crescente demanda do mercado por alimentos com benefícios adicionais para a saúde (BERNSTEIN; ZAPATA NOREÑA, 2015; BAKOWSKA-BARCZAK; KOŁODZIEJCZYK, 2011; FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014; SAÉNZ *et al.*, 2009; ZABOT *et al.*, 2016).

### 3.4. Gelatina

A gelatina é uma proteína hidrossolúvel de origem animal, obtida por hidrólise a quente em meio ácido (Tipo A) ou alcalino (Tipo B) do colágeno encontrado nos tecidos conectivos. As principais fontes de matéria-prima são pele e ossos de bovinos, suínos e peixes. Comercialmente, o produto é encontrado na forma de pó ou grânulos, incolores ou levemente amarelados, com odor característico e sabor pouco pronunciado (ARAÚJO, 2015; BICUDO, 2014).

Quimicamente, a gelatina é um polímero de alto peso molecular, cujas unidades básicas são aminoácidos conectados entre si por ligações peptídicas. As cadeias moleculares flexíveis entre as ligações cruzadas são longas, o que torna o gel muito extensível e permite a produção de soluções aquosas altamente viscosas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A gelatina existe como uma molécula enovelada em altas temperaturas, e a formação do gel ocorre com o resfriamento, devido à mudança de conformação (de enovelada para hélice). Esse gel é termorresistente, o que permite sua ampla utilização na indústria de alimentos, interessada nas propriedades multifuncionais da gelatina, como estabilização, emulsificação, aeração e controle da textura em formulações alimentícias (ARAÚJO, 2015; BRASILEIRO, 2011; CALEFFI, 2014).

Bicudo (2014) observou a alta eficiência de microencapsulamento (*spray dryer*) de antocianinas utilizando-se gelatina como agente encapsulante. Pela microscopia eletrônica de varredura (MEV), verificou a presença de fios nas microcápsulas, o que pode ser atribuído às características de gelificação desse material.

### 3.5. Ciclodextrinas

As ciclodextrinas estão compreendidas na família dos oligossacarídeos cíclicos e são formadas a partir de polímeros de amido solúvel, parcialmente hidrolisados pela ação da enzima ciclodextrina glicosiltransferase. Compõem-se de seis, sete ou oito unidades glicosil, denominadas como  $\alpha$ -ciclodextrina,  $\beta$ -ciclodextrina e  $\gamma$ -ciclodextrina, respectivamente. As três estruturas são reconhecidas como seguras para uso em alimentos, porém somente a  $\beta$ -ciclodextrina é utilizada em maior grau, devido ao seu baixo custo frente às demais e à sua elevada capacidade de formação de complexos de

inclusão com moléculas apolares, devido ao ambiente hidrofóbico presente em sua cavidade interna. As principais aplicações das ciclodextrinas na indústria alimentícia baseiam-se na complexação de constituintes indesejáveis, como mascaramento de sabores, na estabilização da oxidação lipídica, no aumento da solubilidade de compostos aromáticos lipofílicos e na melhora da estabilidade de ingredientes alimentícios, por meio da encapsulação de voláteis e liberação controlada de sabores, por exemplo (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Barros e Stringheta (2006) sugerem a utilização de  $\beta$ -ciclodextrina como agente encapsulante em meios com baixa acidez, uma vez que em pH 4,0 este material microencapsulou e protegeu antocianinas de forma eficaz. No entanto, em meio ácido (pH 2), sua eficiência como encapsulante foi reduzida, provavelmente devido à hidrólise da estrutura da molécula.

As estruturas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -ciclodextrinas foram avaliadas no microencapsulamento de licopeno por inclusão molecular por Matioli e Rodriguez-Amaya (2003). As pesquisadoras verificaram que a estrutura  $\alpha$ -ciclodextrina foi a única que não formou a capa protetora. Em solução aquosa, as moléculas de água do interior do anel das ciclodextrinas são facilmente substituídas por moléculas apolares (licopeno), formando estruturas energeticamente mais estáveis. Nesse aspecto, a  $\gamma$ -ciclodextrina destacou-se pelo desempenho na estabilização da oxidação do pigmento, devido ao fato de o diâmetro interno da cavidade da molécula ser maior que o das demais, e por apresentar oito unidades glicosil, contra sete e seis das  $\alpha$ ,  $\beta$ -ciclodextrinas, respectivamente. Apesar de sua eficiência destacada, o elevado custo da  $\gamma$ -ciclodextrina ainda dificulta a sua utilização pela indústria.

## **Considerações finais**

A utilização de corantes na indústria de alimentos é recorrente. Com a substituição dos pigmentos sintéticos pelos naturais, o produto pode ser disponibilizado a um público maior e mais exigente, uma vez que é significativo o número de consumidores alérgicos a aditivos sintéticos.

Os pigmentos naturais estão amplamente distribuídos na natureza em diversas cores, e o seu consumo é incentivado em um contexto de alimentação mais saudável. A incorporação desses corantes em alimentos é possibilitada ou facilitada pelo uso de



diversos métodos de microencapsulação, capazes de proteger o pigmento de fatores ambientais ou físico-químicos que afetam sua estabilidade. Estudos demonstram resultados promissores no uso dessa tecnologia, que tem se mostrado uma alternativa viável para solucionar dificuldades na incorporação de corantes naturais em alimentos.

Para fomentar o uso dessa tecnologia, que, por sua vez, possibilita ampliar a utilização de corantes naturais pela indústria, é necessário um esforço em pesquisa e aprimoramento das técnicas de microencapsulação, de modo a identificar materiais de parede ideais para aplicações comerciais.

## Referências

ABREU, H.; FERREIRA, S. M. R. Extração e encapsulação de antocianinas de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), açaí (*Euterpe oleracea*) e uva Isabel (*Vitis labrusca*). In: ENCONTRO DE ENGENHARIA E TECNOLOGIA DOS CAMPOS GERAIS, 8., 27-30 ago. 2013, Ponta Grossa. **Anais** [...]. Ponta Grossa: AEAPG, 2013.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos** – teoria e prática. Viçosa: Editora UFV, 2015.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 1, p. 89-97, jan./mar. 2005.

BAKOWSKA-BARCZAK, A. M.; KOLODZIEJCZYK, P. P. Black currant polyphenols: their storage stability and microencapsulation. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 2, p. 1.301-1.309, Oct. 2011.

BARBOSA, M. I. M. J. **Microcápsulas de bixina: obtenção, aplicação e estudos de fotodegradação em sistemas-modelo**. 2009. 155 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

BARROS, F. A. R. D.; STRINGHETA, P. C. Microencapsulamento de antocianinas. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 36, p. 18-24, jan./jun. 2006.

BERNSTEIN, A.; ZAPATA NOREÑA, C. P. Encapsulation of red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *rubra*) anthocyanins by spray drying using different encapsulating agents. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 58, n. 6, p. 944-952, Nov./Dec. 2015.

BICUDO, M. O. P. **Composição fenólica, atividade antioxidante e microencapsulação de frutos de juçara (*Euterpe edulis*):** aspectos de interesse para a indústria de alimentos. 2014. 143 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia Química, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

BRASILEIRO, J. S. L. **Microencapsulação de compostos bioativos:** inovação em diferentes áreas. 2011. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2011.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray-dried amarantus betacyanin pigments. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 65, n. 6, p. 1.248-1.252, Oct. 2000.

CALEFFI, T. S. L. **Microencapsulação de polpa de amora-preta por coacervação e *spray drying*.** 2014. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Engenharia Química, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea*, M.).** 2003. 183 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

CORONEL-AGUILERA, C. P.; SAN MARTÍN-GONZÁLEZ, M. F. Encapsulation of spray dried  $\beta$ -carotene emulsion by fluidized bed coating technology. **LWT – Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 187-193, June 2015.

DAMODARAN, S.; PARKIN, L.; FENNEMA, O. R. (org.). **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DOSSIÊ corantes. **Food Ingredients Brasil**, v. 1, n. 9, p. 40-59, 2009. Disponível em: [https://revista-fi.com.br/upload\\_arquivos/201606/2016060213572001465326315.pdf](https://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060213572001465326315.pdf). Acesso em: 21 abr. 2020.

FÁVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C. de; ROCHA, G. A. Revisão: microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 11, p. 103-112, abr./jun. 2008.

FELLOWS, P. J. Desidratação. *In*: FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. p. 323-352.

FERNANDES, R. V. D. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, n. 1, p. 524-532, Jan. 2014.

FERRARI, C. C.; RIBEIRO, C. P.; AGUIRRE, J. M. D. E. Secagem por atomização de polpa de amora-preta usando maltodextrina como agente carreador. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 157-165, abr./jun. 2012.

JAYA, S.; DAS, H. Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. **Journal of Food Engineering**, v. 63, n. 2, p. 125-134, June 2004.

KAIMAINEN, M. *et al.* Consumer acceptance and stability of spray dried betanin in model juices. **Food Chemistry**, v. 187, p. 398-406, Nov. 2015.

LANDIM, E. M. C. **Obtenção, caracterização e avaliação da estabilidade de pigmentos naturais microencapsulados**. 2008. 89 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

LEITE, S. T. **Iogurte simbiótico de açaí (*Euterpe edulis* Mart.):** caracterização físico-química e viabilidade de bactérias lácticas e probiótica. 2015. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2015.

MAHDAVI, S. A. *et al.* Spray-drying microencapsulation of anthocyanins by natural biopolymers: a review. **Drying Technology**, New York, v. 32, n. 5, p. 509-518, Mar. 2014.

MALTODEXTRINAS: propriedades e aplicações. **Aditivos & Ingredientes**, São Paulo, n. 146, p. 44-49, mar. 2018. Disponível em: <https://aditivosingredientes.com.br/revistas/146/mobile/index.html#p=44>. Acesso em: 22 abr. 2020.

MARFIL, P. H. M. **Microencapsulação de óleo de palma por coacervação complexa em matrizes de gelatina/goma-arábica e gelatina/alginato.** 2014. 135 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2014.

MATIOLI, G.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Microencapsulação do licopeno com ciclodextrinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 102-105, dez. 2003. Suplemento.

OLIVEIRA, D. da S. *et al.* Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum: Health Sciences**, Maringá, v. 33, n. 1, p. 89-98, jan./jun. 2011.

OLIVEIRA, M. S. de. **Desenvolvimento e caracterização de micropartículas lipídicas sólidas carregadas com hidrolisado proteico obtidas por *spray chilling*.** 2014. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

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

PARIZE, A. L.; SOUZA, T. C. R. de; BRIGHENTE, I. M. da C. Obtenção e caracterização de microesferas de quitosana contendo o corante urucum. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 2, n. 1, p. 15-18, mar. 2008.

PELLISSARI, J. R. *et al.* Production of solid lipid microparticles loaded with lycopene by spray chilling: structural characteristics of particles and lycopene stability. **Food and Bioproducts Processing**, v. 98, p. 86-94, Apr. 2016.

POLÔNIO, M. L. T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 8, p. 1.653-1.666, ago. 2009.

ROBERT, P.; FREDES, C. The encapsulation of anthocyanins from berry-type fruits. Trends in foods. **Molecules**, Basel, v. 20, n. 4, p. 5.875-5.888, Apr. 2015.

ROCHA, J. de C. G. **Adição dos corantes naturais antocianinas e luteína em bebidas formuladas com proteínas de soro de leite**. 2013. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

RUTZ, J. K. **Caracterização e microencapsulação de suco de pitanga roxa (*Eugenia uniflora* L.)**. 2013. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

SAÉNZ, C. *et al.* Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 616-622, May 2009.

SAITO, T. **Efeito da adição de extrato de casca de jaboticaba nas características físico-químicas e sensoriais de queijo *petit suisse***. 2014. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2014.

SHOAIB, M. *et al.* Inulin: properties, health benefits and food applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 444-454, Aug. 2016.

SILVA, P. I. *et al.* Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 538-544, Aug. 2013.

SILVA, P. T. *et al.* Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 7, p. 1.304-1.311, jul. 2014.

TONON, R. V. **Secagem por atomização do suco de açaí: influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto**. 2009. 212 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v. 43, n. 3, p. 907-914, Apr. 2010.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 444-450, abr./jun. 2009.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGHETA, P. C. Pigmentos naturais bioativos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 1, p. 157-166, jan./mar. 2009.

ZABOT, G. L. *et al.* Replacing modified starch by inulin as prebiotic encapsulant matrix of lipophilic bioactive compounds. **Food Research International**, v. 85, p. 26-35, July 2016.

ZAIDEL, D. N. A. *et al.* Encapsulation of anthocyanin from roselle and red cabbage for stabilization of water-in-oil emulsion. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 82-89, 2014.

## Capítulo 7

---

# *Métodos para determinação de sulfitos em alimentos*

Jussara Moreira Coelho  
Raquel Vieira de Carvalho  
Paulo Henrique Alves da Silva  
Ellen Silva Lago Vanzela

### **Introdução**

O termo sulfito, ou agente sulfitante, é utilizado para denominar genericamente uma variedade de compostos, tais como dióxido de enxofre, metabissulfito de sódio, metabissulfito de potássio, bissulfito de sódio, bissulfito de potássio e sulfito de sódio. Em solução, esses compostos são capazes de liberar diferentes espécies:  $\text{SO}_2$  molecular,  $\text{HSO}_3^-$  ou  $\text{SO}_3^{-2}$ , as quais são encontradas no meio aquoso em um equilíbrio dependente do pH (USSEGLIO-TOMASSET, 2009). O  $\text{HSO}_3^-$  é a espécie predominante se o pH do meio estiver variando entre 2 e 7. Em valores de pH menores que 2 e maiores que 7, o desvio do equilíbrio é direcionado para a formação de  $\text{SO}_2$  molecular e  $\text{SO}_3^{-2}$ , respectivamente (DIVOL; DU TOIT; DUCKITT, 2012).

Esses compostos são amplamente usados pela indústria alimentícia para evitar crescimento de microrganismos indesejáveis e reações de escurecimento enzimático e não enzimático nos produtos (LI; GUO; WANG, 2008). Duas classes de sulfitos são encontradas em alimentos: livre e ligado. O sulfito livre é a porção que não está



ligada a qualquer componente do alimento. O ligado é aquela porção que reagiu com alguns componentes dos alimentos, como aldeídos, cetonas, açúcares, taninos, proteínas, antocianinas e quinonas (ABERL; COELHAN, 2013; JACKOWETZ; MIRA DE ORDUÑA, 2013), e os íons  $\text{HSO}_3^-$  e  $\text{SO}_3^{2-}$  são as espécies de sulfito envolvidas nessas reações. A soma das porções livre e ligada define a concentração total. Contudo, somente o sulfito livre fornece proteção contra a oxidação e o crescimento de microrganismos (MONRO *et al.*, 2012; ABERL; COELHAN, 2013).

Apesar dessa eficácia dos sulfitos, inúmeros efeitos adversos à saúde humana têm sido relacionados à sua ingestão, como crises asmáticas em indivíduos sensíveis (VALLY; KLERK; THOMPSON, 2000), urticária (GUPTA, 2013), náusea (FAVERO; RIBEIRO; AQUINO, 2011), irritação gástrica (FAVERO; RIBEIRO; AQUINO, 2011) e diarreia (VALLY; MISSO; MADAN, 2009). Por isso, esses compostos não podem ser utilizados indiscriminadamente e é necessário controlar a concentração utilizada nos alimentos. O Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (Jecfa) propõe como ingestão diária aceitável de sulfito a quantidade de  $0,7 \text{ mg.kg}^{-1}$  de peso corpóreo do indivíduo (MACHADO; TOLEDO, 2006) e a FDA recomenda que avisos de alerta nos rótulos dos produtos deveriam ser adicionados a fim de informar ao consumidor a presença de mais que  $10 \text{ mg.Kg}^{-1}$  ou  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  de sulfito nos alimentos (PUNDIR; RAWAL, 2013).

Vários métodos estão disponíveis para análise de sulfito livre e total em alimentos e bebidas. Eles utilizam uma ou mais técnicas analíticas, entre as quais se destacam as volumétricas (BUECHSENSTEIN; OUGH, 1978), as enzimáticas (DINÇKAYA *et al.*, 2007), as colorimétricas (LI; ZHAO, 2006), as espectroscópicas (HENNINGSEN, 2003), as eletroquímicas (KARUBE; NOMURA; ARIKAWA, 1995), as cromatográficas (ZHONG *et al.*, 2012), as fluorométricas (AXELROD; BONELLI; LODGE JR., 1970) e a análise de injeção em fluxo (RUIZ-CAPILLAS; JIMÉNEZ-COLMENERO, 2009). Alguns métodos serão descritos e discutidos em mais detalhes na sequência.

## **1. Métodos volumétricos**

Dos métodos volumétricos, os mais comumente utilizados para determinação de sulfito livre e total em alimentos são os de Ripper e de Monier-Williams.

Na determinação do sulfito livre pelo método de Ripper, a amostra de alimento ou bebida é titulada diretamente com iodo, após adição de  $H_2SO_4$  às amostras, usando-se como indicador uma solução de amido 1 % (m/v). O sulfito livre é oxidado a sulfato, e o iodo é reduzido a iodato. Na determinação do sulfito total, submete-se a amostra a uma hidrólise alcalina antes de se realizar a adição de ácido sulfúrico, a qual é seguida por titulação da amostra com iodo (POPOLIM, 2009). O método de Ripper apresenta algumas limitações, como: dificuldade na interpretação do ponto final da titulação em amostras coloridas (por exemplo, no vinho tinto); reação do iodo titulante com alguns compostos não sulfito (como os taninos); superestimação do valor de sulfito livre pela hidrólise de sulfito ligado (BUECHSENSTEIN; OUGH, 1978; MACHADO; TOLEDO, 2006).

Por sua vez, o método de Monier-Williams tem mais de sessenta anos de uso em muitas matrizes e uma enorme base de dados, o que o torna referência para comparação com outros métodos (FAZIO; WARNER, 1990). É um dos métodos oficiais da Association of Official Analytical Chemists (Aoac) para análise de sulfitos em alimentos e bebidas. Nessa técnica, o alimento é dissolvido em ácido hidrocloreídrico 4 N para que as espécies de sulfito presentes sejam convertidas em  $SO_2$  molecular. Nitrogênio é injetado nessa solução, por uma hora e 45 minutos, para que o  $SO_2$  molecular seja conduzido por meio de um condensador a uma solução de água oxigenada 3 % (m/v) contendo indicador ácido-base (BUECHSENSTEIN; OUGH, 1978). A espécie  $SO_2$  molecular é oxidada a ácido sulfúrico, o qual será quantificado por titulação com hidróxido de sódio. A aplicação desse método não é recomendada em vegetais das famílias Brassica e Allium, pois estes possuem dissulfetos como componentes do aroma, que podem interferir nas análises (MACHADO; TOLEDO, 2006).

Têm sido encontradas na literatura algumas modificações do método de Monier-Williams em relação às condições de destilação ou ao sistema de medida do  $SO_2$  molecular. Um exemplo é o método da aeração-oxidação, muito utilizado na análise de vinhos. Na determinação de sulfito livre pelo método da aeração-oxidação, ácido fosfórico 25 % (v/v) é adicionado à amostra de alimento ou bebida que está sendo analisada. O ar limpo é aspirado dessa amostra acidificada, em uma vazão de 1.000 a 1.500  $ml \cdot min^{-1}$  durante quinze minutos. O  $SO_2$  molecular é arrastado para um frasco contendo água oxigenada 0,3 % (m/v) e um indicador ácido-base. A reação entre sulfito e água oxigenada será evidenciada pela mudança de cor da solução. O ácido sulfúrico

formado é titulado com NaOH. Em relação à determinação de sulfito total, o procedimento deve ser realizado de forma similar, acompanhado de suave aquecimento do recipiente que contém a amostra acidificada (BUECHSENSTEIN; OUGH, 1978).

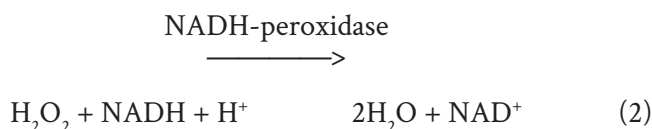
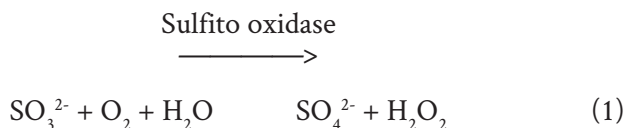
Todavia, o método da aeração-oxidação tem vários inconvenientes, como elevado tempo de reação (quinze minutos), gasto de grande volume de amostra (20 ml ou 20 g) e interferência de ácidos voláteis. Além disso, ao medir o sulfito livre, o método falha e mede uma parte de sulfito ligado reversivelmente (FAZIO; WARNER, 1990; MONRO *et al.*, 2012). Métodos de determinação de sulfito livre que requerem acidificação da amostra superestimam os resultados, uma vez que parte do sulfito ligado pode se dissociar. Além disso, à medida que o sulfito livre é removido da solução por volatilização, o sulfito ligado se dissocia continuamente (BURROUGHS, 1975).

Pegram, Kwasniewski e Sacks (2013) simplificaram o método da aeração-oxidação para determinação de SO<sub>2</sub> livre em vinhos, usando tubos colorimétricos para detecção gasosa. Inicialmente desenvolvidos para a indústria de mineração, esses tubos são feitos de vidro e contêm em seu interior um reagente sensível à cor que escurece proporcionalmente à exposição de um analito gasoso. O funcionamento do método desenvolvido se baseia na mistura da amostra de vinho com ácido fosfórico 25 % (v/v) para conversão das espécies livres de SO<sub>2</sub> em SO<sub>2</sub> molecular. A adição de um comprimido de antiácido, da marca Alka-Seltzer, à amostra acidificada libera bolhas de CO<sub>2</sub> que conduzem o SO<sub>2</sub> molecular do vinho para o tubo de detecção, onde ele provoca uma mudança de cor proporcional à sua concentração. Os resultados encontrados pelos autores foram similares àqueles encontrados pelo método da aeração-oxidação para análise de sulfito livre em vinhos. A correlação (r) dos resultados obtidos entre os dois métodos foi de aproximadamente 0,998.

## **2. Método enzimático**

A enzima sulfito oxidase tem sido usada para desenvolver metodologias de análise de sulfitos em alimentos. Ela pode estar presente em um *kit* comercial de análise ou pode ser utilizada imobilizada em um eletrodo (LÜCK; JAGER, 1997). No *kit* disponível comercialmente, o teste é realizado em aproximadamente 45 minutos e segue os esquemas de reação 1 e 2 representados a seguir. A análise se baseia na oxidação enzimática do sulfito, em meio básico, com conseqüente formação de sulfato e

peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Este, por sua vez, reage com NADH na presença de NADH-peroxidase. A diminuição da concentração de NADH é monitorada por medidas de absorvância no comprimento de onda de 340 nm (FAZIO; WARNER, 1990).



Apesar das dúvidas sobre a confiabilidade do princípio descrito acima, Beutler (1984) utilizou o método em soluções-padrão (30 a 300 mg  $\text{SO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ ), com oito repetições, e alcançou uma boa precisão nas medidas, uma vez que os coeficientes de variação (CV) encontrados foram baixos (0,66 a 5,71 %). A exatidão das medidas enzimáticas, nas soluções aquosas de sulfito, foi confirmada por comparação com o método de Ripper (BUECHSENSTEIN; OUGH, 1978). O coeficiente de correlação (r) entre os dois métodos foi de 0,995. O método foi também aplicado, para determinação de  $\text{SO}_2$  total, em algumas amostras de alimentos, como vinhos, cerveja, sucos, pimenta, conservas, e boas taxas de recuperação foram obtidas (90 a 100 %). Apesar da alta seletividade do método, visto que ele não sofre interferências de compostos contendo enxofre, açúcares, ácidos orgânicos e álcoois, alguns problemas podem ser encontrados, como elevado tempo de análise e interferência de compostos coextraídos dos alimentos (na etapa de separação do  $\text{SO}_2$ ) nas medidas de absorvância (BEUTLER, 1984).

Outro método que também utiliza a enzima sulfito oxidase são os biossensores de sulfito, que, mesclando técnicas eletroquímicas e enzimáticas, consistem na imobilização da enzima em uma membrana colocada ao redor da parte sensível de um eletrodo combinado (KARUBE; NOMURA; ARIKAWA, 1995). Atualmente, existem doze classes de biossensores de sulfito e as diferenças entre elas se baseiam nos princípios de operação dos biossensores. Em uma dessas classes, encontram-se os biossensores baseados nas medidas de oxigênio dissolvido em solução. O princípio de operação consiste em entrada do oxigênio através da membrana, redução pela ação da enzima

e geração de uma corrente mensurável. A diferença entre esses valores medidos, na ausência e presença de sulfito, possibilita a determinação da concentração desse composto na amostra que está sendo analisada. Tais biossensores possuem como condições ótimas de funcionamento: pH entre 7 e 8, temperatura entre 25 e 40 °C, limite de detecção entre 0 e 200 µm e são estáveis por um período de dez a quinze dias (PUNDIR; RAWAL, 2013). Os biossensores de sulfito têm como vantagens a alta especificidade da enzima pelo substrato, o curto tempo de resposta após realização de um fácil procedimento e a não utilização de solventes orgânicos, o que os torna mais desejáveis, do ponto de vista ambiental, que os métodos convencionais. Uma desvantagem é a interferência do oxigênio atmosférico, que faz com que esses biossensores sejam menos sensíveis (KARUBE; NOMURA; ARIKAWA, 1995; PUNDIR; RAWAL, 2013).

Esse método foi empregado por Dinçkaya e colaboradores (2007) para determinação de sulfito em amostras de alimentos, usando um eletrodo de carbono vítreo revestido com filme de mercúrio. No referido trabalho, os autores investigaram alguns parâmetros, como concentração da enzima, quantidade de gelatina e porcentagem de glutaraldeído. Esses dois últimos compostos foram utilizados no processo de imobilização da enzima no eletrodo. Os pesquisadores observaram que tampão fosfato 0,05 M em pH 7 e temperatura de 40 °C forneceram as melhores condições para que a reação ocorresse. O método apresentou boa linearidade quando empregado em soluções-padrão de sulfito, preparadas em tampão fosfato, na faixa de concentração de  $2 \times 10^{-4}$  a  $2,8 \times 10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup>. O método foi empregado em amostras de biscoitos, sopas prontas e vinagre. A preparação das amostras sólidas para análise foi feita em tampão fosfato, com pH ajustado para a faixa alcalina, para que sulfitos livre e ligado pudessem ser extraídos. A mistura foi agitada em alta velocidade por um minuto e centrifugada por quinze minutos, e o sobrenadante resultante foi usado para as análises. As amostras líquidas foram somente diluídas em tampão antes da análise. Após a imersão do eletrodo nas amostras para coleta dos dados, os resultados se mostraram próximos aos obtidos com método enzimático de referência (AOAC, 1995).

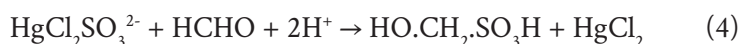
### **3. Métodos colorimétricos**

Métodos colorimétricos com uso de pararosanilina têm sido desenvolvidos para determinação de sulfito livre em alimentos. Alguns deles utilizam tetracloromercurato na

etapa inicial, para reação com o sulfito, seguindo o esquema de reação 3 representado a seguir.



Essa reação oferece maior estabilidade oxidativa ao sulfito após a formação do complexo diclorosulfitomercurato. O complexo formado reagirá, depois, com o excesso de formaldeído para formar o ácido hidroximetanosulfônico, conforme representado no esquema de reação 4:



O ácido hidroximetanosulfônico reage com a solução de pararosanilina ácida (incolor) para formar um composto colorido, que tem sua absorvância medida espectrofotometricamente no comprimento de onda de 560 nm, que é proporcional à concentração de sulfito na amostra (HASWELL, 1991).

A pararosanilina forma uma solução rósea brilhante quando dissolvida em água. Após acidificação com ácido hidrocloreídrico, a solução é branqueada devido a uma conjugação diminuída e resulta em uma solução pálida. A adição do formaldeído, por sua vez, faz resultar uma solução roxa pálida, que reage extremamente com sulfitos para formar o composto colorido (MONRO *et al.*, 2012).

Um método utilizando pararosanilina-formaldeído foi proposto por Li e Zhao (2006), com algumas modificações, para determinação de sulfito livre em alguns alimentos. As amostras de alimentos foram pesadas (sólidas) ou pipetadas (líquidas) e transferidas para um triturador, com adição de 30 ml de água deionizada. A mistura foi agitada, submetida ao ultrassom por quinze minutos e, então, filtrada em membrana de 0,45  $\mu\text{m}$ , e o resultante filtrado foi diluído em água. Uma alíquota de 1 ml desse filtrado foi transferida para um tubo contendo 1 ml da mistura pararosanilina-formaldeído. Após dez minutos de reação à temperatura ambiente, a absorvância da amostra foi medida em um comprimento de onda de 575 nm. A concentração de sulfito em amostras de amêndoas, cogumelos, açúcar granulado e cerveja foi determinada pelo método proposto e comparada com um método volumétrico padrão (Ripper). Os resultados do método proposto estavam em acordo com os do método

de Ripper para as amostras de amêndoas, cogumelo e açúcar granulado. Para a amostra de cerveja, os valores de sulfito encontrados pelo método proposto corresponderam a aproximadamente 60 % dos valores encontrados por Ripper.

Técnicas colorimétricas também podem ser associadas com outras técnicas para desenvolver métodos de análise de sulfito. Os sistemas microfluídicos integrados podem ser citados como exemplo de um método que une as técnicas colorimétricas a outros tipos de técnicas. Esses sistemas desempenham ampla variedade de tarefas em um único *chip*. Miniaturizam e integram vários processos, tais como injeção de amostras e reagentes, mistura, reação colorimétrica e detecção. Eles têm como vantagens: resposta em menor tempo, baixo consumo de reagentes, baixo custo e melhor portabilidade (DITTRICH; MANZ, 2006).

Fu e colaboradores (2014), por exemplo, desenvolveram um método utilizando uma mistura de vermelho de metila e azul de metileno, em um sistema microfluídico integrado, para determinação de sulfito livre. Os pesquisadores utilizaram um *chip* microfluídico e um fotômetro LED para análise de amostras-padrão de sulfito e amostras de vegetais. Estas foram submetidas a um processo de destilação para separação do SO<sub>2</sub>, e o destilado foi injetado no sistema integrado. Dentro do sistema, o sulfito se mistura ao corante e, após a reação colorimétrica, o *chip* é iluminado com luz LED. A concentração de sulfito nas amostras de vegetais é determinada por comparação com soluções padrão. O sistema de detecção se baseia na voltagem de saída do fotodiodo do fotômetro LED. Os resultados da pesquisa demonstraram que os desvios entre o método proposto e um método tradicional em macroescala, utilizando os corantes vermelho de metila e azul de metileno, não são maiores que 9 %.

#### **4. Métodos cromatográficos**

Muitos estudos têm sido desenvolvidos com o uso de cromatografia para determinação de sulfitos em alimentos e bebidas (HAMANO *et al.*, 1979; MCFEETERS; BARISH, 2003; ZHONG *et al.*, 2012; ABERL; COELHAN, 2013).

Para determinação de sulfito livre e total em alimentos por cromatografia gasosa, uma etapa de extração desses compostos deve ser realizada. Para a extração de sulfito livre, ácido tartárico (0,1 M) pode ser escolhido como extrator. Para a extração de sulfito total (livre + combinado), uma solução extratora composta

por hidróxido de sódio, tartarato de sódio e potássio e sulfato ferroso pode ser utilizada (PUNDIR; RAWAL, 2013).

Hamano e colaboradores (1979) avaliaram amostras de damasco e abacaxis secos e de vinhos tintos e brancos quanto à concentração de sulfito livre e total. Para isso, 5 ml de ácido fosfórico 50 % (v/v) foram colocados em tubos de *headspace* com 1 ml da solução extratora contendo sulfito livre ou sulfito total. O tubo foi agitado ocasionalmente e mantido em um banho termostaticamente controlado, por dez minutos. Alíquotas de 1 ml do gás do *headspace* foram retiradas com uma seringa *gas-tight* e injetadas no cromatógrafo gasoso com detector fotométrico de chama. As concentrações das amostras foram determinadas por meio de uma curva de calibração, que apresentou boa linearidade. As porcentagens de recuperação variaram de 92,5 a 104 % para sulfito livre e de 93,5 a 98 % para sulfito total.

Aberl e Coelhan (2013) desenvolveram um método sensível e alternativo para determinação de SO<sub>2</sub> total em vinhos e compararam os resultados com aqueles obtidos pelo método de Monier-Williams. O método proposto baseou-se na injeção automática do *headspace* das amostras e análise por cromatografia gasosa utilizando um detector de captura de elétrons (ECD). As amostras foram tratadas com 2,4-dinitrofenilhidrazina para liberação do sulfito ligado e acidificadas com ácido fosfórico 85 % v/v para conversão de todas as espécies de sulfito presentes em SO<sub>2</sub> molecular. Após o aquecimento da amostra, o SO<sub>2</sub> molecular presente no *headspace* foi injetado automaticamente no aparelho, com as seguintes configurações: temperatura da coluna a 110 °C, por doze minutos, temperatura do detector a 160 °C, hélio como gás carreador e coluna capilar 60 m x 0,32 mm x 0,5 µm. As concentrações das amostras foram determinadas por meio de uma curva de calibração padrão. O método proposto apresentou uma boa linearidade na faixa de 5-200 mg.L<sup>-1</sup>, que cobre a faixa de concentração da maioria dos vinhos. Os resultados obtidos apresentaram boa repetibilidade e ficaram bem próximos aos resultados obtidos pelo método referência (r = 0,9985).

A cromatografia líquida de alta eficiência (Clae) também tem sido usada para análise de sulfitos em alimentos. Os métodos de análise de sulfito por Clae têm mais sensibilidade, reprodutibilidade e precisão, mas consomem muito tempo na realização e requerem pessoal qualificado para a execução (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006; PUNDIR; RAWAL, 2013).



McFeeters e Barish (2003) desenvolveram um método para análise quantitativa de SO<sub>2</sub> livre e total, em frutas e vegetais, usando Clae com detecção UV, cuja fase móvel era uma solução de ácido sulfúrico diluído. Na etapa de preparo das amostras para determinação do sulfito livre, os alimentos triturados foram usados na elaboração de suspensões, e estas foram centrifugadas a 15.000 g por cinco minutos. Depois de centrifugadas, as amostras foram transferidas para *vials* e diluídas com água. Para análise de sulfito total, as amostras trituradas foram tratadas com NaOH por quinze minutos para liberar o sulfito ligado, sendo em seguida centrifugadas por cinco minutos e transferidas para *vials*, nos quais foram realizadas as diluições necessárias. Alíquotas de 20 µl foram injetadas automaticamente na coluna, cuja temperatura foi estabilizada a 60 °C. As absorvâncias dos compostos, após separação na coluna, foram medidas em comprimento de onda de 210 e 276 nm, e as concentrações de sulfito livre e total foram determinadas por meio de uma curva de calibração. A pesquisa mostrou que ambos os sulfitos, livre e ligado, podem ser medidos quantitativamente em vegetais acidificados, purê de batata instantâneo e maçãs secas usando-se HPLC com detector UV. O método apresentou boa precisão (coeficiente de variação de 1 a 6,5 %) e baixo limite de detecção (aproximadamente 2 mg.L<sup>-1</sup>). Se comparada com o método de Monier-Williams, a técnica proposta por McFeeters e Barish requereu muito menos trabalho.

## 5. Método da análise de injeção em fluxo

A análise de injeção em fluxo (FIA) oferece uma resposta analítica rápida e é muito versátil e de baixo custo, o que é desejável para a determinação rotineira de sulfito livre e sulfito total em grande número de amostras.

Nesse método, amostras líquidas, como sucos de frutas e vinhos, são diretamente injetadas no sistema FIA (ARAÚJO *et al.*, 2005). Em amostras sólidas, procedimentos de extração com tetracloromercurato (TCM) são aplicados antes da injeção da amostra (AOAC, 2000). O TCM ajuda a liberar sulfitos de amostras sólidas e estabilizá-los, formando um complexo sulfito-mercúrio que fornece excelentes recuperações. Além disso, para análise de sulfito total, NaOH ou KOH devem ser utilizados com o TCM para liberação do sulfito combinado (RUIZ-CAPILLAS; JIMÉNEZ-COLMENERO, 2009).

Após a extração, a amostra contendo sulfitos é injetada no sistema FIA, e a determinação do sulfito consiste num sistema baseado na difusão gasosa. Após a injeção, a amostra é misturada a uma solução fortemente ácida ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  ou  $\text{HCl}$ ) para liberar  $\text{SO}_2$  gasoso através de uma membrana. Esse gás se dissolve em outra solução contendo um indicador ácido-base. A escolha dessa solução acceptora depende do sistema de detecção empregado. Espectrofotometria, voltametria, quimioluminescência e potenciometria têm sido usadas como métodos de detecção, mas a detecção espectrofotométrica é a preferida por estar mais disponível em laboratórios de análises de rotina. Para esse tipo de detecção, o acceptor frequentemente utilizado é uma solução de verde malaquita. O grau de descoloração do verde malaquita é proporcional à concentração de sulfito na solução teste, medida espectrofotometricamente a 615 nm (ARAÚJO *et al.*, 1998; ARAÚJO *et al.*, 2005; RUIZ-CAPILLAS; JIMÉNEZ-COLMENERO, 2009).

Martins e colaboradores (2011) descreveram um novo sistema FIA para análise de sulfito livre em alimentos industrializados, usando difusão gasosa através de filme de politetrafluoretileno e um detector amperométrico baseado em eletrodo de carbono vítreo. Para a solução ácida, o sistema utilizou  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; para a solução acceptora,  $\text{KNO}_3$  em tampão fosfato. O sistema foi testado em soluções-padrão antes do teste e em amostras de suco de caju, suco de uva, suco de laranja e água de coco. O método mostrou resposta linear entre 0,64 e 6,4 ppm de sulfito, limite de detecção de 0,043 ppm e frequência analítica de 85 análises por hora. Foi também concluído que o método é robusto, usa pequenas quantidades de amostra (75  $\mu\text{l}$ ) e é seletivo para análise de sulfito livre em alimentos. Os resultados obtidos pelo método FIA e pelo método de Monier-Williams foram similares.

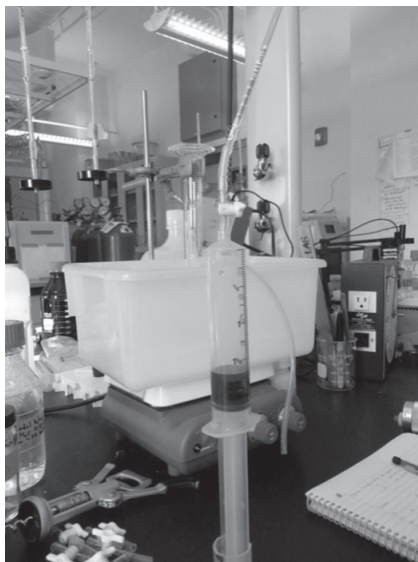
## 6. Método HS-GDT

O método HS-GDT (*headspace gas detection tube*) foi desenvolvido por Coelho, Howe e Sacks (2015) para determinação de  $\text{SO}_2$  livre em vinhos. O método realiza medidas de  $\text{SO}_2$  molecular no *headspace* com tubos colorimétricos para detecção gasosa. A análise do *headspace* possibilita a determinação da concentração de  $\text{SO}_2$  molecular e de sulfito livre no vinho, sem exigir pré-tratamento (acidificação).

O aparato para execução do método foi montado conforme se vê na Figura 1: uma seringa plástica de 60 ml conectada a um pequeno tubo de silicone por intermédio

de uma válvula. O tubo de silicone é usado para conectar o tubo colorimétrico Gastec 5Lb. O princípio de funcionamento do tubo Gastec se baseia na reação do  $\text{SO}_2$  com  $\text{BaCl}_2$  para formar  $\text{HCl}$ , cuja evolução é detectada por um indicador sensível ao pH.

**Figura 1 – Aparato utilizado para execução do método HS-GDT**



Fonte: Arquivo pessoal.

Para a análise, 10 ml de amostra de vinho são adicionados à seringa plástica e deixados por cinco minutos em temperatura ambiente, para permitir o equilíbrio entre o  $\text{SO}_2$  molecular do *headspace* e o  $\text{SO}_2$  molecular da amostra. Após o equilíbrio, a válvula é aberta e o êmbolo da seringa é pressionado para expulsar o gás do *headspace* em direção ao tubo colorimétrico. O tubo é descolorido e a concentração de  $\text{SO}_2$  em 50 ml de *headspace* é dada pelas marcações em ppm no tubo colorimétrico. Uma vez determinada a concentração de  $\text{SO}_2$  molecular no *headspace*, é possível determiná-la também na amostra de vinho.

A relação entre a concentração de  $\text{SO}_2$  molecular em solução e no *headspace* é expressa pela lei de Henry:  $VP_{\text{SO}_2} = K_H [\text{SO}_2]_m$ , em que  $VP$  é a pressão de vapor do  $\text{SO}_2$  em atm,  $K_H$  é a constante de Henry e  $[\text{SO}_2]_m$  é a concentração de  $\text{SO}_2$  molecular no vinho expressa em  $\text{mol.L}^{-1}$  (BOULTON *et al.*, 1999). A pressão de vapor depende da

concentração de  $\text{SO}_2$  no *headspace*. Se a concentração de  $\text{SO}_2$  no *headspace* é igual a 6 ppm, VP será igual a  $6 \times 10^{-6}$  atm. A constante de Henry para o  $\text{SO}_2$  é  $0,38 \text{ atm} \cdot \text{M}^{-1}$  a  $21^\circ \text{C}$ .

Após a determinação do  $\text{SO}_2$  molecular na amostra, a equação de Henderson-Hasselbach (eq. 1) é usada para determinar a concentração de sulfito livre a partir do  $\text{SO}_2$  molecular, do pH do vinho e do valor de pKa da reação de dissociação do ácido sulfuroso ( $\text{H}_2\text{SO}_3$ ) ao íon bissulfito ( $\text{HSO}_3^-$ ) (DIVOL; DU TOIT; DUCKITT, 2012).

$$[\text{SO}_2 \text{ molecular}] = \frac{[\text{SO}_2 \text{ free}]}{1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_1}} \quad (\text{eq. 1})$$

### Considerações finais

Existem vários métodos que podem ser utilizados na determinação de sulfitos em alimentos. Entretanto, os mais tradicionais são os volumétricos, devido ao baixo tempo de resposta, baixo custo e praticidade. No entanto, na determinação de sulfito livre, esses métodos falham, pois são frequentemente comprometidos pela acidificação. Principalmente no caso de vinhos tintos, que contêm alto teor de antocianinas capazes de se ligar aos sulfitos, o processo de acidificação gera resultados que não refletem uma situação real. Além da acidificação, os processos de volatilização e de titulação também provocam a dissociação de sulfito ligado a fim de se restaurar o equilíbrio, uma vez que o sulfito livre é removido da solução. Portanto, os métodos de Ripper e de aeração-oxidação geram resultados duvidosos, pois falham em sensibilidade e precisão.

A espécie molecular de sulfito ( $\text{SO}_2$ ) é especialmente importante para a ação antimicrobiana, pois é capaz de atravessar a membrana celular dos microrganismos, dissociar-se e interferir nas funções vitais da célula. Não são apresentados métodos, na literatura, para uma medição direta do  $\text{SO}_2$  molecular. Dessa forma, a concentração desse composto tem sido estimada a partir da concentração de sulfito livre ( $\text{SO}_2 + \text{HSO}_3^- + \text{SO}_3^{2-}$ ), utilizando-se a equação de Henderson-Hasselbach.

Métodos que medem sulfito livre, em amostras de alimentos e bebidas, usando medidas no *headspace* podem ser uma boa alternativa, já que as amostras não requerem pré-tratamento e, assim, não há uma perturbação do equilíbrio entre sulfito na forma livre e sulfito na forma ligada.

## Referências

ABERL, A.; COELHAN, M. Determination of sulfur dioxide in wine using headspace gas chromatography and electron capture detection. **Food Additives & Contaminants: Part A**, Abingdon, v. 30, n. 2, p. 226-233, 2013.

AOAC. Official method 990.29. Sulfite (total) in foods and beverages. Flow injection analysis method. *In*: AOAC. **Official methods of analysis of Aoac International**. 17th ed. Edited by William Horwitz. Gaithersburg: Aoac, 2000. v. II, p. 30.

AOAC. Official method 990.31. Sulfites in foods and beverages. Ion exclusion chromatographic method. *In*: AOAC. **Official methods of analysis of Aoac International**. 16th ed. Edited by Patrícia Cunniff. Arlington: Aoac, 1995. v. II, p. 33-34.

ARAÚJO, A. N. *et al.* Determination of SO<sub>2</sub> in wines using a flow injection analysis system with potentiometric detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D. C., v. 46, n. 1, p. 168-172, Jan. 1998.

ARAÚJO, C. S. T. *et al.* Determination of sulphite and acetic acid in foods by gas permeation flow injection analysis. **Food Chemistry**, v. 92, n. 4, p. 765-770, Oct. 2005.

AXELROD, H. D.; BONELLI, J. E.; LODGE JR., J. P. Fluorimetric determination of sulfur dioxide as sulfite. **Analytical Chemistry**, Washington, D. C., v. 42, n. 4, p. 512-515, Apr. 1970.

BEUTLER, H. O. A new enzymatic method for determination of sulphite in food. **Food Chemistry**, v. 15, n. 2, p. 157-164, Jan. 1984.

BOULTON, R. B. *et al.* **Principles and practices of winemaking**. New York: Kluwer, 1999.

BUECHSENSTEIN, J. W.; OUGH, C. S. SO<sub>2</sub> determination by aeration-oxidation: a comparison with Ripper. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 29, n. 3, p. 161-164, Jan. 1978.

BURROUGHS, L. F. Determining free sulfur dioxide in red wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 26, n. 1, p. 25-29, Jan. 1975.

COELHO, J. M.; HOWE, P. A.; SACKS, G. L. A headspace gas detection tube method to measure SO<sub>2</sub> in wine without disrupting SO<sub>2</sub> equilibria. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 66, n. 3, p. 257-265, Aug. 2015.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. (org.). **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da Unicamp, 2006.

DINÇKAYA, E. *et al.* Sulfite determination using sulfite oxidase biosensor based glassy carbon electrode coated with thin mercury film. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1.540-1.544, 2007.

DITTRICH, P. S.; MANZ, A. Lab-on-a-chip: microfluidics in drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, London, v. 5, n. 3, p. 210-218, Mar. 2006.

DIVOL, B.; DU TOIT, M.; DUCKITT, E. Surviving in the presence of sulphur dioxide: strategies developed by wine yeasts. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 95, n. 3, p. 601-613, June 2012.

FAVERO, D. M.; RIBEIRO, C. da S. G.; AQUINO, A. D. de. Sulfitos: importância na indústria alimentícia e seus possíveis malefícios à população. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 11-20, 2011.

FAZIO, T.; WARNER, C. R. A review of sulphites in foods: analytical methodology and reported findings. **Food Additives & Contaminants**, Abingdon, v. 7, n. 4, p. 433-454, July/Aug. 1990.

FU, L.-M. *et al.* Integrated microfluidic array chip and LED photometer system for sulfur dioxide and methanol concentration detection. **Chemical Engineer Journal**, v. 243, p. 421-427, May 2014.

GUPTA, N. A. **Study of various investigative modalities in establishing the cause of chronic urticaria**. 2012. 113 p. Dissertation (Medical Doctor Degree in Dermatology, Venereology and Leprosy) – Rajiv Gandhi University of Health Sciences, Bangalore, 2013.

HAMANO, T. *et al.* Application of gas chromatography for the separate determination of free and combined sulphites in foods. **Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, Berlin, v. 168, p. 195-199, 1979.

HASWELL, S. J. (ed.). **Atomic absorption spectrometry: theory, design and applications**. New York: Elsevier, 1991. (Series Analytical Spectroscopy Library, v. 5).

HENNINGSEN, J. Measurement of free SO<sub>2</sub> in wine with 7.4- $\mu$ m difference frequency spectrometer. **Applied Physics B: Lasers & Optics**, v. 76, p. 451-456, Apr. 2003.

JACKOWETZ, J. N.; MIRA DE ORDUÑA, R. Improved sample preparation and rapid UHPLC analysis of SO<sub>2</sub> binding carbonyls in wine by derivatisation to 2,4-dinitrophenylhydrazine. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1-4, p. 100-104, Aug. 2013.

KARUBE, I.; NOMURA, Y.; ARIKAWA, Y. Biosensors for environmental control. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 14, n. 7, p. 295-299, 1995.

LI, H.; GUO, A.; WANG, H. Mechanisms of oxidative browning of wine. **Food Chemistry**, v. 108, p. 1-13, 2008.

LI, Y.; ZHAO, M. Simple methods for rapid determination of sulfite in food products. **Food Control**, v. 17, n. 12, p. 975-980, Dec. 2006.

LÜCK, E.; JAGER, M. **Antimicrobial food additives**: characteristics, uses, effects. 2nd ed. rev. and enl. New York: Springer, 1997.

MACHADO, R. M. D.; TOLEDO, M. C. F. Sulfitos em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 9, n. 4, p. 265-275, out./dez. 2006.

MARTINS, P. R. *et al.* Fast and reliable analyses of sulphite in fruit juices using a supramolecular amperometric detector encompassing in flow gas diffusion unit. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 249-255, July 2011.

MCFEETERS, R. F.; BARISH, A. O. Sulfito analysis of fruits and vegetables by high-performance liquid chromatography (HPLC) with ultraviolet spectrophotometric detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D. C., v. 51, n. 6, p. 1.513-1.517, Feb. 2003.

MONRO, T. M. *et al.* Sensing free sulfur dioxide in wine. **Sensors**, Basel, v. 12, n. 8, p. 10.759-10.773, Aug. 2012.

PEGRAM, Z.; KWASNIEWSKI, M. T.; SACKS, G. L. Simplified method for free SO<sub>2</sub> measurement using gas detection tubes. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 64, n. 3, p. 405-410, Sept. 2013.

POPOLIM, W. D. **Análise de sulfitos em suco de frutas e estimativa do seu consumo por escolares**. 2009. 155 p. Tese (Doutorado em Nutrição Humana Aplicada) – Programa de Pós-Graduação Interunidades em Nutrição Humana Aplicada, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

PUNDIR, C. S.; RAWAL, R. Determination of sulfite with emphasis on biosensing methods: a review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, p. 3.049-3.062, Apr. 2013.



RUIZ-CAPILLAS, C.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Application of flow injection analysis for determining sulphites in food and beverages: a review. **Food Chemistry**, v. 112, n. 2, p. 487-493, Jan. 2009.

USSEGLIO-TOMASSET, L. Properties and use of sulphur dioxide. **Food Additives & Contaminants**, Abingdon, v. 9, n. 5, p. 399-404, Sept.-Oct. 2009.

VALLY, H.; KLERK, N.; THOMPSON, P. J. Alcoholic drinks: important triggers for asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, Iowa City, v. 105, n. 3, p. 462-467, Mar. 2000.

VALLY, H.; MISSO, N. L. A.; MADAN, V. Clinical effects of sulphite additives. **Clinical & Experimental Allergy**, London, v. 39, n. 1, p. 1643-1651, Nov. 2009.

ZHONG, Z. *et al.* A rapid distillation method coupled with ion chromatography for the determination of total sulphur dioxide in foods. **Food Chemistry**, v. 131, n. 3, p. 1.044-1.050, Apr. 2012.

## Capítulo 8

---

# *Oxidação lipídica em carnes e produtos cárneos: uma revisão*

Rafaela Venâncio Flores  
Tamires dos Santos Vieira  
Consuelo Domenici Roberto  
Lucas Mosquini  
Pedro Henrique Canal Panno  
Lara Pupin Calegario

### **Introdução**

A carne é um alimento importante e muito presente na dieta humana pelo fato de ser uma fonte de proteínas de alto valor biológico, de minerais e de vitaminas do complexo B. Para garantir a qualidade da carne ofertada aos consumidores, os setores que compõem a cadeia produtiva alimentícia devem estar atentos aos métodos de produção, processamento e conservação desse alimento (OLIVEIRA, 2012).

Na carne, os lipídios são os compostos que contribuem para a textura e o sabor que agradam ao paladar humano, mas eles são facilmente oxidados. A oxidação lipídica ocorre naturalmente em alimentos e origina compostos voláteis. Nesse processo, diversas alterações ocorrem e levam a: perda do valor nutricional, alterações

dos atributos sensoriais, destruição de componentes essenciais, além de, em alguns casos, formação de compostos tóxicos nos alimentos – e todos esses fatores contribuem para a rejeição do produto pelo consumidor (MILANI *et al.*, 2010; ARAÚJO, 2012). No caso da carne, a oxidação lipídica ocasiona rancidez e formação de substâncias indesejáveis, como cetonas, hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos e ácidos, o que diminui a qualidade e a vida de prateleira dos produtos cárneos (PEREIRA, 2009).

O uso de substâncias antioxidantes contribuiu para aumentar o período de conservação dos alimentos. Porém, de acordo com Ramalho e Jorge (2006), dos diversos compostos antioxidantes sugeridos para inibir a oxidação de lipídios, apenas alguns são permitidos para uso em produtos de consumo humano. Além disso, estudos envolvendo a toxicidade de antioxidantes sintéticos usados em alimentos revelaram que alguns têm potencial cancerígeno (PITARO; FIORANI; JORGE, 2012).

Nesse contexto, o uso de óleos essenciais ou extratos de plantas que contenham compostos com atividade antioxidante pode ser uma alternativa para inibir a oxidação de lipídios em carnes e produtos cárneos com segurança, como demonstram pesquisas realizadas por Juntachote e colaboradores (2006), Mielnik e colaboradores (2006), Georgantelis e colaboradores (2007), Naveena e colaboradores (2008), Ganhão, Morcuende e Estévez (2010), Devatkal, Narsaiah e Borah (2010), Banerjee e colaboradores (2012), entre outros estudiosos.

## **1. Oxidação de lipídios**

Os lipídios são grupos de compostos quimicamente diversos, solúveis em solventes orgânicos e com poucos sítios reativos na molécula. São classificados como apolares (triglicerídeos e colesterol) e polares (fosfolipídios). Aproximadamente 90 % dos lipídios em alimentos são encontrados na forma de triglicerídeos (ARAÚJO, 2012; GOMIDE; RAMOS, FONTES, 2013). Contribuem, principalmente, para textura, sabor, valor nutricional e calórico dos alimentos.

Os principais componentes dos lipídios são os ácidos graxos. Os triglicerídeos possuem cadeias lineares, contendo de catorze a 24 átomos, predominando ácidos graxos com dezesseis a dezoito átomos de carbono. Os fosfolipídios presentes nas membranas dos tecidos animais contêm até quinze vezes a quantidade de ácidos graxos

insaturados encontrada nos triglicerídeos, e esse maior número de insaturações na molécula é o que torna tais tecidos muito mais susceptíveis à oxidação (BREWER, 2011; IGENE *et al.*, 1980).

Os lipídios podem sofrer inúmeras reações que levam a mudanças em suas estruturas e comprometem o valor nutricional e os atributos sensoriais (como cor, odor, aroma, sabor e textura) dos alimentos (SOARES, 2002).

A autooxidação é uma reação química que demanda baixa energia de ativação (4-5 Cal/mol) e é bastante complexa. Inicialmente, há formação de radicais livres pela ação de fontes externas de energia, como calor, luz e radiação. Reações químicas que envolvem íons metálicos ou metaloproteínas (como o ferro do grupo heme da mioglobina) e a formação do radical peroxil (que é altamente reativo e capaz de remover átomos de hidrogênio de outros ácidos graxos) formam hidroperóxidos e também outros radicais livres (ARAÚJO, 2012; CASAROTTO, 2013; GORDON, 2001). A reação inicia-se com a remoção de um átomo de hidrogênio de um ácido graxo insaturado. Forma-se um radical alquil, termodinamicamente instável, na presença do oxigênio ou na presença de pigmentos fotossensibilizadores, pela decomposição de hidroperóxidos. A partir do radical alquil forma-se o radical peroxil. A energia elevada dos radicais peroxil formados permite que eles removam um átomo de hidrogênio de outra molécula de ácido graxo insaturado, resultando novamente na formação de hidroperóxido e de outros radicais alquil. Radicais alcoxil e hidroxil também podem dar continuidade às reações. Dessa forma, a reação de oxidação se propaga. Essas reações em cadeia cessam quando dois radicais se combinam formando uma espécie não radical, ou quando os antioxidantes reagem com os radicais formados doando átomos de hidrogênio e formando um composto peróxido-antioxidante estável (BREWER, 2011).

O hidroperóxido é o produto primário da oxidação lipídica, instável, livre de odor e não volátil e pode se decompor gerando compostos secundários da oxidação, como aldeídos, cetonas e álcoois, relacionados ao aparecimento do odor de ranço nos alimentos (CASAROTTO, 2013; BREWER, 2011). A oxidação lipídica na carne, portanto, resulta na descoloração, no gotejamento, no desenvolvimento de *off-flavours* e na produção de compostos potencialmente tóxicos (GRAY; GOMAA; BUCKLEY, 1996; MORRISSEY *et al.*, 1998). A partir do hidroperóxido gerado, formam-se produtos secundários, como o malondialdeído e os hexanos, os quais podem

ser quantificados e utilizados como indicadores de reações de oxidação em carnes e produtos cárneos (GANHÃO; MORCUENDE; ESTÉVEZ, 2010).

A reação de oxidação no tecido animal é acelerada pela presença da hemoglobina e mioglobina, devido ao grupo heme. Durante a reação catalisada pelo grupo heme, o complexo protoporfirina-Fe<sup>2+</sup> é oxidado pelo oxigênio, gerando o complexo protoporfirina-Fe<sup>3+</sup> e o íon superóxido. Forma-se, então, o oxeno (P-Fe=O), que é a forma ativa da oxidação catalisada pelo grupo hemina (Fe<sup>3+</sup>), iniciando-se a oxidação dos lipídios. O grupo heme atua, portanto, como um agente oxidante (ARAÚJO, 2012).

A oxidação de lipídios na carne pode se iniciar no período pré-abate, em consequência das alterações no metabolismo do animal decorrentes do estresse. Algumas horas após o abate, devido, em parte, à perda da circulação sanguínea, à alteração da estrutura celular com liberação de íons metálicos e à fragilidade do sistema antioxidante natural do organismo do animal, as reações de oxidação lipídica são favorecidas, principalmente dos fosfolipídios altamente insaturados presentes na membrana intracelular. Durante a manipulação, processamento, armazenamento e cozimento da carne, a oxidação lipídica se torna ainda mais significativa, em razão da presença de íons metálicos, da exposição ao oxigênio e a temperatura elevada, entre outros fatores (MORRISSEY *et al.*, 1998). As carnes, quando processadas, são mais suscetíveis à formação de radicais livres, pois a trituração, o cozimento e a adição de sal (LADIKOS; LOUGOVOIS, 1990) contribuem para a ocorrência de reações de oxidação de lipídios.

A oxidação lipídica é, assim, um processo complexo, dinâmico e, portanto, de difícil controle. O uso de antioxidantes e algumas práticas dentro da cadeia produtiva são importantes para diminuir os efeitos indesejáveis do processo oxidativo e auxiliar a conservação e a manutenção da qualidade e da segurança dos alimentos (KUFNER, 2010).

## **2. Aplicação de antioxidantes naturais em carne e produtos cárneos**

Um das alternativas empregadas para controlar as reações de oxidação que causam efeitos deletérios nos alimentos envolve a adição de agentes químicos apropriados antioxidantes, sendo as substâncias fenólicas os antioxidantes de uso mais comum

na indústria alimentícia (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Quando presentes em baixas concentrações em relação a uma substância oxidável, os antioxidantes retardam ou inibem de forma eficaz a oxidação dessa substância, por meio da inativação de radicais livres, da complexação de íons metálicos ou da redução de hidroperóxidos em produtos incapazes de formar radicais livres (ARAÚJO, 2012). Desse modo, diminuem a descoloração, a rancidez e a deterioração resultantes da oxidação lipídica e, com isso, contribuem para preservar e estender a vida útil dos alimentos (SHIRAHIGUE, 2008; SANTOS, 2009; OLIVEIRA, 2012).

O uso de aditivos com função antioxidante em produtos cárneos é bastante restrito. Apenas alguns são reconhecidos como seguros e permitidos pelo Jecfa (FAO/WHO). Para serem usados em alimentos, os antioxidantes precisam apresentar certas características, como atender a legislação em vigor do país, apresentar eficácia em baixas concentrações (0,001-0,01 %), não interferir nos atributos sensoriais do produto, ser de fácil aplicação, ter compatibilidade com o alimento, ser estável durante o processamento e armazenamento e não apresentar toxicidade mesmo em doses maiores do que a permitida (RAMALHO; JORGE, 2006; TONIOLO, 2012).

Os antioxidantes sintéticos contêm estrutura fenólica com vários graus de substitutos alquilas, sendo o hidroxitolueno butilato (BHT), o hidroxianisol butilado (BHA), a butil-hidroquinona terciária (TBHQ) e o galato de propila (GP) os mais utilizados em alimentos. No entanto, muitos desses compostos possuem potencial cancerígeno. A International Agency for Research on Cancer (Iarc) classifica as substâncias de acordo com sua atividade carcinogênica em quatro grupos: 1 – Cancerígeno para humanos; 2A – Provavelmente cancerígeno para humanos; 2B – Possivelmente cancerígeno para humanos; 3 – Não classificável quanto à sua carcinogenicidade para seres humanos. De acordo com esses parâmetros, o BHT é classificado como 3 e o BHA como 2B (IARC, 2020).

Por sua vez, os antioxidantes naturais, em geral, são compostos fenólicos, carotenoides, lactonas, polifenóis e quinonas obtidos de fontes naturais, como frutas, ervas, sementes e outros vegetais, sob a forma de extratos, e representam uma alternativa ao uso de antioxidantes sintéticos em produtos cárneos (ARAÚJO, 2012; TONIOLO, 2012; SHAH; DON BOSCO; MIR, 2014). Podem ser potencialmente viáveis para adição, em pó ou na forma líquida, em alimentos processados (TÖRRÖNEN *et al.*, 2012), e contribuir para redução da oxidação dos lipídios e,

consequentemente, para o aumento da vida de prateleira do alimento (SÁYAGO-AYERDI; BRENES; GON, 2009; KIM; CHO; HAN, 2013).

Os compostos mais estudados provenientes de plantas, frutas e condimentos quanto à sua atividade antioxidante são os carotenoides e fenólicos, incluindo carotenos, xantofilas, fenóis, ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, lignanas, entre outros (SOARES, 2002; CARDOSO *et al.*, 2010). Os carotenoides são muito empregados como corantes em diversos alimentos e também podem ser utilizados como antioxidantes por agirem como quelantes de oxigênio singlete e reagirem com radicais livres, espécies altamente reativas (FONTANA *et al.*, 2000). Por sua vez, os compostos fenólicos estão presentes na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas, originando-se do metabolismo secundário das plantas. Seu mecanismo de ação no processo oxidativo é semelhante ao dos antioxidantes sintéticos: sequestram radicais livres e interrompem a fase de propagação da oxidação por meio da doação de elétrons ou hidrogênio. Também podem operar como quelantes de metais, atuando tanto na etapa de iniciação como de propagação da oxidação (PADILHA, 2007; PIRES, 2014).

Na literatura científica, são encontrados diversos trabalhos sobre aplicação de compostos com ação antioxidante em produtos cárneos, na forma de extratos e de resíduos em pó obtidos de fontes naturais, como frutas (NAVEENA *et al.*, 2008; GANHÃO; MORCUENDE; ESTÉVEZ, 2010; DEVATKAL; NARSAIAH; BORAH, 2010; RUFINO *et al.*, 2011), especiarias (TANG *et al.*, 2001; JUNTACHOTE *et al.*, 2006; GEORGANTELIS *et al.*, 2007; BISWAS *et al.*, 2012), sementes (MIELNIK *et al.*, 2006; PEREIRA *et al.*, 2011) e vegetais (BANERJEE *et al.*, 2012; KIM; CHO; HAN, 2013).

O açaí, o cravo-da-índia, a sálvia e o urucum são exemplos de fontes vegetais cujos óleos essenciais ou extratos têm potencial promissor para aplicação como antioxidantes em carnes e produtos cárneos (NOVELLO, 2011; COSTA *et al.*, 2013; UGALDE, 2014).

O açaí é o produto extraído da parte comestível dos frutos de açazeiro (*Euterpe oleracea*) após amolecimento da polpa. Contém alto teor de lipídios e de antocianinas, as quais conferem ao açaí a coloração roxa intensa quando maduro (CASTRO, 2012). O teor de antocianinas, em base úmida, varia de 282 a 303 mg/100g. É rico também em outros compostos bioativos, como flavonoides, ácidos fenólicos, procianidina, lignanas e estilbenos – em média, na matéria seca, são encontrados 31,2 mg de ácido gálico equivalente/100g de compostos fenólicos (COSTA *et al.*, 2013). O elevado

teor de compostos fenólicos do açaí permite que ele seja empregado como fonte de antioxidantes em alimentos (RUFINO *et al.*, 2011). Em combinação com flavonoides, as antocianinas desempenham papel antioxidante e/ou antimicrobiano e contribuem para a resistência de plantas ao ataque de pragas, e a ação antioxidante se dá por meio da doação ou transferência de elétrons dos átomos de hidrogênio provenientes de sua estrutura fenólica (NOVELLO, 2011).

O cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) é uma planta arbórea, nativa das Ilhas Molucas (Arquipélago da Insulíndia, Indonésia). Apresenta forte odor aromático, sabor ardente e característico. De suas sementes é extraído o ácido eugênico, sem coloração e com sabor picante (SILVESTRI *et al.*, 2010). A substância majoritária presente em óleos essenciais de cravo é o eugenol, que possui efeito anti-inflamatório, cicatrizante, antioxidante, antimicrobiano e analgésico (SILVESTRI *et al.*, 2010; UGALDE, 2014). A atividade antioxidante desse composto está relacionada à presença do radical hidroxil ligado ao anel aromático, que o torna capaz de doar átomos de hidrogênio e, assim, estabilizar os radicais livres. Teixeira e colaboradores (2013), ao avaliarem a atividade antioxidante de óleos essenciais comerciais, identificaram uma atividade antioxidante muito forte no óleo essencial de cravo-da-índia, similar àquela encontrada em antioxidantes sintéticos como o BHT. Por seu turno, Krishnan e colaboradores (2014) atribuíram o aumento da vida de prateleira de carne de frango à atividade antioxidante de extrato de cravo-da-índia.

A sálvia, pertencente à família Lamiaceae, é reconhecida quanto à sua capacidade antioxidante, também relacionada à presença de compostos fenólicos. O óleo essencial de sálvia é obtido principalmente das folhas e em geral é extraído por arraste de vapor, com rendimento variando de 0,5 a 1,1 % (UGALDE, 2014). Os compostos que conferem atividade antioxidante à sálvia são carnosol, rosmadial, ácido carnósico, rosmanol, epirosmanol, entre outros (BRAGAGNOLO; MARIUTTI, 2009). O potencial antioxidante do extrato hidroalcoólico de sálvia foi verificado por Almeida e colaboradores (2014). Estévez e colaboradores (2007) avaliaram os efeitos do óleo essencial de sálvia e do óleo essencial de alecrim, na concentração de 0,1 %, em patê de fígado suíno armazenado a 4 °C por noventa dias e observaram redução da oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados e da formação de compostos voláteis provenientes da oxidação lipídica. Além disso, verificaram que os óleos essenciais apresentaram atividade antioxidante maior do que a do BHT.



O urucum (*Bixa orellana*) é uma espécie de arbusto originário da América Central e da América do Sul. A América Latina é o principal produtor mundial, com aproximadamente dezessete mil toneladas ao ano, das quais doze mil são de origem brasileira. O Brasil é, portanto, o maior produtor mundial de urucum, e seu cultivo é realizado em diferentes regiões do país (SANTOS; LOURENZANI; LOURENZANI, 2018). Os principais carotenoides presentes no urucum são a bixina e a norbixina, sendo a bixina o pigmento majoritário que confere atividade antioxidante ao urucum (FONTANA *et al.*, 2000; FIGUEIREDO, 2010). Em estudo realizado por Castro (2008), avaliou-se efeito antioxidante do urucum (0,4 %) durante o processamento térmico e armazenamento de hambúrgueres de peito de frango, e os resultados demonstraram que, apesar de a concentração de bixina reduzir durante o processamento térmico, o índice de oxidação lipídica dos hambúrgueres adicionados de extrato de urucum diminuiu durante o período de armazenamento de 120 dias.

Além desses, diversos outros extratos vegetais têm sido pesquisados para utilização no processamento de produtos cárneos. Por exemplo, Almeida e colaboradores (2015) avaliaram o índice de oxidação lipídica de salsichas Bolonha com adição de extrato líquido de casca de jabuticaba nas concentrações de 0,5 %, 0,75 % e 1 % durante 35 dias de armazenamento a 4 °C e observaram que as salsichas adicionadas de extratos apresentaram índice de oxidação lipídica significativamente menor quando comparadas à formulação sem adição de extrato. Por sua vez, Devatkal, Narsaiah e Borah (2010) processaram hambúrgueres de carne de cabra adicionados de extratos antioxidantes presentes na casca de tangerina, na casca de romã e na semente de romã, e verificaram que a adição dos extratos nas formulações reduziu o índice de oxidação de lipídios dos hambúrgueres quando comparados ao controle. E a adição de 0,5 % e 1 % de goiaba em pó por Verma e colaboradores (2013) em três formulações de empanados de carne ovina, como fonte de fibras e antioxidantes, resultou no aumento do rendimento, umidade, teor de cinzas, fibras e de compostos fenólicos totais, além de redução do índice de oxidação lipídica dos empanados durante quinze dias de armazenamento a 4 °C.

### **Considerações finais**

As indústrias do setor cárneo têm buscado fontes alternativas aos antioxidantes sintéticos a fim de controlar a oxidação lipídica nos produtos e impedir alterações

sensoriais, nutricionais e físico-químicas indesejáveis que possam comprometer a qualidade e segurança de carnes e derivados. Tais mudanças visam atender à crescente demanda dos consumidores por alimentos mais saudáveis e seguros.

Conforme apontado neste capítulo, há uma infinidade de substâncias naturais com potencial de aplicação em produtos cárneos para inibição da oxidação lipídica. Porém sua utilização como ingredientes precisa ser avaliada, devido não somente às alterações sensoriais, químicas e físicas que podem promover, mas também para garantir a segurança do alimento.

## Referências

ALMEIDA, J. F. *et al.* Atividade antioxidante *in vitro* e microencapsulação por *spray drying* de extrato hidroalcoólico de sálvia (*Salvia officinalis*, L.). **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Curitiba, v. 5, n. 2, p. 41-49, jan. 2014.

ALMEIDA, P. L. *et al.* Effect of jaboticaba peel extract on lipid oxidation, microbial stability and sensory properties of Bologna-type sausages during refrigerated storage. **Meat Science**, v. 110, p. 9-14, Dec. 2015.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 5. ed. Viçosa: UFV, 2012.

BANERJEE, R. *et al.* Antioxidant effects of broccoli powder extract in goat meat nuggets. **Meat Science**, v. 91, p. 179-184, June 2012.

BISWAS, A. K. *et al.* Dietary fibers as functional ingredients in meat products and their role in human health. **International Journal of Livestock Production**, v. 2, n. 4, p. 45-54, Apr. 2011.

BRAGAGNOLO, N.; MARIUTTI, L. R. B. A oxidação lipídica em carne de frango e o impacto da adição de sálvia (*Salvia officinalis*, L.) e de alho (*Allium sativum*, L.) como antioxidantes naturais. **Revista Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 1-11, abr. 2009.

BREWER, M. S. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 10, n. 4, p. 211-247, July 2011.

CARDOSO, M. L. *et al.* Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.

CASAROTTO, J. **Uso de antioxidantes naturais na preservação do estado oxidativo de salsichas**. 2013. 119 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

CASTRO, R. W. **Caracterização de açaí obtido de frutos de *Euterpe edulis Martius* tratados termicamente**. 2012. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Agrônoma) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

CASTRO, W. F. **Avaliação do efeito protetor do colorífico como antioxidante natural na oxidação lipídica em carne de frango**. 2008. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

COSTA, A. G. V. *et al.* Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 2, p. 539-549, Apr. 2013.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. (org.). **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DEVATKAL, S. D.; NARSAIAH, K.; BORAH, A. Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties. **Meat Science**, v. 85, n. 1, p. 155-159, May 2010.

ESTÉVEZ, M. *et al.* Sage and rosemary essential oils *versus* BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pâté. **LWT – Food Science and Technology**, v. 40, n. 1, p. 58-65, Jan. 2007.

FIGUEIREDO, B. C. **Estudo da adição de urucum e eritorbato de sódio sobre a oxidação lipídica em carne suína.** 2010. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

FONTANA, J. D. *et al.* Carotenoides: cores atraentes e ação biológica. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, n. 13, p. 40-45, mar./abr. 2000.

GANHÃO, R.; MORCUENDE, D.; ESTÉVEZ, M. Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: influence on colour and texture deterioration during chill storage. **Meat Science**, v. 85, n. 3, p. 402-409, 2010.

GEORGANTELIS, D. *et al.* Effect of rosemary extract, chitosan and a-tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. **Meat Science**, v. 75, n. 2, p. 256-264, 2007.

GOMIDE, L. A. de M.; RAMOS, E. M.; FONTES, P. R. **Ciência e qualidade da carne: fundamentos.** Viçosa: Editora UFV, 2013. (Série Didática).

GORDON, M. H. The development of oxidative rancidity in foods. *In*: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. (ed.). **Antioxidants in food: practical applications.** Cambridge: Woodhead, 2001. p. 7-21.

GRAY, J. I.; GOMAA, E. A.; BUCKLEY, D. J. Oxidative quality and shelf life of meats. **Meat Science**, v. 43, p. 111-123, 1996. Supplement 1.

IGENE, J. O. *et al.* Role of triglycerides and phospholipids in development of rancidity in model meat systems during frozen storage. **Food Chemistry**, v. 5, n. 4, p. 263-276, 1980.

IARC. Agents classified by the Iarc Monographs, volumes 1-125. **Iarc Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans**, 18 Feb. 2020. Disponível em: <https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>. Acesso em: 4 abr. 2020.

JUNTACHOTE, T. *et al.* The antioxidative properties of holy basil and galangal in cooked ground pork. **Meat Science**, v. 72, n. 3, p. 446-456, 2006.

KIM, S. J.; CHO, A. R.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 112-120, Jan. 2013.

KRISHNAN, K. R. *et al.* Antimicrobial and antioxidant effects of spice extracts on the shelf life extension of raw chicken meat. **International Journal of Food Microbiology**, London, v. 171, p. 32-40, Feb. 2014.

KUFNER, D. E. **Atividade antioxidante do extrato aquoso de manjerona (*Origanum majorana* L.), em linguiça frescal de frango**. 2010. 59 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto do Uruguai e das Missões, Erechim, 2010.

LADIKOS, D.; LOUGOVOIS, V. Lipid oxidation in muscle food: a review. **Food Chemistry**, v. 35, n. 4, p. 295-314, 1990.

MIELNIK, M. B. *et al.* Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold stored turkey meat. **LWT – Food Science and Technology**, v. 39, n. 3, p. 191-198, 2006.

MILANI, L. I. G. *et al.* Oxidação lipídica, características sensoriais e cor da carne de frango adicionada de extratos de caqui (*Diospyros kaki*, L.) e submetida a tratamento térmico. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 13, n. 4, p. 242-250, out./dez. 2010.

MORRISSEY, P. A. *et al.* Lipid stability in meat and meat products. **Meat Science**, v. 49, n. 1, p. 73-86, 1998.

NAVEENA, B. M. *et al.* Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. **Meat Science**, v. 80, n. 4, p. 1.304-1.308, 2008.

NOVELLO, A. A. **Extração de antocianinas dos frutos do açaí da Mata Atlântica (*Euterpe edulis* Martius) e sua atuação nas atividades antioxidante e antiaterogênica em camundongos ApoE -/-**. 2011. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) – Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

OLIVEIRA, R. R. **Utilização do ácido fítico como antioxidante natural em produtos cárneos**. 2012. Trabalho apresentado à disciplina Seminários Aplicados, no curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012. Disponível em: <https://docplayer.com.br/10477750-Utilizacao-do-acido-fitico-como-antioxidante-natural-em-produtos-carneos.html>. Acesso em: 4 maio 2020.

PADILHA, A. D. G. **Antioxidante natural de erva mate na conservação da carne de frango *in vivo***. 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

PEREIRA, A. L. F. *et al.* Antioxidant effect of mango seed extract and butylated hydroxytoluene in bologna-type mortadella during storage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 1, p. 135-140, jan./mar. 2011.

PEREIRA, M. G. **Aplicação de antioxidantes naturais em carne mecanicamente separada (CMS) de ave**. 2009. 126 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

PIRES, M. A. **Avaliação da capacidade antioxidante de extratos comerciais de alecrim e chá verde e sua influência na estabilidade de hambúrguer de frango**

**durante armazenamento congelado.** 2014. 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

PITARO, S. P.; FIORANI, L. V.; JORGE, N. Potencial antioxidante dos extratos de manjeriço (*Ocimum basilicum* Lamiaceae) e orégano (*Origanum vulgare* Lamiaceae) em óleo de soja. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 686-691, 2012.

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

RUFINO, M. do S. M. *et al.* Açaí (*Euterpe oleraceae*) ‘BRS Pará’: a tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2.100-2.106, Aug. 2011.

SANTOS, E. J. dos; LOURENZANI, W. L.; LOURENZANI, A. E. B. S. Histórico e ascensão do urucum na microrregião de Dracena – São Paulo. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, Tupã, v. 12, n. 1, p. 29-39, 2018.

SANTOS, R. D. **Compostos fenólicos de ervas *Lamiaceae* na estabilidade oxidativa da manteiga e avaliação da toxicidade de extrato de alecrim (*Rosemarinus officinalis* L.).** 2009. 97 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

SÁYAGO-AYERDI, S. G.; BRENES, A.; GON, I. Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, n. 5, p. 971-976, June 2009.

SHAH, M. A.; DON BOSCO, S. J.; MIR, S. A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, n. 98, n. 1, p. 21-33, 2014.

SHIRAHIGUE, L. D. **Caracterização química de extratos de semente e casca de uva e seus efeitos antioxidantes sobre a carne de frango processada e armazenada sob refrigeração.** 2008. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade Estadual de São Paulo, Piracicaba, 2008.

SILVESTRI, J. D. F. *et al.* Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 5, set./out. 2010.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, jan. 2002.

TANG, S. *et al.* Antioxidant effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish patties to lipid oxidation. **Food Research International**, v. 34, n. 8, p. 651-657, 2001.

TEIXEIRA, B. *et al.* Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 43, n. 1, p. 587-595, May 2013.

TONIOLO, R. **O uso de extratos vegetais para inibir a oxidação lipídica em carne suína.** 2012. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos) – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

TÖRRÖNEN, R. *et al.* Fortification of blackcurrant juice with crowberry: impact on polyphenol composition, urinary phenolic metabolites, and postprandial glycemic response in healthy subjects. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 4, p. 746-756, Oct. 2012.

UGALDE, M. L. **Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais.** 2014. 162 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de



Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2014.

VERMA, A. K. *et al.* Guava (*Psidium guajava* L.) powder as an antioxidant dietary fibre in sheep meat nuggets. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seul, v. 26, n. 6, p. 886-895, June 2013.

## Capítulo 9

---

# *Celulases produzidas por processos biotecnológicos e aplicações industriais*

Raquel Nunes Fernandes  
Raquel Vieira de Carvalho  
Meire Lelis Leal Martins  
Consuelo Domenici Roberto

### **Introdução**

A celulose é o biopolímero mais abundante na biomassa vegetal. Devido às características estruturais desse composto, a bioconversão exige condições específicas para a hidrólise completa dele. Muitos microrganismos estão envolvidos nesse processo, para o qual necessitam produzir uma diversidade de enzimas com diferentes especialidades (MARCO, 2012). A capacidade de converter substratos celulósicos insolúveis em açúcares solúveis é amplamente distribuída entre muitos grupos de fungos dentro do domínio Eukarya e em gêneros do domínio Bacteria (LYND *et al.*, 2002).

As celulases constituem um complexo multienzimático capaz de atuar sobre materiais celulósicos e promover a hidrólise deles. Tais enzimas são biocatalisadores altamente específicos que agem em sinergia para a liberação de açúcares (CASTRO; PEREIRA JR., 2010; BINOD *et al.*, 2012). De acordo com seu local de atuação

no substrato celulósico, as celulasas se dividem em três grandes grupos: as endoglucanases, que clivam ligações internas da celulose; as exoglucanases, que atuam na região externa da celulose; e as  $\beta$ -glicosidases, que hidrolisam oligossacarídeos solúveis à glicose (LYND *et al.*, 2002).

A importância das celulasas deve-se à sua ampla utilização em diversos ramos da indústria, por exemplo: em processos de extração de sucos, pigmentos, óleos vegetais, amido e alcaloides; na preparação do malte da cerveja; na indústria têxtil e de detergentes; na indústria de papel e celulose; na indústria de alimentação animal; na fabricação de etanol de segunda geração, entre outras aplicações (BHAT, 2000). Contudo, o elevado custo de produção das celulasas, bem como das demais enzimas, é o principal obstáculo para sua aplicação industrial. Entre os fatores que influenciam na produção econômica das celulasas estão: o meio ou substrato utilizado, a complexidade da estrutura da celulose, as baixas quantidades de celulasas produzidas por microrganismos celulolíticos devido à repressão catabólica, a etapa de purificação, entre outros (SRIDEVI; NARASIMBA; REDDY, 2009). A necessidade de se obter enzimas industriais de maneira economicamente viável determina a busca por substratos de baixo custo.

Uma solução bem-sucedida está no aproveitamento de resíduos agroindustriais. Em sua maioria, eles são materiais lignocelulósicos, ou seja, complexos orgânicos de carbono formados principalmente por celulose, hemicelulose e lignina (BADHAN *et al.*, 2007). São exemplos desses materiais o farelo de trigo, o bagaço de cana, a casca de arroz, as farinhas das cascas de frutas, o sabugo de milho, resíduos florestais e madeiras. No Brasil, o resíduo agroindustrial que mais se destaca pela abundância em determinadas regiões e pelo baixo custo é o bagaço de cana-de-açúcar oriundo do processamento da cana-de-açúcar para a produção de etanol e açúcar (PANDEY *et al.*, 2000; CUNHA *et al.*, 2005).

Considerando-se, portanto, o elevado teor de carboidratos presente nos resíduos agroindustriais, a utilização dessas matérias-primas como fontes de carbono no processo produtivo de enzimas se constitui como alternativa racional, pois reduz o custo de produção, além de ajudar a resolver os problemas ambientais decorrentes da eliminação desses resíduos (KUBERAN; SANGARALINGAM; ARASU, 2010). Desse modo, a tecnologia enzimática pode conciliar desenvolvimento tecnológico com utilização de matérias-primas renováveis e preservação ambiental, e isso se constitui como importante fator para a inserção do Brasil no mercado internacional

(POLITZER; BON, 2006). O mercado brasileiro de enzimas revela, de fato, grande potencial devido ao dinamismo das indústrias de alimentos, medicamentos, tecidos, papel, entre outras, e a enorme geração de resíduos agroindustriais (MUSSATTO; FERNANDES; MILAGRES, 2007).

Considerando tais potencialidades, o objetivo do capítulo é estudar a obtenção biotecnológica de celulases e as aplicações industriais dessas enzimas.

## 1. Materiais lignocelulósicos

A biomassa lignocelulósica é composta majoritariamente por celulose (32-50 %), hemicelulose (19-25 %) e lignina (23-32 %) (TAMANINI; HAULY, 2004; RABELO, 2007; SÁNCHEZ, 2009). Como componentes minoritários, também pode ocorrer a presença de compostos orgânicos chamados de extrativos (ésteres, álcoois, esteroides e outros) e inorgânicos (principalmente sulfatos, oxalatos, carbonatos e silicatos de cálcio, potássio e magnésio) (JENKINS *et al.*, 1998; PANDEY *et al.*, 2000). As proporções desses componentes químicos podem variar de espécie para espécie e também podem sofrer alterações significativas durante o ciclo de vida da planta (VASSILEV *et al.*, 2012, 2013).

A celulose é o principal componente das biomassas e caracteriza-se por ser um polímero linear composto de unidades de D-glicose. Estas são unidas por ligações glicosídicas do tipo  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4), que se formam pela condensação de duas unidades de glicose, com eliminação de uma molécula de água entre as hidroxilas dos carbonos 1 e 4 (KESHWANI, 2010). As cadeias de celulose possuem organização fibrilar, com ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares, exibindo regiões cristalinas e amorfas que ocorrem em intervalos irregulares. Nas regiões amorfas, ao contrário das regiões cristalinas, as ligações de hidrogênio ocorrem em menor grau, e essas regiões estão relacionadas à hidrólise da celulose por rota enzimática ou ácida (LEHNINGER, 1985).

As hemiceluloses correspondem a uma cadeia linear constituída por unidades de diversos açúcares, não cristalina e com massa molar média relativamente baixa (JIANG *et al.*, 2014). São compostas de pentoses ( $\beta$ -D-xilose,  $\alpha$ -L-arabinose) e hexoses ( $\beta$ -D-manose,  $\beta$ -D-glicose,  $\alpha$ -D-galactose). A cadeia principal da hemicelulose, em muitos vegetais, é constituída principalmente por unidades de xilose, ligadas por ligações

$\beta$ -1-4-glicosídicas em que os grupos hidroxila dos açúcares podem ser parcialmente substituídos por arabinose e ácidos urônicos (ácidos  $\beta$ -D-glicurônico,  $\alpha$ -D-4-O-metilglicurônico e  $\alpha$ -D-galacturônico) (EGÜÉS; ECEIZA; LABIDI, 2013). Na biomassa lignocelulósica, as hemiceluloses se encontram nos contornos das microfibrilas da celulose, conferindo um isolamento das microfibrilas diante de ataques biológicos (de enzimas ou microrganismos) e de alguns agentes químicos (PENG; SHE, 2014).

A lignina é uma macromolécula tridimensional, amorfa e altamente ramificada. Apresenta inúmeros grupos aromáticos e alifáticos, com diversos anéis fenilpropânicos substituídos, ligados por meio de diferentes tipos de ligações, como do tipo éter ou carbono-carbono (FENGEL; WEGENER, 1989; RAMIRES *et al.*, 2010). É o último componente na estrutura da célula vegetal, que envolve as microfibrilas celulósicas, para fortalecer e enrijecer a parede celular, conferindo às plantas resistência mecânica. Ela também auxilia no transporte de água e nutrientes das plantas e protege os tecidos vegetais de degradação química e biológica (FENGEL; WEGENER, 1989). Por esse motivo, a lignina é um dos interferentes na obtenção de açúcares fermentescíveis a partir da biomassa vegetal.

## **2. Enzimas: conceito, classificação e obtenção**

A tecnologia enzimática é um dos campos mais promissores na área de novas tecnologias para síntese de compostos de alto valor agregado (FERNANDES *et al.*, 2004). Depois dos antibióticos, as enzimas são os produtos mais explorados pela indústria biotecnológica, sendo empregadas em larga escala, principalmente nas indústrias de alimentos, têxtil, de papel, detergente e couro (KIRK; BORCHERT; FUGLSANG, 2002; VAN BEILEN; LI, 2002).

As enzimas são, em sua maioria, polímeros constituídos por aminoácidos ligados por ligações peptídicas covalentes que, além de formarem a base do sistema metabólico dos organismos vivos, realizam conversões biocatalíticas eficientes e mais econômicas, o que proporciona grandes oportunidades às indústrias (GODFREY; WEST, 1996).

Segundo a Comissão de Enzimas (EC) da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB), as enzimas estão classificadas em seis grandes grupos de acordo com o tipo de reação em que atuam (SHULER; KARGI, 1992). No Quadro 1, estão apresentadas as classes das enzimas e suas respectivas funções.

### *Quadro 1 – Classes e funções das enzimas*

Classes	Funções
Oxirredutases	Catalisam reações de oxidação-redução ou transferência de elétrons
Transferases	Transferem grupos funcionais, como amina, fosfato, acil e carboxil
Hidrolases	Catalisam reações de hidrólise de ligação covalente
Liases	Catalisam reações de remoção de moléculas de água, amônia e gás carbônico
Isomerases	Catalisam reações de interconversão entre isômeros óticos ou geométricos
Ligases	Catalisam reações de formação de novas moléculas a partir da ligação entre duas pré-existentes

Fonte: Lima e colaboradores (2001).

Assim como todo catalisador, as enzimas atuam diminuindo a energia requerida para a ativação de uma determinada reação, tornando, assim, mais rápida a obtenção do produto. As reações não catalisadas requerem mais energia para serem iniciadas e, por isso, sua velocidade é menor do que em reações catalisadas.

As enzimas podem ser secretadas por reações que ocorrem dentro das células (intracelulares) ou fora delas (extracelulares). As que existem em maior quantidade e são mais utilizadas industrialmente são as extracelulares, que são secretadas no ribossomo próximo à membrana celular e transferidas para fora da célula (BOURGAIZE; JEWELL; BUISER, 2000). As enzimas intracelulares, que são secretadas dentro das células e permanecem no citoplasma, são utilizadas quando não há outra forma de síntese, principalmente quando a replicação do DNA é necessária.

Embora as enzimas sejam abundantemente produzidas por plantas e animais, as de origem microbiana representam cerca de 90 % do mercado, uma vez que possuem muitas vantagens sobre as equivalentes animais e vegetais, como: ampla diversidade bioquímica, suscetibilidade à manipulação genética, menor tempo e custo de produção (LIMA, 2001). Para a produção de enzimas microbianas são utilizados, basicamente, dois tipos de processos, classificados conforme a quantidade de água no meio: fermentação em estado sólido (FES) ou em estado semissólido (FMSS) e fermentação submersa (FSM).

As FES ou FMSS se referem à cultura de microrganismos dentro de ou sobre partículas em matriz sólida (substrato) ligada a um conteúdo líquido, com um nível de atividade de água que assegure o crescimento e o metabolismo das células e, ao mesmo tempo, não exceda a máxima capacidade de ligação de água com a matriz

sólida. A umidade desses meios geralmente não ultrapassa 70 %, o que limita bastante o número de microrganismos que são capazes de se adaptar a esse processo. Os fungos, sobretudo os filamentosos, são bastante tolerantes a esse ambiente (PANDEY, 2003; COUTO; SANROMÁN, 2006).

Já as FSM são tradicionalmente utilizadas para produção de enzimas a partir de bactérias, pois há melhor controle de alguns parâmetros importantes do processo, como pH e crescimento celular, além de a recuperação de enzimas extracelulares ser facilitada (OLIVEIRA; WATANABE; RODRIGUES, 2011). A principal característica desse tipo de fermentação é a quantidade de água usada no meio de cultivo, que é superior a 95 % em relação à massa presente no meio. A maioria das enzimas comerciais é obtida por FSM, uma vez que os métodos modernos de controle de fermentação são mais facilmente adaptados, os rendimentos são maiores e os custos e riscos de contaminação menores (AGUIAR; MENEZES, 2000).

### 3. Celulases

As celulases formam um conjunto de enzimas envolvidas na degradação da celulose e que coletivamente apresentam especificidade para as ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4. São necessárias para a solubilização completa da celulose, mesmo das regiões cristalinas, existindo sinergia nesse processo (BON; GÍRIO; PEREIRA JR., 2008).

O complexo enzimático celulolítico, oriundo de microrganismos, animais e plantas, é dividido em três grupos de acordo com seu local de atuação no substrato celulósico:  $\beta$ -1,4- endoglucanases (EC 3.2.1.4),  $\beta$ -1,4-exoglucanases (EC 3.2.1.91) e  $\beta$ -glicosidases (EC 3.2.1.21) (WYMAN *et al.*, 2005; JUNG *et al.*, 2015).

As endoglucanases ou carboximetilcelulases são enzimas responsáveis por iniciar a hidrólise e promovem rápida solubilização do polímero celulósico, devido à fragmentação deste em moléculas menores. Tais enzimas hidrolisam randomicamente as regiões internas da estrutura amorfa da fibra celulósica, clivando ligações  $\beta$ -1,4 na região central da molécula e liberando oligossacarídeos e, conseqüentemente, novos terminais, um redutor e um não redutor (DIENES; EGYHÁZI; RÉCZEY, 2004).

As exoglucanases ou celobiohidrolases são responsáveis pela liberação de glicose e celobiose (dímero de glicose) a partir de extremidades da molécula de celulose (LYND; ZHANG, 2002; CASTRO; PEREIRA JR., 2010).

Já as  $\beta$ -glicosidasas são enzimas que têm a propriedade de hidrolisar a celobiose e os oligossacarídeos solúveis (com menos de sete unidades monoméricas) em glicose (OGEDA; PETRI, 2010).

As celulasas podem ser produzidas em meios quimicamente definidos utilizando-se celulose cristalina, carboximetilcelulose ou celobiose como fonte de carbono (CASTRO, 2006; CARVALHO, 2007) ou, em meios complexos, utilizando-se resíduos agrícolas e agroindustriais que podem servir como suporte e fonte de carbono (LIMING; XUELIANG, 2004; ADSUL *et al.*, 2004; MARTINS *et al.*, 2008). Além da fonte de carbono, é necessária a suplementação do meio com fontes de nitrogênio e nutrientes minerais, que irão atuar, respectivamente, no desenvolvimento do microrganismo e como cofatores enzimáticos.

Na natureza, existe um grande espectro de microrganismos que degradam a biomassa lignocelulósica (LYND *et al.*, 2002). Na produção de enzimas, como as celulasas, os microrganismos termofílicos são de particular interesse, pois as enzimas secretadas apresentam vantagens para a aplicação na indústria, visto que processos biotecnológicos conduzidos em elevadas temperaturas têm o risco de contaminação por microrganismos mesófilos significativamente reduzido (HAKI; RAKSHIT, 2003).

#### **4. Microrganismos produtores de celulasas**

As celulasas podem ser produzidas por uma variedade de microrganismos, que incluem fungos e bactérias, aeróbios e anaeróbios (LYND *et al.*, 2002).

Segundo Bon, Gírio e Pereira Jr. (2008), o microrganismo considerado ideal para um processo de produção enzimática deve apresentar as seguintes características:

- não ser patogênico;
- apresentar elevada eficiência de síntese e excreção da enzima;
- tolerar condições ambientais adversas, relacionadas com a pressão osmótica e a temperatura;
- tolerar a presença de substâncias tóxicas, que podem ser geradas pelo próprio metabolismo celular ou no processo de tratamento da matéria-prima.

Diversos microrganismos são avaliados quanto à sua capacidade de degradar substratos celulósicos em monômeros de glicose, contudo são poucos os que apresentam potencial quanto à produção de celulasas (DAS; ROYER; LEV, 2007; YU *et*



al., 2007). Apenas os organismos que produzem adequados níveis de endoglucanase, exoglucanase e  $\beta$ -glicosidase são considerados degradadores eficientes do substrato lignocelulósico (KUMAR; SINGH; SINGH, 2008).

Os fungos filamentosos parecem ser os mais promissores na produção de celulases (JECU, 2000). Suas propriedades fisiológicas e bioquímicas permitem seu crescimento em substratos sólidos e a bioconversão deles, aumentando assim a capacidade de hidrólise por esses microrganismos (SOCCOL *et al.*, 1994). Entre os produtores de celulases estão os gêneros *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Myrothecium*, *Paecilomyces*, *Penicillium* (LYND *et al.*, 2002).

Celulases bacterianas também têm sido bastante estudadas, porém muitas bactérias apresentam produção relativamente baixa de celulases, o que se explica pela falta de celobiohidrolases no sistema enzimático (MAWADZA *et al.*, 2000). Os gêneros de bactérias mais estudados são: *Acetovibrio*, *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Caldocellum*, *Clostridium*, *Erwinia*, *Eubacterium*, *Pseudonocardia*, *Ruminococcus*, *Thermoanaerobacter*, *Acidothermus*, *Bacillus*, *Celvibrio*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptomyces* e *Xanthomonas* (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002; ZHANG; HIMMEL; MIELENZ, 2006).

Muitos estudos têm dado destaque às bactérias do gênero *Bacillus*. Características como tolerância a altas temperaturas, crescimento rápido e ótima atividade enzimática fazem com que espécies desse gênero tenham alcançado espaço no mercado, principalmente nos processos de biorremediação e uso em detergentes. Entre as que possuem potencial celulolítico estão: *Bacillus brevis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus sphaericus* e *Bacillus licheniformis* (SINGH; KUMAR, 1998; SINGH; BATRA; SOBTI, 2004; SHABEB *et al.*, 2010; AYGAN; KARCIOGLU; ARIKAN, 2011).

## 5. Aplicações industriais das celulases

As celulases têm mostrado um enorme potencial biotecnológico, pois podem ser usadas com diversas finalidades, como na degradação de materiais lignocelulósicos e na desintoxicação de resíduos agroindustriais (EL-SERSY *et al.*, 2010; NARAIAN *et al.*, 2010). Entre as enzimas utilizadas em biotecnologia, as celulases têm atraído maior interesse devido à variedade de aplicações industriais que permitem, com destaque, por exemplo, para a fabricação de bebidas (cerveja, vinhos e sucos), tecidos, papéis e biocombustíveis.

Na produção da cerveja, a utilização de hidrolases ocorre durante a maltagem e a fermentação. Na indústria de vinhos, os principais benefícios dessas enzimas ocorrem em três etapas da produção: na maceração da pele da uva, na filtração e na clarificação da bebida (BHAT, 2000). E, na indústria de sucos, as celulases auxiliam no processo de extração do suco da fruta: clarificam o suco e alteram a viscosidade dele, aumentando a taxa de filtração e a estabilidade do produto final.

As celulases são muito empregadas na indústria têxtil devido à sua capacidade de modificar a fibra de celulose de forma controlada, o que aumenta a qualidade dos tecidos. São utilizadas também nos processos de fiação, tingimento e acabamento. Quando utilizadas em detergentes, as celulases melhoram o desempenho destes, pois permitem a remoção de pequenas fibrilas difusas do tecido conferindo-lhe brilho e maciez (BHAT, 2000).

Por sua vez, a indústria de polpa celulósica e papel utiliza as celulases misturadas com as hemicelulases para melhorar a drenagem e a execução de máquinas de papel, e também o destino de fibras recicladas (CAO; TAN, 2002).

E, na indústria de biocombustíveis, as celulases estão presentes durante a hidrólise da celulose, liberando os açúcares e facilitando, assim, o processo de fermentação e posterior formação do bioetanol (LIMAYEN; RICKE, 2012).

A aplicação industrial de enzimas, como as celulases, pode ser dificultada devido à restrita quantidade produzida por alguns microrganismos, além dos custos dos substratos utilizados no cultivo. Estima-se que cerca de 30 a 40 % do custo envolvido na produção de enzimas esteja relacionado ao meio de cultivo utilizado para o crescimento do microrganismo. Na maioria dos casos, a adoção de métodos simples, como a utilização de um meio de cultivo específico e otimizado, pode aumentar significativamente o rendimento enzimático e reduzir os custos de produção (KUMAR; TAKAGI, 1999; JOO; CHANG, 2005). Por conseguinte, estudar a escolha dos componentes do meio de cultivo e do microrganismo é essencial para o sucesso do processo fermentativo e da viabilidade econômica dessa produção, porque nem sempre o meio que permite o melhor desenvolvimento da cultura favorece a formação das enzimas. A produção ótima e os parâmetros que afetam a síntese enzimática devem ser investigados constantemente, pois as condições ótimas variam para os diferentes microrganismos, assim como para diferentes enzimas (SANTOS *et al.*, 2005).

## Considerações finais

A biotecnologia vem conquistando um lugar de destaque no desenvolvimento tecnológico mundial, exibindo características econômicas e operacionais que permitem a ela, em muitos casos, substituir métodos químicos tradicionais. O emprego de processos biotecnológicos permite a produção de um grande número de metabólitos de interesse industrial, como enzimas, as quais podem ser obtidas inclusive a partir do aproveitamento de resíduos agroindustriais, abundantes no Brasil.

As celulasas são enzimas que têm atraído uma crescente atenção devido ao seu potencial de uso em diversas aplicações, de modo que constantemente têm sido desenvolvidos estudos de avaliação da capacidade celulolítica de microrganismos diante de diferentes substratos e condições de cultivo, além da caracterização das enzimas celulolíticas secretadas. Tal interesse fomenta a otimização do processo produtivo de enzimas por via biotecnológica, que, por sua vez, vai ao encontro das necessidades da indústria, principalmente no que diz respeito à minimização de custos.

## Referências

ADSUL, M. G. *et al.* Polysaccharides from bagasse: applications in cellulase and xylanase production. **Carbohydrate Polymers**, v. 57, n. 1, p. 67-72, Aug. 2004.

AGUIAR, C. L.; MENEZES, T. J. B. Produção de celulasas e xilanases por *Aspergillus niger* IZ-9 usando fermentação submersa sobre bagaço de cana-de-açúcar. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 18, n. 1, p. 57-70, jan./jun. 2000.

AYGAN, A.; KARCIOGLU, L.; ARIKAN, B. Alkaline thermostable and halophilic endoglucanase from *Bacillus licheniformis* C108. **African Journal of Biotechnology**, Abuja, v. 10, p. 789-796, 2011.

BADHAN, A. K. *et al.* Production of multiple xylanolytic and cellulolytic enzymes by thermophilic fungus *Myceliophthora* sp. IMI 387099. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 3, p. 504-510, Feb. 2007.

BHAT, M. K. Cellulases and related enzymes in biotechnology. **Biotechnology Advances**, v. 18, n. 5, p. 355-383, Aug. 2000.

BINOD, P. *et al.* High temperature pretreatment and hydrolysis of cotton stalk for producing sugars for bioethanol production. **Fuel**, v. 92, n. 1, p. 340-345, Feb. 2012.

BON, E. P. S.; GÍRIO, F.; PEREIRA JR., N. Enzimas na produção de etanol. *In*: BON, E. P. S.; FERRARA, M. A.; CORVO, M. L. (ed.). **Enzimas em biotecnologia: produção, aplicações e mercado**. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. p. 241-271.

BOURGAIZE, D.; JEWELL, T. R.; BUISER, R. G. **Biotechnology: demystifying the concepts**. San Francisco: Benjamin Cummings, 2000.

CAO, Y.; TAN, H. Effects of cellulase on the modification of cellulose. **Carbohydrate Research**, v. 337, n. 14, p. 1.291-1.296, Aug. 2002.

CARVALHO, M. L. A. **Otimização da produção de celulases por *Penicillium funiculosum* em fermentação submersa**. 2007. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

CASTRO, A. M. **Produção e propriedades de celulases de fungos filamentosos, obtidas a partir de celulignina de bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.)**. 2006. 212 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

CASTRO, A. M.; PEREIRA JR., N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.

COUTO, S. R.; SANROMÁN, M. Á. Application of solid-state fermentation to food industry – a review. **Journal of Food Engineering**, v. 76, n. 3, p. 291-302, Oct. 2006.

CUNHA, M. A. A. *et al.* Uso de células imobilizadas em gel de PVA: uma nova estratégia para a produção de xilitol a partir do bagaço de cana-de-açúcar. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 61-70, jan./mar. 2005.

DAS, M.; ROYER, T. V.; LEV, L. G. Diversity of fungi, bacteria, and actinomycetes on leaves decomposing in a stream. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D. C., v. 73, n. 3, p. 756-767, Feb. 2007.

DIENES, D.; EGYHÁZI, A.; RÉCZEY, K. Treatment of recycled fiber with *Trichoderma* cellulases. **Industrial Crops and Products**, v. 20, n. 1, p. 11-21, July 2004.

EGÜÉS, I.; ECEIZA, A.; LABIDI, J. Effect of different hemicelluloses characteristics on film forming properties. **Industrial Crops and Products**, v. 47, p. 331-338, May 2013.

EL-SERSY, N. A. *et al.* Optimization, economization and characterization of cellulose produced by marine *Streptomyces ruber*. **African Journal of Biotechnology**, Abuja, v. 9, n. 38, p. 6.355-6.364, Sept. 2010.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions**. Berlin: De Gruyter, 1989.

FERNANDES, M. L. M. *et al.* Hydrolysis and synthesis reactions catalysed by *Thermomyces lanuginosa* lipase in AOT/Isooctane reversed micellar system. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 30, n. 1, p. 43-49, July 2004.

GODFREY, T.; WEST, S. Introduction to industrial enzymology. *In*: GODFREY, T.; WEST, S. (ed.). **Industrial enzymology: the application of enzymes in industry**. 2nd ed. London: Macmillan, 1996. p. 120-138.

HAKI, G. D.; RAKSHIT, S. K. Developments in industrially important thermostable enzymes. Review. **Bioresource Technology**, v. 89, n. 1, p. 17-34, Aug. 2003.

JECU, L. Solid state fermentation of agricultural wastes for endoglucanase production. **Industrial Crops and Products**, v. 11, n. 1, p. 1-5, Jan. 2000.

JENKINS, B. M. *et al.* Combustion properties of biomass. **Fuel Processing Technology**, v. 54, n. 1-3, p. 17-46, Mar. 1998.

JIANG, H. *et al.* Efficient extraction and characterization of polymeric hemicelluloses from hybrid poplar. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 1.005-1.012, Jan. 2014.

JOO, H. S.; CHANG, C. S. Production of protease from a new alkalophilic *Bacillus* sp. I-312 grow on soybean meal: optimization and some properties. **Process Biochemistry**, London, v. 40, n. 3-4, p. 1.263-1.270, Mar. 2005.

JUNG, Y. R. *et al.* Cellulolytic enzymes produced by a newly isolated soil fungus *Penicillium* sp. TG2 with potential for use in cellulosic ethanol production. **Renewable Energy**, v. 76, p. 66-71, 2015.

KESHWANI, D. R. Biomass chemistry. *In*: CHENG, J. (ed.). **Biomass to renewable energy processes**. Boca Raton: CRC, 2010. p. 7-41.

KIRK, O.; BORCHERT, T. V.; FUGLSANG, C. C. Industrial enzyme applications. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 13, n. 4, p. 345- 351, Aug. 2002.

KUBERAN, T.; SANGARALINGAM, S.; ARASU, S. T. Isolation and optimization of protease producing *Bacteria* from halophilic soil. **Journal of Biosciences Research**, Bangalore, v. 1, n. 3, p. 163-174, 2010.

KUMAR, R.; SINGH, S.; SINGH, O. V. Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Fairfax, v. 35, n. 5, p. 377-391, Mar. 2008.

KUMAR, C. G.; TAKAGI, H. Microbial alkaline proteases: from a bioindustrial viewpoint. **Biotechnology Advances**, v. 17, n. 7, p. 561-594, Dec. 1999.

LEHNINGER, A. L. **Biochemistry**: the molecular basis of cell structure and function. New York: Worth, 1985.

LIMA, U. A. *et al.* **Biotecnologia industrial**: processos fermentativos e enzimáticos. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. v. 3.

LIMAYEN, A.; RICKE, S. C. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: current perspectives, potential issues and future prospect. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 38, n. 4, p. 449-467, Aug. 2012.

LIMING, X.; XUELIANG, S. High-yield cellulose production by *Trichoderma reesei* ZU-02 corn cob residue. **Bioresource Technology**, v. 91, n. 3, p. 259-262, Feb. 2004.

LYND, L. R. *et al.* Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, D. C., v. 66, n. 3, p. 506-577, Sept. 2002.

LYND, L. R.; ZHANG, Y. H. Quantitative determination of cellulase concentration as distinct from cell concentration in studies of microbial cellulose utilization: analytical framework and methodological approach. **Biotechnology and Bioengineering**, Hoboken, v. 77, n. 4, p. 467-475, Feb. 2002.

MARCO, E. G. **Produção e caracterização de celulases produzidas por um isolado de *Bacillus* sp.** 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

MARTINS, L. F. *et al.* Comparison of *Penicillium echinulatum* and *Trichoderma reesei* cellulases in relation to their activity against various cellulosic substrates. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 5, p. 1417-1424, Mar. 2008.

MAWADZA, C. *et al.* Purification and characterization of cellulases produced by two *Bacillus* strains. **Journal of Biotechnology**, v. 83, n. 3, p. 177-187, Oct. 2000.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora Ufla, 2002.

MUSSATTO, S. I.; FERNANDES, M.; MILAGRES, A. M. F. Enzimas: poderosa ferramenta na indústria. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 242, p. 28-33, Out. 2007.

NARAIAN, R. *et al.* Studies on in vitro degradability of mixed crude enzyme extracts produced from *Pleurotus* spp. **Journal of Environmental Biology**, Lucknow, v. 31, n. 6, p. 945-951, Nov. 2010.

NELSON, D. L.; COX, M. M. (ed.). **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 7, p. 1.549-1.558, July 2010.

OLIVEIRA, A. C. D.; WATANABE, F. M. F.; RODRIGUES, M. L. F. Comparação entre fermentação no estado sólido e fermentação submersa para produção de  $\alpha$ -amilases por *Penicillium* sp. e caracterização da enzima. **Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde**, Curitiba, v. 1, p. 43-54, 2011.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, n. 2-3, p. 81-84, Mar. 2003.



PANDEY, A. *et al.* Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, n. 1, p. 69-80, Aug. 2000.

PENG, P.; SHE, D. Isolation, structural characterization, and potential applications of hemicelluloses from bamboo: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 112, p. 701-720, July 2014.

POLITZER, K.; BON, E. P. S. (coord.). **Enzimas industriais e especiais**. Rio de Janeiro: CGEE/IQ/UFRJ/FUJB, 2006. Disponível em: [https://www.redetec.org.br/wp-content/uploads/2015/02/tr03\\_enzimas.pdf](https://www.redetec.org.br/wp-content/uploads/2015/02/tr03_enzimas.pdf). Acesso em: 6 maio 2020.

RABELO, S. C. **Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar**. 2007. 150 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

RAMIRES, E. C. *et al.* Biobased composites from glyoxal-phenolic resins and sisal fibers. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 6, p. 1.998-2.006, Mar. 2010.

SÁNCHEZ, C. Lignocellulosic residues: diodegradation and bioconversion by fungi. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 2, p. 185-194, Mar./Apr. 2009.

SANTOS, S. F. de M. *et al.* **Caracterização do resíduo seco do pedúnculo de caju para obtenção de pectinases por fermentação semi-sólida**. 2005. Trabalho apresentado no XV Simpósio Nacional de Bioprocessos, Recife, ago. 2005.

SHABEB, M. S. A. *et al.* Production of cellulase in low cost medium by *Bacillus subtilis* KO strain. **Word Applied Sciences Journal**, Dubai, v. 8, n. 1, p. 35-42, 2010.

SHULER, M. L.; KARGI, F. **Bioprocess engineering – basic concepts**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1992. (Prentice-Hall International Series in the Physical and Chemical Engineering Sciences).

SINGH, J.; BATRA, N.; SOBTI, R. C. Purification and characterization of alkaline cellulase produced by a novel isolated, *Bacillus sphaericus* JS1. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 31, p. 51-56, 2004.

SINGH, V. K.; KUMAR, A. Production and purification of an extracellular cellulose from *Bacillus brevis* VS-1. **Biochemistry and Molecular Biology International**, Samford, v. 45, n. 3, p. 443-452, July 1998.

SOCCOL, C. R. *et al.* Breeding and growth of *Rhizopus* in raw cassava by solid state fermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 41, n. 3, p. 330-336, May 1994.

SRIDEVI, A.; NARASIMBA, G.; REDDY, B. R. Production of cellulases by *Aspergillus niger* on natural and pretreated lignocellulosic wastes. **The Internet Journal of Microbiology**, Saskatoon, v. 7, n. 1, p. 233-237, Jan. 2009.

TAMANINI, C.; HAULY, M. C. O. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 4, p. 315-330, out./dez. 2004.

VAN BEILEN, J. B.; LI, Z. Enzyme technology: an overview. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 14, n. 4, p. 338-344, Aug. 2002.

VASSILEV, S. V. *et al.* An overview of the composition and application of biomass ash. Part 1. Phase-mineral and chemical composition and classification. **Fuel**, v. 105, p. 40-76, Mar. 2013.

VASSILEV, S. V. *et al.* An overview of the organic and inorganic phase composition of biomass. **Fuel**, v. 94, p. 1- 33, Apr. 2012.

WYMAN, C. E. *et al.* Hydrolysis of cellulose and hemicellulose. *In*: DUMITRIU, S. (ed.). **Polysaccharides: structural diversity and functional versatility**. 2nd ed. Boca Raton: CRC, 2005. p. 995-1.034.

YU, E. K. C.; SADDLER, J. N. Biomass conversion to butanediol by simultaneous saccharification and fermentation. **Trends in Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 100-104, Apr. 1985.

YU, H. *et al.* Microbial community succession and lignocelluloses degradation during agricultural waste composting. **Biodegradation**, v. 18, n. 6, p. 793-802, Dec. 2007.

ZHANG, Y.-H. P.; HIMMEL, M. E.; MIELENZ, J. R. Outlook for cellulase improvement: screening and selection strategies. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 5, p. 452-481, Sept./Oct. 2006.

## Capítulo 10

---

# *Proteases extraídas de fontes vegetais aplicadas no amaciamento da carne*

Consuelo Domenici Roberto  
Raquel Vieira de Carvalho  
Pamela Lemos Cruz  
Rafaela Venâncio Flores  
Pedro Henrique Canal Panno

### **Introdução**

De acordo com o Decreto n. 9.013, de 29 de março de 2017, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento:

Art. 276. Carnes são as massas musculares e os demais tecidos que as acompanham, incluída ou não a base óssea correspondente, procedentes das diferentes espécies animais, julgadas aptas para o consumo pela inspeção veterinária oficial [...].

Art. 277. Carcaças são as massas musculares e os ossos do animal abatido, tecnicamente preparado, desprovido de cabeça, órgãos e vísceras torácicas e abdominais, respeitadas as particularidades de cada espécie (BRASIL, 2017).

Em termos gerais, na carne predomina o tecido muscular esquelético estriado, seguido do tecido conjuntivo propriamente dito e do tecido adiposo. Os tecidos ósseo, epitelial e nervoso também estão associados ao músculo. Entre os seus componentes, o tecido muscular contém enzimas capazes de degradar as proteínas que compõem as fibras musculares e promover o afrouxamento do tecido conectivo (FEINER, 2006), resultando em maior grau de maciez da carne.

A maciez da carne é uma característica de qualidade importante que influencia a aceitação do produto pelo consumidor. Está relacionada à facilidade de penetração dos dentes na carne, à facilidade com que a carne se fragmenta e à quantidade de resíduo que permanece na boca após a mastigação (LAWRIE, 2005). Em razão da complexidade de músculos e tecidos associados que compõem a carne, a maciez pode ser influenciada por uma grande variedade de fatores, entre eles idade e sexo do animal, localização do músculo, tipo e tamanho do feixe de fibras musculares (número e diâmetro das fibras) e quantidade de tecido conectivo (perimísio) que envolve o músculo (RAMOS; GOMIDE, 2009).

O amaciamento da carne por degradação enzimática é um processo natural, porém complexo: envolve uma série de reações que ocorrem após a sangria do animal. No período *post mortem*, devido ao *rigor mortis*, o músculo apresenta primeiramente um enrijecimento máximo seguido pelo amaciamento devido à degradação enzimática das proteínas miofibrilares por ação de enzimas proteolíticas, caracterizando a resolução do *rigor mortis*. Essas proteases estão naturalmente presentes no músculo, e a degradação enzimática é atribuída, principalmente, à atividade de catepsinas e calpaínas.

O processo de amaciamento da carne utilizando-se enzimas extraídas de diferentes fontes, como as proteases de origem vegetal, é comum, e as mais utilizadas são a papaína, a bromelina e a ficina. Estudos demonstram que as proteases de outras espécies vegetais, como a actinidina, extraída do kiwi, e a zingibaína, extraída do gengibre, são capazes de hidrolisar proteínas miofibrilares e colágeno e, com isso, também podem contribuir para o amaciamento da carne.

A seguir, serão estudadas a estrutura do tecido muscular esquelético e a atividade proteolítica de enzimas no músculo, com destaque para as proteases extraídas de fontes vegetais aplicadas no amaciamento de carne.

## 1. Estrutura do tecido muscular esquelético

O tecido muscular esquelético estriado é altamente estruturado e composto, principalmente, de fibras musculares (75 a 92 %), tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e tecido nervoso. Dependendo de suas localização e função no corpo do animal, os músculos diferem no conteúdo e distribuição de tecido conectivo e no comprimento, diâmetro e tipo das fibras musculares (REALINI *et al.*, 2013).

### 1.1. Fibras musculares

As fibras musculares esqueléticas são células longas, afiladas e polinucleadas, cuja membrana citoplasmática denomina-se sarcolema. O sarcolema envolve o sarcoplasma, que é o citoplasma da célula muscular. Neste, encontram-se dispersas as miofibrilas, que são as organelas típicas das fibras musculares.

As miofibrilas são estruturas cilíndricas, compridas e delgadas, orientadas no sentido longitudinal e que podem se estender de uma extremidade à outra da fibra muscular. São compostas por miofilamentos finos e grossos dispostos longitudinalmente e organizados em distribuição simétrica e paralela (LAWRIE, 2005; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Em termos gerais, as miofibrilas são constituídas de proteínas contráteis (actina e miosina), reguladoras da contração muscular (tropomiosina e troponina), e de proteínas citoesqueléticas (actininas, proteína M, proteína C, nebulina, desmina e titina), responsáveis pela estrutura e organização espacial da organela (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

Os miofilamentos finos são constituídos predominantemente de monômeros de actina G, que se polimerizam formando os filamentos de actina F. Cada miofilamento fino contém cerca de quatrocentas moléculas de actina. Os miofilamentos grossos, constituídos de miosina, contém cerca de duzentas a trezentas moléculas de miosina (PUOLANNE; HALONEN, 2010). O arranjo e a sobreposição entre os miofilamentos finos e grossos são responsáveis pela formação de regiões claras (banda I) e regiões escuras (banda A) ao longo da fibra muscular, que conferem a aparência estriada do músculo esquelético e determinam a estrutura dos sarcômeros.

Os sarcômeros representam as unidades funcionais das miofibrilas associadas ao ciclo de contração e relaxamento muscular e são formados por uma banda A (composta por miofilamentos tanto finos quanto grossos, alinhados paralelamente e sobrepostos ao longo do eixo longitudinal da fibra muscular) e por duas metades de banda I (composta apenas por miofilamentos finos, também alinhados paralela e longitudinalmente na fibra muscular). A banda I é dividida ao meio por uma linha transversal denominada linha ou disco Z, que delimita o sarcômero (LAWRIE, 2005; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA 2010; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

No sarcoplasma também são encontrados: as mitocôndrias, organelas associadas à síntese de ATP e localizadas próximas aos núcleos e às placas motoras terminais nas junções mioneurais; e os lisossomos, pequenas vesículas que contêm enzimas proteolíticas, como as catepsinas, cuja atividade enzimática é capaz de promover a hidrólise de proteínas que constituem a fibra muscular e o tecido conectivo. Os núcleos, em geral, estão localizados logo abaixo do sarcolema. O retículo sarcoplasmático é uma organela formada por um sistema de canais e cisternas, delimitada por membranas, que se estende por todo o sarcoplasma e forma uma rede ao redor de cada miofibrila. O retículo sarcoplasmático divide-se em quatro subunidades (triades, cisternas terminais, colar fenestrado e túbulos longitudinais) e está envolvido no ciclo de contração e relaxamento muscular (LAWRIE, 2005; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

### *1.1.1. Proteínas miofibrilares*

As proteínas miofibrilares possuem solubilidade em solução salina (0,4 a 1,5 M) e representam cerca de 60 % das proteínas do músculo, e a actina e a miosina são as mais abundantes entre elas (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

A actina corresponde a 20 % do total das proteínas miofibrilares. O monômero de actina, chamado de actina globular ou actina G, é uma cadeia única de polipeptídeos que se polimeriza formando a actina F. A molécula de actina (actina G) contém 375 resíduos de aminoácidos e massa molecular de 41-42 kDa. Constitui-se de resíduos de aminoácidos carregados negativamente (ácido aspártico e ácido glutâmico), e somente a lisina com carga positiva. Duas moléculas de actina F se enovelam assumindo a forma helicoidal característica do miofilamento fino (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; PUOLANNE; HALONEN, 2010; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

A miosina corresponde a 45 % do total das proteínas miofibrilares, sendo, assim, a mais abundante do músculo. Sua molécula é constituída por seis subunidades e duas cadeias pesadas (meromiosina pesada) cujas massas moleculares variam entre 200 e 220 kDa, e por quatro cadeias leves (meromiosinas leves) com massas moleculares variando entre 16 e 20 kDa (LAWRIE, 2005).

A molécula de miosina tipo II encontrada no músculo estriado esquelético tem aproximadamente 4.500 resíduos de aminoácidos e um peso molecular de 500 kDa. Possui a região de cabeça e pescoço (meromiosina pesada) e uma cauda (meromiosina leve). A cauda é composta de duas cadeias polipeptídicas que apresentam uma conformação em  $\alpha$ -hélice e se entrelaçam em espiral; tem 1.094 aminoácidos, sendo muitos deles resíduos alifáticos, resíduos apolares (leucina, valina, alanina), alguns carregados negativamente e poucos carregados positivamente (arginina e lisina); e tem alta densidade de aminoácidos carregados agrupados na superfície externa da molécula e abarca a maior parte da carga líquida da miosina. A molécula de miosina possui duas cabeças: a da região S1 contém a sub-região N-terminal, que possui o sítio de ligação com a molécula de ATP; e a da sub-região central possui capacidade de se ligar à molécula de actina (PUOLANNE; HALONEN, 2010).

### *1.2. Tecido conectivo*

No músculo, as fibras musculares encontram-se agrupadas paralelamente e formam um feixe de fibras. O tecido conectivo recobre tanto as fibras musculares e os feixes de fibra quanto o músculo como um todo e é composto pelas proteínas estromais, que representam cerca de 10 a 15 % das proteínas do músculo. Seus principais componentes são colágeno, elastina e reticulina (LAWRIE, 2005; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

O tecido conectivo que envolve todo o músculo denomina-se epimísio. O perimísio envolve os feixes de fibras musculares no interior do músculo, e a partir do perimísio forma-se uma fina rede de tecido conectivo que envolve cada fibra muscular e é chamada de endomísio. Imediatamente abaixo do endomísio encontra-se o sarcolema que envolve cada fibra muscular. Essa estrutura forma uma rede contínua em contato com fibras nervosas e vasos sanguíneos que penetram no interior do músculo e assim possibilita o transporte de nutrientes, trocas metabólicas, transmissão de estímulos nervosos originados do sistema nervoso central, além de suprimento



vascular para o interior e o exterior do músculo. O epimísio, o perimísio e o endomísio se misturam com agregados massivos do tecido conectivo (tendões) e estes se ligam aos ossos (LAWRIE, 2005). Por ser naturalmente resistente, a malha formada pelo tecido conectivo tem importância na maciez da carne: quanto maior a quantidade e resistência desse tecido, mais dura será a carne (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

O colágeno é a principal proteína estrutural do tecido conectivo, constituindo o epimísio, perimísio e endomísio, e a mais abundante do corpo animal. Sua unidade fundamental é chamada protocógeno, composto por três cadeias de polipeptídeos entrelaçados em formato helicoidal, formando uma molécula linear (LAWRIE, 2005; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

As moléculas de tropocolágeno agregam-se para formar as fibras de colágeno. Sob microscopia eletrônica, o padrão de bandas se repete em intervalos de aproximadamente 67 nm (LAWRIE, 2005).

O colágeno associado ao músculo é diferenciado nos tipos I, II e V, classificados como fibrosos, nos quais as moléculas se encontram em arranjos alinhados lado a lado. Em geral, os colágenos contêm cerca de 33 % de glicina, 12 % de prolina, 11 % de alanina, 10 % de hidroxiprolina, 1 % de hidroxilisina e baixas quantidades de aminoácidos polares e carregados. A sequência característica de aminoácidos do colágeno determina o dobramento e a conformação da molécula. A glicina está presente no início de cada trio, seguida normalmente de um resíduo de prolina. Desse modo, uma cadeia  $\alpha$ -polipeptídica extensa é constituída, gerando uma hélice única, superficial e levógira. No colágeno tipo I, três cadeias  $\alpha$  se organizam em uma tripla hélice espiral dextrógira, formando a molécula de tropocolágeno (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A principal contribuição do colágeno para a dureza da carne está relacionada com a quantidade e a estabilidade das ligações cruzadas inter e intramusculares entre suas fibras. Forma ligações cruzadas entre suas moléculas, tornando-as relativamente insolúveis e de alta força de tensão, o que influencia na maciez da carne. O número de ligações cruzadas termoestáveis tende a aumentar com a idade do animal ou em razão da maior atividade física, resultando em carnes mais duras. Embora o conteúdo total de colágeno não esteja intimamente relacionado às diferenças de maciez que ocorrem com a idade do animal, está associado às diferenças de maciez entre os músculos (RAMOS; GOMIDE, 2009; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

## 2. Atividade proteolítica de enzimas no músculo

A maciez da carne resulta da degradação das proteínas que constituem as fibras musculares e do conseqüente afrouxamento do tecido conectivo, especialmente do colágeno (FEINER, 2006).

Após sangria e morte do animal, ocorre uma série de processos de natureza bioquímica no músculo que alteram suas características e resultam na conversão do músculo em carne. Com o esgotamento das reservas energéticas do músculo e a queda do pH muscular, ocorre uma contração intensa e irreversível, que caracteriza o *rigor mortis*. No estabelecimento do *rigor mortis*, as moléculas de actina e miosina se combinam formando o complexo actomiosina e ocorre o enrijecimento muscular decorrente do encurtamento do sarcômero. Em razão da atividade de enzimas naturalmente presentes no músculo, essa rigidez se desfaz após um período, caracterizando a resolução do *rigor mortis*, que resulta no amaciamento natural ao final do processo de maturação da carne.

Algumas alterações ocorrem durante a fase resolução do *rigor mortis*, tais como: afrouxamento ou degradação da linha Z; degradação da desmina, que leva à fragmentação das miofibrilas, provavelmente devido à ruptura das ligações transversas entre as miofibrilas; degradação da titina, cujos filamentos unem os miofilamentos de actina e miosina ao longo do comprimento da linha M até a linha Z; degradação da nebulina; desaparecimento da troponina T e aparecimento simultâneo de polipeptídeos com peso molecular de 28-32 kDa; formação de peptídeos com peso molecular de 95 kDa, indicando proteólise. Não são observadas muitas alterações nas moléculas de actina e miosina (KOOHMARAIE, 1994).

Além do amaciamento natural da carne, é comum a aplicação de enzimas proteolíticas extraídas de fontes vegetais ou de origem microbiana capazes de hidrolisar proteínas miofibrilares e colágeno, conforme descrito nos estudos realizados por Thompson, Wolf e Allen (1973), Naveena, Mendiratta e Anjaneyulu (2004), Ladeira (2009), Weiss e colaboradores (2010), Ha e colaboradores (2013) e Abdel-Naeem e Mohamed (2016).

As proteases são hidrolases classificadas em dois grupos principais. As exopeptidases iniciam o processo de degradação a partir das extremidades amino (N) ou carboxi-terminal (C) das proteínas, produzindo pequenos peptídeos ou mesmo

aminoácidos. As endopeptidases clivam a proteína-alvo na sua parte interna, produzindo peptídeos maiores. São empregadas em processos industriais, como no amaciamento da carne, especialmente a bovina, por possuírem a capacidade de hidrolisar proteínas do tecido conectivo e das fibras musculares (LADEIRA, 2009).

### *2.1. Proteases endógenas*

As catepsinas (proteases ácidas) e as calpaínas (proteases neutras) são os complexos enzimáticos, naturalmente presentes no músculo, mais estudados no amaciamento da carne. Estão associadas à degradação das proteínas que conferem a estrutura e a organização espacial das miofibrilas.

As catepsinas formam um complexo enzimático no qual estão envolvidas mais de vinte enzimas. As cisteína-proteases presentes no interior dos lisossomos da fibra muscular são liberadas após a queda do pH muscular no *rigor mortis*, resultando no rompimento da membrana dos lisossomos. A atividade máxima das catepsinas é observada em valores de pH menor que 6 e atuam na degradação da linha Z, das troponinas e da proteína C, deteriorando lentamente a tropomiosina, a nebulina e a  $\alpha$ -actinina. Exercem também atividade sobre as ligações cruzadas de colágeno durante a maturação (LAWRIE, 2005; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013).

No trabalho de revisão de Lage e colaboradores (2009) são descritos dados de pesquisas que indicam que a atividade ótima da calpaína *in vitro* ocorre em temperaturas entre 10 e 25 °C e pH neutro, sendo que para a  $\mu$ -calpaína a concentração de cálcio deve ser entre 50-100  $\mu$ m, e para a m-calpaína, entre 1-2 mM. Sua atividade mínima ocorre a 5 °C e pH 5,5 em músculos de bovinos.

Bowker e colaboradores (2010) relataram pesquisas que demonstram que a atividade ótima da calpaína ocorre em pH 7,5 a 25 °C, mas que ainda foi detectada em pH 5. No estudo realizado por Geesink e Koohmaraie (1999) com carne bovina, observou-se que o processo de amaciamento se inicia em pH próximo de 6,3, aproximadamente seis horas após abate do animal, quando a  $\mu$ -calpaína é ativada em baixas concentrações do íon cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Já a m-calpaína apresentou atividade ótima na faixa de pH de 6,5 a 8 e 1 a 2 mM de  $\text{Ca}^{2+}$  e atividade mínima a 5 °C e pH 5,5, condições encontradas nas carcaças entre 24 e 48 horas *post mortem*.

## 2.2. Proteases extraídas de fontes vegetais aplicadas no amaciamento da carne

As proteases de origem vegetal são amplamente utilizadas na indústria de alimentos no amaciamento da carne, na clarificação de suco e cerveja, em processos fermentativos, no processamento de massas na indústria de panificação e na fabricação de queijos (LADEIRA, 2009).

A papaína, presente no mamão (*Carica papaya* e *Vasconcella cundinamarcencis*), e a bromelina, extraída de plantas da família Bromeliaceae, entre as quais o abacaxi é mais conhecido, são exemplos de cisteína-proteases comumente aplicadas no amaciamento de carnes. Porém essas enzimas não possuem especificidade para proteínas presentes na carne e, apesar de contribuírem para seu amaciamento, alteram significativamente a textura do produto (WEISS *et al.*, 2010).

A atividade proteolítica de outras enzimas de origem vegetal, como a actinidina, extraída do kiwi (*Actinidia deliciosa*), e a zingibaína, extraída do rizoma de gengibre (*Zingiber officinale roscoe*), foi relatada por Thompson, Wolf e Allen (1973), Naveena, Mendiratta e Anjaneyulu (2004), Ha e colaboradores (2013) e Abdel-Naeem e Mohamed (2016). Tais descobertas indicam o potencial de aplicação dessas proteases na hidrólise de proteínas miofibrilares e do tecido conectivo.

A atividade caseinolítica e colagenolítica da papaína, da bromelina, da zingibaína e da actinidina foi determinada no estudo realizado por Ha e colaboradores (2012). A atividade proteolítica na caseína foi avaliada na faixa de pH de 4,5 a 9. Verificou-se que a atividade máxima da papaína, da bromelina e da zingibaína ocorreu em temperaturas relativamente altas (> 55 °C) nas condições do ensaio. Já a actinidina apresentou atividade máxima a 45 °C. Em relação ao pH, as atividades máximas foram entre 7 e 8 para a papaína; 5 e 6 para a bromelina; 4,5 e 5,5 para actinidina; e entre 6,5 e 7 para zingibaína. Foi observada atividade proteolítica da caseína na faixa de pH de 5 a 6, que corresponde geralmente à faixa de variação de pH da carne (5,5 a 6), indicando potencial de aplicação dessas proteases no amaciamento da carne. Na caracterização da atividade proteolítica dessas proteases comerciais no colágeno, foram observadas diferenças significativas na capacidade de hidrólise das enzimas, de acordo com a sequência: zingibaína > bromelina > papaína > actinidina. Para todas as enzimas a atividade proteolítica foi maior na primeira hora de incubação, porém a zingibaína mostrou aumento gradual da atividade enzimática durante as três primeiras horas.

A papaína (EC 3.4.22.2) é uma protease obtida do látex do mamão (*Carica papaya*), classificada como cisteína-protease com atividade ótima a 65 °C, pH entre 5 e 7 e temperatura de desnaturação entre 80 e 90 °C. Possui massa molecular de 23,4 kDa e maior atividade em proteínas miofibrilares. Cliva aminoácidos básicos ou aqueles resíduos de aminoácidos que têm longas cadeias hidrofóbicas (PAYNE, 2009).

Bromelina é o nome genérico dado ao conjunto de enzimas proteolíticas encontradas nos vegetais da família Bromeliaceae. As enzimas proteolíticas encontradas nos talos recebem o nome de bromelina do talo (EC 3.4.22.4), e as encontradas no fruto são chamadas de bromelina do fruto (EC 3.4.22.5). A bromelina (EC 3.4.22.32) extraída do caule do abacaxizeiro (*Ananas comosus* ou *Ananas bracteatus*) é uma cisteína-protease (20 a 33,2 kDa) com atividade máxima a 65 °C, pH entre 5 e 9 e temperatura de desnaturação entre 70 e 75 °C. Possui maior atividade proteolítica sobre as fibras do colágeno (PAYNE, 2009).

A ficina (EC 3.4.22.3), massa molecular de 25 a 26 kDa, é uma cisteína-protease isolada do látex de espécies de figos (*Ficus glabrata*) composta por diferentes endopeptidases. Essas enzimas clivam preferencialmente proteínas contendo resíduos de tirosina e fenilalanina. Sua temperatura de inativação é 70 °C e a atividade máxima se dá a 65 °C em pH entre 5 e 7.

A actinidina (EC 3.4.22.14) é uma sulfidril-protease derivada do fruto e da casca do kiwi (*Actinidai chinesis*). Possui massa molecular entre 23-26 kDa, atividade máxima entre 58 e 62 °C e pH entre 5 e 9, temperatura de desnaturação de 60 °C e atividade proteolítica sobre as fibras do colágeno (PAYNE, 2009).

A atividade proteolítica da zingibaína extraída do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) na hidrólise do colágeno e outras proteínas do tecido conectivo de carne de ovinos foi relatada por Thompson, Wolf e Allen (1973). A atividade máxima ocorreu a 60 °C e temperatura de desnaturação acima de 70 °C. Por sua vez, Nafi e colaboradores (2014) classificaram a zingibaína como uma cisteína-protease com atividade máxima a 60 °C e pH entre 6 e 8.

Na caracterização da atividade proteolítica da papaína, da bromelina, da zingibaína e da actinidina nas proteínas miofibrilares e do colágeno da carne, Ha e colaboradores (2012) utilizaram como substrato o extrato de colágeno extraído do tendão de bovino. Todas as proteases foram capazes de hidrolisar o extrato de colágeno, porém houve variação do tipo de colágeno hidrolisado resultante.

Ha e colaboradores (2012) verificaram que, em extrato de proteínas miofibrilares (contendo meromiosina pesada em maior quantidade, proteína C,  $\alpha$ -actinina,  $\alpha$  e  $\beta$ -tropomiosina, troponina T, meromiosina leve, troponina I e troponina C), a actinidina foi capaz de hidrolisar diferentes proteínas, como o complexo actomiosina (223 e 42 kDa) e a linha Z associada a nebulina e titina (650 a 3200 kDa),  $\alpha$ -actinina (100 kDa), filamina (280 kDa) e desmina (53 kDa). Entretanto, a actinidina apresentou menor atividade em relação às demais proteases testadas no estudo. A papaína, bromelina e zingibaína apresentaram perfil similar de hidrólise, sendo mais eficientes na hidrólise de algumas proteínas, como o complexo actomiosina, titina e nebulina. As bandas de proteína da meromiosina pesada (223 kDa) e da actina (42 kDa) foram hidrolisadas a uma taxa significativa; já as bandas da proteína C (140 kDa),  $\alpha$ -actinina (90 kDa), tropomiosinas (35 kDa) e troponinas I e C (22 e 17,8 kDa) permaneceram inalteradas. Os autores concluíram que a zingibaína parece apresentar maior eficácia na hidrólise de proteínas do tecido conjuntivo de carne e que a actinidina é mais eficiente na hidrólise das proteínas miofibrilares, sugerindo que as duas enzimas podem ter potencial de protease para aplicação no amaciamento da carne.

### **Considerações finais**

A carne é um alimento amplamente consumido por razões nutricionais, como fonte de proteína, e seus atributos sensoriais de sabor e maciez são importantes na avaliação e aceitação do produto pelo consumidor.

O processo de amaciamento da carne ocorre naturalmente por ação de proteases endógenas, porém a aplicação de enzimas exógenas já é prática comum, principalmente as extraídas de vegetais, como a papaína e bromelina. A capacidade de enzimas extraídas de outras fontes vegetais, como o kiwi e o gengibre, de hidrolisarem proteínas miofibrilares e do tecido conectivo tem sido comprovada e obtido resultados promissores no amaciamento de carnes.

O desenvolvimento de preparações de enzimas proteolíticas com alta atividade, com especificidade e estabilidade ao pH, temperatura, íons metálicos e concentrações salinas representa uma alternativa para melhorar a qualidade da carne.

## Referências

ABDEL-NAEEM, H. H. S; MOHAMED, H M. H. Improving the physico-chemical and sensory characteristics of camel meat burger patties using ginger extract and papain. **Meat Science**, v. 118, p. 52-60, Aug. 2016.

BOWKER, B. C. *et al.* Aging/tenderization mechanisms. *In*: TOLDRÁ, F. (ed.). **Handbook of meat processing**. Ames: Willey-Blackwell, 2010. p. 87-104.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Dispõe sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, que disciplina a fiscalização e a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, instituídas pela Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e pela Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989. Brasília, 2017. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/2017/decreto-9013-29-marco-2017-784536-publicacaooriginal-152253-pe.html>. Acesso em: 4 jun. 2020.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. (org.). **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

FEINER, G. **Meat products handbook: practical science and technology**. Cambridge: Woodhead, 2006.

GEESINK , G. H.; KOOHMARAIE, M. Effect of calpastatin on degradation of myofibrillar proteins by  $\mu$ -calpain under postmortem conditions. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. 10, p. 2.685-2.692, Oct. 1999.

GOMIDE, L. A. M.; RAMOS, E. M.; FONTES, P. R. **Ciência e qualidade da carne: fundamentos**. Viçosa: Editora UFV, 2013.

HA, M. *et al.* Characterisation of commercial papain, bromelain, actinidin and zingibain protease preparations and their activities toward meat proteins. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 95-105, Sept. 2012.

HA, M. *et al.* Characterisation of kiwifruit and asparagus enzyme extracts and their activities toward meat proteins. **Food Chemistry**, v. 136, n. 2, p. 989-998, Jan. 2013.

KOOHMARAIE, M. Muscle proteinases and meat aging. **Meat Science**, v. 36, n. 1-2, p. 93-104, 1994.

LADEIRA, S. A. **Otimização de um meio de cultura para a produção de proteases por *Bacillus sp.* SMIA-2 e propriedades da enzima.** 2009. 65 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2009.

LAGE, J. F. *et al.* Papel do sistema calpaína-calpastatina sobre a proteólise muscular e sua relação com a maciez da carne em bovinos de corte. **Redvet: Revista Electronica de Veterinaria**, Málaga, v. 10, n. 12, p. 1-19, dic. 2009.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne.** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

NAFI, A. *et al.* Partial characterization of an enzymatic extract from bentong ginger (*Zingiber officinale* var. Bentong). **Molecules**, Basel, v. 19, n. 8, p. 12.336-12.348, Aug. 2014.

NAVEENA, B. M.; MENDIRATTA, S. K.; ANJANEYULU, A. S. R. Tenderization of buffalo meat using plant proteases from *Cucumis trigonus* Roxb (Kachri) and *Zingiber officinale roscoe* (Ginger rhizome). **Meat Science**, v. 68, n. 3, p. 363-369, Nov. 2004.

PAYNE, C. T. Enzymes. In: TARTÉ, R. (ed.). **Ingredients in meat products: properties, functionality and applications.** New York: Springer, 2009. p. 173-198.

PUOLANNE, E.; HALONEN, M. Theoretical aspects of water-holding in meat. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 151-165, Sept. 2010.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes:** fundamentos e metodologias. 1. reimp. Viçosa: Editora UFV, 2009.



REALINI, C. E. *et al.* Characterization of longissimus thoracis, semitendinosus and masseter muscles and relationships with technological quality in pigs. 1. Microscopic analysis of muscles. **Meat Science**, v. 94, n. 1, p. 408-416, July 2013.

THOMPSON, E. H.; WOLF, I. D.; ALLEN, C. E. Ginger rhizome: a new source of proteolytic. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 38, n. 4, p. 652-655, May 1973.

WEISS, J. *et al.* Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 196-213, Sept. 2010.

## Capítulo 11

---

# *A germinação de sementes na qualidade nutricional*

Talita Miranda Vidon  
Mateus da Silva Junqueira  
Neuza Maria Brunoro Costa

### **Introdução**

A prática da germinação de grãos surgiu há mais de dois mil anos com os povos essênios que viviam na região de Qumran, perto do Mar Morto. Esses povos eram cultos, mantinham práticas de arte, culinária e agricultura, eram vegetarianos crudivoristas. Eles usavam a germinação do trigo e do gergelim para o preparo de seus alimentos e, desde então, a cultura da germinação como forma de alimento foi se disseminando pelo mundo (GONZALEZ, 2008).

As sementes germinadas, assim como seus brotos, são alimentos classificados como biogênicos, segundo sua vitalidade. No estágio de germinação, as sementes se encontram em uma etapa vital de transformação, em que deixam seu estado de latência e germinam como forma de perpetuação de sua espécie (TRUCOM, 2012). Condições ambientais mínimas são necessárias para “o despertar” dessas sementes, como umidade, temperatura e nutrientes adequados (GARCÍA-AGUSTÍN; PRIMO-MILLO, 1993; SANGRONIS; MACHADO, 2007).

Assim como o descascamento, a maceração e o cozimento, a germinação é um método utilizado para melhoria da qualidade nutricional dos alimentos, principalmente de leguminosas e cereais (KHOKHAR; CHAUHAN, 1986; BARAM-PAMA; SIMARD, 1994, 1995). E, por ser uma alternativa simples e econômica, o uso de alimentos germinados tem se difundido crescentemente nas últimas décadas (KOEHLER *et al.*, 2007; MOONGNGARM; SAETUNG, 2010), contribuindo para o aumento do consumo de alimentos mais saudáveis e para o combate às deficiências nutricionais de populações.

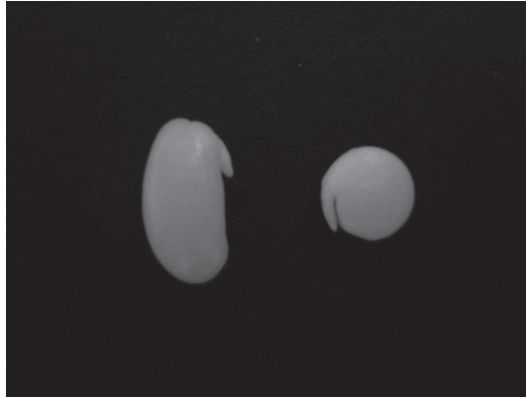
Neste capítulo, serão descritos o processo de germinação de sementes e seus efeitos sobre a composição química e a qualidade nutricional dos alimentos.

## **1. O processo de germinação**

A germinação é um processo bioquímico complexo que ocorre nas sementes. É uma ação biológica que ocorre naturalmente em todas as plantas superiores, como forma de perpetuação da espécie (KOEHLER *et al.*, 2007).

Para o processo de germinação acontecer, é necessário, inicialmente, imergir os grãos em água. Esse é, portanto, o primeiro passo para despertar as sementes do seu estado de dormência (HEMALATHA; PLATEL; SRINIVASAN, 2007). O tempo de imersão dependerá da variedade do grão (LESTIENNE *et al.*, 2005). Durante a imersão, ocorre a fase de ativação metabólica, que inicia processos metabólicos pré-germinativos, em que enzimas se tornam ativadas e promovem a intensa digestão das reservas (carboidratos, proteínas, lipídeos e demais compostos) da semente. Essa fase é marcada principalmente pela protusão da radícula (Figura 1) (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

**Figura 1 – Sementes de feijão e lentilha (sem tegumento\*) com 12 horas de germinação**



\* Início da germinação, ainda não houve o rompimento do tegumento pela radícula.

Fonte: Arquivo dos autores.

Com a ativação metabólica, a semente deixa sua fase de latência e passa ao crescimento do embrião, com o subsequente rompimento do tegumento pela radícula (Figura 2).

**Figura 2 – Sementes de feijão e lentilha (com tegumento\*) com 24 horas de germinação**

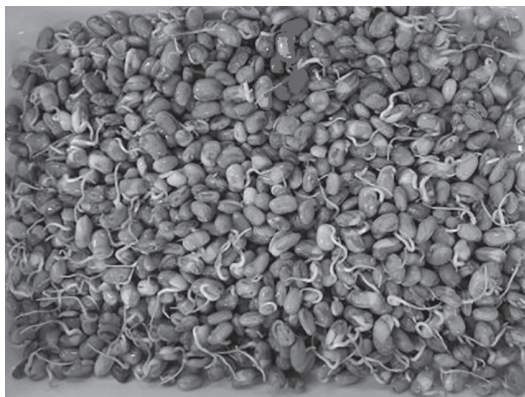


\* Rompimento do tegumento pela radícula.

Fonte: Arquivo dos autores.

Após a emissão da plântula e da radícula, inicia-se o crescimento e desenvolvimento da planta (Figura 3), para o futuro crescimento da raiz (GARCÍA-AGUSTÍN; PRIMO-MILLO, 1993; SANGRONIS; MACHADO, 2007).

**Figura 3 – Grãos de feijão com 48 horas de germinação\***



\* Radícula desenvolvendo-se.

Fonte: Arquivo dos autores.

## **2. Efeito da germinação na composição química e qualidade nutricional**

A germinação representa a retomada do ciclo de vida do grão, o que se inicia com a absorção de água pelas sementes, do que decorre uma série de reações bioquímicas (OLIVEIRA *et al.*, 2012) que contribuem para a redução de fatores antinutricionais e potencialização das propriedades nutricionais (AGUILERA *et al.*, 2013) e funcionais (SWIECA *et al.*, 2012) do grão. Essas modificações podem variar dependendo da espécie do vegetal, da qualidade da semente e das condições de germinação como tempo, temperatura e umidade (BAU *et al.*, 1997; DHALIWAL; AGGARWAL, 1999).

Diversos estudos têm demonstrado os benefícios de sementes germinadas para alimentação humana, pois elas são uma excelente fonte de compostos bioativos (DONKOR *et al.*, 2012; LÓPEZ *et al.*, 2013) e antioxidantes (SWIECA *et al.*, 2012). Martinez (2011) demonstrou que, com o prolongamento do tempo de germinação, entre 72 e 96 horas, a atividade antioxidante e o teor de clorofila e carotenoides aumentam. O processo de germinação também altera a composição fenólica,

devido à ação de enzimas endógenas e ao metabolismo que ocorre durante o brotamento (MARTINEZ, 2011).

Outra consequência da germinação são as mudanças na composição centesimal dos grãos. Há relatos de melhoria na qualidade nutricional de proteínas (CARPENTER *et al.*, 1989; WONGSIRI; OHSHIMA; DUANGMAL, 2015) devido à biossíntese que acontece durante a germinação (SATTAR *et al.*, 1989; VENDERSTOEP, 1981). Além disso, há aumento nos teores de certos aminoácidos, em função da hidrólise de proteínas existentes nas sementes pelas enzimas sintetizadas durante o processo indutor da germinação (CARPENTER *et al.*, 1989; WONGSIRI; OHSHIMA; DUANGMAL, 2015). Os carboidratos são hidrolisados em açúcares simples (GLI; TEKRONY, 1997), que diminuem ao passar do tempo graças à sua utilização como fonte de energia, especialmente, para o início da germinação e para emissão da plântula e da radícula (MARERO *et al.*, 1990; BAU *et al.*, 1997).

A germinação também tem demonstrado mudanças positivas na composição de fibras alimentares totais (HUNG *et al.*, 2012; DUEÑAS *et al.*, 2016), fibras insolúveis (BERNI; CANNIATTI-BRAZACA, 2011; DUEÑAS *et al.*, 2016) e fibras solúveis (CHANG *et al.*, 2006; MARTÍN-CABREJAS *et al.*, 2008; BERNI; CANNIATTI-BRAZACA, 2011), como consequência, principalmente, do aumento da síntese de celulose devido às reações metabólicas sofridas pelas sementes durante a germinação (DUEÑAS *et al.*, 2016).

### *2.1. Fatores antinutricionais*

O processo germinativo afeta o conteúdo dos fatores antinutricionais presentes nas sementes e promove a redução de compostos que interferem na disponibilidade do alimento e diminuem a absorção de vitaminas, minerais e proteínas, por exemplo. Com tal redução, os nutrientes se tornam mais bioacessíveis para serem absorvidos pelo organismo (PROM-U-THAI *et al.*, 2006; GHAVIDEL; PRAKASH, 2007; WEI *et al.*, 2013).

Os fatores antinutricionais, como ácido fítico (DUHAN; KHETARPAUL; BISHNOI, 2004; BERNI; CANNIATTI-BRAZACA, 2011), inibidores da protease, polifenóis e taninos, estão presentes sobretudo em leguminosas (CAMACHO *et al.*, 1992; MIRANDA; EL-DASH, 2002). Ghavidel e Prakash (2007) demonstraram uma diminuição significativa nos teores de ácido fítico e tanino com a germinação, chegando a

47-52 % e 43-52 % de redução, respectivamente. Estudos têm demonstrado que a diminuição nos teores de taninos pode ser explicada pela oxidação de polifenóis durante a germinação, levando à hidrólise enzimática destes (SANGRONIS; MACHADO, 2007; GHAVIDEL; PRAKASH, 2007). O ácido fítico é acumulado durante a maturação das sementes e atua como fonte de fósforo e cátions para o crescimento delas. A redução do ácido fítico se dá pelo aumento da atividade da enzima fitase, que gera como produto de sua hidrólise o fosfato inositol, nutriente utilizado no processo de germinação (REDDY, 2002; PRAZERES; FERREIRA; AOYAMA, 2004; SANGRONIS; MACHADO, 2007). Outro fator que contribui para a diminuição de taninos e ácido fítico seria a lixiviação desses compostos para a água, como consequência do processo de imersão dos grãos nesse líquido (LESTIENNE *et al.*, 2005).

No Quadro 1 estão resumidos os resultados de alguns estudos recentes que avaliaram o efeito do processo de germinação nas características nutricionais das sementes.

**Quadro 1 – Grãos e sementes germinadas: efeitos nas características nutricionais**

Matéria-prima	Tempo de imersão	Temperatura de germinação	Tempo de germinação	Efeitos	Referência
Diferentes variedades de feijão	12 h	32 a 38 °C	48, 96 e 144 h	Diminuição do teor de ácido fítico; aumento de polifenóis e minerais com o prolongamento do tempo de germinação	Chopra e Sankhala (2004)
Arroz; painço; grão-de-bico; feijão	16 h	25 °C	24 e 48 h	Melhor biodisponibilidade <i>in vitro</i> de ferro e redução do teor de taninos em ambas as temperaturas	Hemalatha, Platel e Srinivasan (2007)
Feijão-branco; feijão-preto; feijão-guandu	5 h	25 °C	120 h	Redução nos teores de ácido fítico e taninos e aumento significativo na digestibilidade da proteína <i>in vitro</i>	Sangronis e Machado (2007)
Feijão	8 h	24 °C	72 e 96 h	Aumento no conteúdo de minerais e da atividade antioxidante em ambas as temperaturas	Martinez (2011)
Feijão e lentilha	6 h	20 °C	168 h	Aumento de fibra dietética insolúvel e totais e aumento na capacidade antioxidante	Dueñas e colaboradores (2016)

Fonte: Elaboração própria.

É notória a diversidade de metodologias utilizadas na germinação de sementes para alimentação humana. Há variação no tempo de imersão, na temperatura e no tempo de germinação, porém as melhorias na qualidade nutricional do alimento já são significativas mesmo no início da germinação.

### **Considerações finais**

A germinação de sementes para fins alimentícios vem sendo difundida como forma de processamento nas últimas décadas, por ser um método de simples e econômico que contribui para melhoria da qualidade nutricional dos alimentos, com a diminuição de fatores antinutricionais e o aumento da biodisponibilidade de nutrientes, graças às reações bioquímicas que ocorrem no processo de germinação. Com isso, o consumo de alimentos germinados se configura como alternativa benéfica para compor a alimentação de populações, principalmente daquelas em risco nutricional, uma vez que a torna mais saudável e completa.

Nesta pesquisa verificou-se que a aplicação tende a ser voltada principalmente para leguminosas, o que, todavia, não impede a realização de estudos com outras sementes. A germinação pode ainda ser associada à tecnologia de alimentos, visando à qualidade fitoquímica e nutricional de produtos alimentícios industrializados.

### **Referências**

AGUILERA, Y. *et al.* Changes in non-nutritional factors and antioxidant activity during germination of nonconventional legumes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D. C., v. 61, n. 34, p. 8.120-8.125, Aug. 2013.

BARAMPAMA, Z.; SIMARD, R. E. Effects of soaking, cooking and fermentation on composition *in vitro* starch digestibility and nutritive value of common beans. **Plant Foods For Human Nutrition**, Dordrecht, v. 48, n. 4, p. 349-365, Dec. 1995.



BARAMPAMA, Z.; SIMARD, R. E. Oligosaccharides, antinutritional factors, and protein digestibility of dry beans as affected by processing. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 4, p. 833-838, 1994.

BAU, H. M. *et al.* Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 73, n. 1, p. 1-9, Jan. 1997.

BERNI, P. R. A.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Efeito da germinação e da sanitização sobre a composição centesimal, teor de fibras alimentares, fitato, taninos e disponibilidade de minerais em trigo. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 22, n. 3, p. 407-420, 2011.

CAMACHO, L. *et al.* Nutritional changes caused by germination of legumes commonly eaten in Chile. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 42, n. 3, p. 283-290, sept. 1992.

CARPENTER, K. J. *et al.* The estimation of 'available lysine' in human foods by three chemical procedures. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 39, n. 1, p. 129-135, Mar. 1989.

CHANG, H. L. *et al.* Effects of raw, cooked and germinated small black soybean powders on dietary fibre content and gastrointestinal functions. **Food Science and Biotechnology**, v. 15, n. 4, p. 635-638, 2006.

CHOPRA, S.; SANKHALA, A. Effect of soaking and sprouting on tannin, phytate and in vitro iron in underutilized legumes-horse gram (*Dolichos biflorus*) and moth bean (*Phaseolus aconitifolius*). **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 41, n. 5, p. 547-550, Sept. 2004.

DHALIWAL, Y.; AGGARWAL, R. Composition of fat in soybeans as affected by duration of germination and drying temperature. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 36, n. 3, p. 266-267, May 1999.

DONKOR, O. N. *et al.* Germinated grains – sources of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 950-959, Dec. 2012.

DUEÑAS, M. *et al.* Impact of cooking and germination on phenolic composition and dietary fibre fractions in dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and lentils (*Lens culinaris* L.). **LWT – Food Science and Technology**, v. 66, p. 72-78, Mar. 2016.

DUHAN, A.; KHETARPAUL, N.; BISHNOI, S. HCl-extractability of zinc and copper as affected by soaking, dehulling, cooking and germination of high yielding pigeon pea cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, n. 5, p. 597-604, Oct. 2004.

EGLI, D. B.; TEKRONY, D. M. Species differences in seed water status during seed maturation and germination. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 7, n. 1, p. 3-12, 1997.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004.

GARCÍA-AGUSTÍN, P.; PRIMO-MILLO, A. Germinación de las semillas. *In*: AZCÓN-BIETO, J.; TALÓN, M. (coord.). **Fisiología y bioquímica vegetal**. Madrid: McGraw-Hill, 1993. p. 419-433.

GHAVIDEL, R. A.; PRAKASH, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. **LWT – Food Science and Technology**, v. 40, n. 7, p. 1.292-1.299, Sept. 2007.

GONZALEZ, A. P. **Lugar de médico é na cozinha**. 2. ed. São Paulo: Alaúde, 2008.

HEMALATHA, S.; PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. Influence of germination and fermentation on bioaccessibility of zinc and iron from food grains. **European Journal of Clinical Nutrition**, Berlin, v. 61, n. 3, p. 342-348, Mar. 2007.

HUNG, P. V. *et al.* Effects of germination on nutritional composition of waxy wheat. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 92, n. 3, p. 667-672, Feb. 2012.

KHOKHAR, S.; CHAUHAN, B. M. Antinutritional factors in moth bean (*Vigna aconitifolia*): varietal differences and effects of methods of domestic processing and cooking. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 51, n. 3, p. 591-594, May 1986.

KOEHLER, P. *et al.* Changes of folates, dietary fiber, and proteins in wheat as affected by germination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D. C., v. 55, n. 12, p. 4.678-4.683, June 2007.

LESTIENNE, I. *et al.* Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. **Food Chemistry**, v. 89, n. 3, p. 421-425, Jan. 2005.

LÓPEZ, A. *et al.* Effect of cooking and germination on phenolic composition and biological properties of dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 547-555, May 2013.

MARERO, L. M. *et al.* Maltooligosaccharide composition of flours, weaning foods, and gruels prepared from germinated rice, corn, mungbean, and cowpea. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, Tokyo, v. 36, n. 1, p. 55-64, Feb. 1990.

MARTÍN-CABREJAS, M. A. *et al.* Influence of germination on the soluble carbohydrates and dietary fibre fractions in non-conventional legumes. **Food Chemistry**, v. 107, n. 3, p. 1.045-1.052, Apr. 2008.

MARTINEZ, A. P. C. *et al.* Alterações químicas em grãos de soja com a germinação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 1, p. 23-30, jan./mar. 2011.

MIRANDA, M. Z.; EL-DASH, A. Farinha integral de trigo germinado. 3. características nutricionais e estabilidade ao armazenamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3, p. 216-223, set./dez. 2002.

MOONGNGARM, A.; SAETUNG, N. Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 782-788, Oct. 2010.

OLIVEIRA, L. O. *et al.* Mobilization of reserve proteins and activities of cysteine peptidases during germinative and post-germinative events of cowpea seeds. **Protein & Peptide Letters**, Sharjah, v. 19, n. 12, p. 1.281-1.288, Dec. 2012.

PRAZERES, J. N. dos; FERREIRA, C. V.; AOYAMA, H. Acid phosphatase activities during the germination of *Glycine max* seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, n. 1, p. 15-20, Feb. 2004.

PROM-U-THAI, C. *et al.* Iron (Fe) bioavailability and the distribution of anti-Fe nutrition biochemicals in the unpolished, polished grain and bran fraction of five rice genotypes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 86, n. 8, p. 1.209-1.215, June 2006.

REDDY, N. R. Occurrence, distribution, content, and dietary intake of phytate. *In*: REDDY, N. R.; SATHE, S. K. (ed.). **Food phytates**. Boca Raton: CRC, 2002. p. 25-51.

SANGRONIS, E.; MACHADO, C. J. Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. **LWT – Food Science and Technology**, v. 40, n. 1, p. 116-120, Jan. 2007.

SATTAR, A. *et al.* Effect of soaking and germination temperatures on selected nutrients and antinutrients in mungbean. **Food Chemistry**, v. 34, n. 2, p. 111-120, 1989.

SWIECA, M. *et al.* Impact of germination time and type of illumination on the antioxidant compounds and antioxidant capacity of *Lens culinaris* sprouts. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 140, n. 1, p. 87-95, June 2012.

TRUCOM, C. **De bem com a natureza**: cuidando do seu filho com a alimentação viva. São Paulo: Alaúde, 2012.

VENDERSTOEP, J. Effect of germination on the nutritive value of legumes. **Food Technology**, Chicago, v. 35, n. 3, p. 83-85, Mar. 1981.

WEI, Y. *et al.* Effect of ferrous sulfate fortification in germinated brown rice on seed iron concentration and bioavailability. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2-3, p. 1.952-1.958, June 2013.

WONGSIRI, S.; OHSHIMA, T.; DUANGMAL, K. Chemical composition, amino acid profile and antioxidant activities of germinated mung beans (*Vigna radiata*). **Journal of Food Processing and Preservation**, London, v. 39, n. 6, p. 1.956-1.964, Feb. 2015.

## Capítulo 12

---

# *Culturas alimentares biofortificadas*

Priscila Brigide  
Talita Miranda Vidon  
Maria das Graças Vaz Tostes  
Neuza Maria Brunoro Costa

### **Introdução**

A deficiência em micronutrientes atinge mais de três bilhões de pessoas, de todos os níveis socioeconômicos, sobretudo em países menos desenvolvidos, e é considerada um problema de saúde pública (COSTA, 2008; RIBEIRO, 2010). Os níveis da deficiência de minerais em habitantes de países industrializados também são expressivos, em consequência de uma dieta não balanceada, pouco saudável e rica em gordura e açúcar (RIBEIRO, 2010).

As principais intervenções para resolver essa crise de saúde incluem suplementos de microminerais na dieta e programas de fortificação de alimentos. Todavia, esse tipo de programa não atende toda a população necessitada, não alcançando, por exemplo, famílias rurais pobres em países em desenvolvimento. Além disso, essas abordagens não são sustentáveis, pois apenas tratam os sintomas de desnutrição e/ou outras deficiências nutricionais, mas não resolvem as causas primárias. Entre as

políticas públicas promissoras adotadas em alguns países para a solução desses problemas, destaca-se a biofortificação de alimentos (BAÑUELOS; LIN, 2008).

A biofortificação é uma técnica que se baseia no melhoramento genético de plantas convencionais para aumentar a densidade de nutrientes em alimentos básicos. Com isso, as culturas produzidas apresentam maiores teores de micronutrientes reconhecidos como limitantes pela Organização Mundial da Saúde, especialmente ferro, zinco e vitamina A (HARVESTPLUS, 2010). É uma estratégia sustentável e de baixo custo que visa garantir maior segurança alimentar por meio do aumento dos micronutrientes na dieta da população mais carente. Complementa intervenções convencionais, como a fortificação comercial dos alimentos, e é uma maneira viável de atingir áreas e populações com pouco acesso aos fortificados. Tem como desafio a garantia de aceitação do consumidor e o aumento do consumo desses alimentos ricos em nutrientes (BOUIS, 2003; NESTEL *et al.*, 2006; MAYER; PFEIFFER; BEYER, 2008).

O melhoramento de seis cultivares (arroz, trigo, milho, mandioca, batata-doce e feijão) de consumo comum em regiões pobres da África, da Ásia e da América Latina está em andamento (PFEIFFER; MCCLAFFERTY, 2007). No Brasil, tiveram início em 2004 os trabalhos do programa HarvestPlus Brasil, com vistas a desenvolver variedades desses alimentos com maiores concentrações de ferro, zinco e betacaroteno. O programa é coordenado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) (NUTTI, 2011).

## **1. Biofortificação**

Várias estratégias são utilizadas para melhorar o estado nutricional da população e prevenir a deficiência de micronutrientes. Entre elas, temos a fortificação e a biofortificação de alimentos, que consistem no aumento no teor de nutrientes dos produtos, com baixo custo de produção e fácil aceitação sensorial, para agregar maior valor nutritivo (MINGUITA *et al.*, 2012).

A fortificação de alimentos com vitamina A e ferro e a distribuição de suplementos desses micronutrientes para a população-alvo têm sido as estratégias mais utilizadas na maioria dos países em desenvolvimento, para combater a hipovitaminose A e a anemia ferropriva. Em muitas tentativas, a fortificação e os programas de suplementação foram implementados para combater deficiências nutricionais, utilizando-se,

por exemplo, farinha de trigo fortificada com ferro no Paquistão, suplementação de vitamina A na Nigéria, sal iodado no Marrocos, entre outros. No entanto, tais programas nem sempre alcançam os mais necessitados, como o caso da população rural da Guatemala. Grupos populacionais como esse dependem de agricultura de subsistência e, muitas vezes, não têm condições financeiras para adquirir alimentos processados, ou nem mesmo têm acesso a estes.

Pesquisas recentes demonstram que o desenvolvimento de plantas com maiores teores de precursores de vitamina A e outros minerais pode ajudar a melhorar a dieta humana. Esse é o objetivo da pesquisa que vem sendo desenvolvida no Brasil pela Embrapa para biofortificação de alimentos (BAÑUELOS; LIN, 2008; NUTTI; CARVALHO; WATANABE, 2006).

A biofortificação consiste no aumento da densidade de nutrientes de alimentos básicos. Visa desenvolver e distribuir, para plantação, uma variedade de culturas que são consideradas a base da alimentação de regiões pobres. Seu foco está em três micronutrientes que são reconhecidos pela Organização Mundial da Saúde como limitantes (ferro, zinco e vitamina A) (PFEIFFER; MCCLAFFERTY, 2007). Pode ser realizada por meio do melhoramento vegetal convencional ou biotecnológico e/ou por práticas agrônômicas, com destaque para a adubação (BOUIS, 2000; CAKMAK, 2008).

A importância da biofortificação vem sendo reforçada diante da recente descoberta de que o melhoramento vegetal, voltado exclusivamente para ganhos em produtividade, provoca redução da concentração de minerais e vitaminas na parte comestível das culturas (GARVIN; WELCH; FINLEY, 2006; MURPHY; REEVES; JONES, 2008; WHITE *et al.*, 2009). Nesse contexto, a biofortificação é vantajosa porque, na busca por aumentar a densidade de nutrientes, fomenta a obtenção de cultivares com características produtivas e comerciais melhoradas, e isso promove, também, o aumento da produtividade, da estabilidade, do rendimento e da qualidade dos grãos (DEL PELOSO *et al.*, 2003; FROTA; FREIRE FILHO; CÔRREA, 2000).

A produção de variedades melhoradas que apresentam maior teor de minerais e vitaminas visa complementar as intervenções em nutrição existentes e proporcionar uma maneira sustentável e de baixo custo para alcançar as populações com limitado acesso aos sistemas formais de mercado e de saúde. Variedades biofortificadas apresentam o potencial de fornecer benefícios contínuos, ano após ano, nos países em desenvolvimento, a um custo recorrente inferior ao da suplementação



e da fortificação pós-colheita (GRAHAM; WELCH, 1996; WELCH, 2000; HARVESTPLUS, 2020; GRAHAM *et al.*, 2007).

O baixo acesso das populações aos alimentos ricos em micronutrientes, a presença de inibidores de absorção e antinutrientes em proporções inadequadas nas dietas e a baixa biodisponibilidade dos minerais são causas atribuídas às deficiências desses nutrientes na população humana em todo o mundo. Espera-se que as famílias de agricultores que cultivam espécies biofortificadas sejam beneficiadas por consumi-las, assim como os consumidores que comprem essas culturas no mercado. As culturas biofortificadas, portanto, podem fornecer vitaminas e minerais necessários à nutrição humana e reduzir a fome oculta de modo eficaz.

Alguns trabalhos realizados com humanos demonstram efeitos positivos do uso de alimentos biofortificados para a estado nutricional dos indivíduos: batata-doce rica em betacaroteno aumentou os estoques de vitamina A no fígado de crianças (VAN JAARSVELD *et al.*, 2005); arroz biofortificado com ferro promoveu aumento da ferritina sérica em mulheres em idade fértil nas Filipinas (HAAS *et al.*, 2005); Rosado e colaboradores (2009) observaram que a quantidade de zinco absorvido por mulheres adultas é maior com a biofortificação do trigo com zinco. Os resultados evidenciam a eficácia e a importância do consumo desses alimentos produzidos com biofortificação, principalmente para populações carentes e em risco nutricional.

## **2. Programas de biofortificação no Brasil e no mundo**

O projeto mundial de biofortificação HarvestPlus é um programa de desafio do Consultative Group on International Agricultural Research (CGIAR) que desenvolve culturas e combinações de nutrientes para fornecer micronutrientes para a população vulnerável da África e da Ásia. Visa projetar, produzir, testar e divulgar produtos alimentares básicos enriquecidos com ferro, zinco e provitamina A (HOTZ; MCCLAFFERTY, 2007).

O AgroSalud é um programa que desenvolve cultivos de biofortificados para a América Latina e Caribe, em consórcio internacional entre instituições de pesquisa, entre elas a Embrapa.

No Brasil, a Embrapa coordena o BioFort, projeto de biofortificação de alimentos que produz diversas culturas biofortificadas.

Os programas nacionais brasileiro, chinês e indiano têm trabalhado com a biofortificação em uma grande variedade de produtos alimentares básicos, em uma “abordagem de alimentos cesta”. Esse enfoque, particularmente no Brasil, é uma ferramenta útil para abordar as deficiências de micronutrientes em populações que consomem pequenas quantidades de várias culturas alimentares, em vez de uma única cultura (SALTZMAN *et al.*, 2013).

O programa de biofortificação da China iniciou-se em 2005, e a pesquisa foca em aumentar os teores de ferro, zinco e conteúdos provitamina A em cultivares de arroz, milho, trigo e batata-doce. Entre as variedades lançadas, estão as cultivares de: trigo Zhongmai 175, com 4,4 mg/100 g de zinco e 3,8 mg/100 g de ferro; arroz Zhongguangxiang, com 0,65 mg/100 g de ferro; batata-doce Nanshu 0101, com 9,3 mg/100 g de provitamina A (SALTZMAN *et al.*, 2013).

O departamento de biotecnologia do governo indiano e o Indian Council of Agricultural Research (Icar) uniram esforços para promover uma pesquisa de alta qualidade e acelerar o desenvolvimento de variedades biofortificadas na Índia. O programa de biofortificação desse país concentra-se em arroz, trigo e milho. O HarvestPlus é um colaborador no desenvolvimento dessas culturas e também se concentra em milheto biofortificado e sorgo (SALTZMAN *et al.*, 2013).

No Brasil, a partir de 2004, tiveram início as atividades dos projetos de biofortificação da HarvestPlus e da AgroSalud. A participação no projeto AgroSalud prevê a integração entre os países da América Latina e Caribe, África e Sudeste Asiático, com a expectativa de que o Brasil desenvolva e transfira não só os cultivares biofortificados como também a tecnologia pós-colheita. Possibilita a inserção das cultivares de arroz e batata-doce biofortificados para complementar o projeto HarvestPlus (NUTTI, 2011).

Em 2008, foi aprovado o projeto BioFort, uma parceria de onze unidades da Embrapa e diversas universidades, com o intuito de intensificar a biofortificação no Brasil. Desde então, sob o objetivo agrícola da HarvestPlus, o progresso na criação de cultivos biofortificados tem sido constante, com níveis promissores de zinco, ferro e provitamina A (carotenoides) alcançados em diversas culturas de alimentos básicos. Pesquisam-se, principalmente: mandioca, batata-doce e abóbora com maior teor de carotenoides; milho com maiores teores de lisina, triptofano e provitamina A; arroz, feijão comum, milho, trigo e feijão-caupi com teores mais

elevados de ferro e zinco (NUTTI, 2011). Na Tabela 1 apresentam-se os significativos resultados alcançados pelo projeto, com a comparação entre as cultivares convencionais e as melhoradas.

**Tabela 1 – Resultados do projeto BioFort**

Cultivares	Convencional	Cultivares dos projetos da Rede de Biofortificação no Brasil
Milho	Em média, 4,5 microgramas de provitamina A por grama de milho em base seca	Até 9 microgramas de provitamina A por grama de milho em base seca
Batata-doce	Em cultivares de polpa branca, até 10 microgramas de betacaroteno por grama de raízes frescas	Na cultivar Beauregard, média de 115 microgramas de betacaroteno por grama de raízes frescas
Abóbora	Em avaliação	Média de 186 microgramas de carotenoides por grama de produto fresco
Trigo	Em média, 30 mg de ferro e 30 mg de zinco/kg de produto em trigo integral	Média superior a 40 mg de ferro e 40 mg de zinco/kg de trigo integral, nas melhores cultivares selecionadas
Feijão-caupi	Média de 50 mg de ferro e 40 mg de zinco/kg de produto	Na BRS Xiquexique, média de 77 mg de ferro e 53 mg de zinco/kg de produto
Mandioca	Em variedades de polpa branca não há teores expressivos de betacaroteno	Até 9 mcg de betacaroteno/g em raízes frescas
Feijão	Em média, 50 mg de ferro e 30 mg de zinco/kg de feijão tipo carioca	Em média, 90 mg de ferro e 50 mg de zinco/kg de cultivar BRS Pontal
Arroz	Em média, 12 mg de zinco e 2 mg de ferro/kg de arroz branco polido	Média de 18 mg de zinco e 4 mg de ferro/kg de arroz branco polido

Fonte: BioFort (2020).

Algumas variedades foram liberadas para produção e consumo: mandioca (até 0,9 mg de provitamina A/100 g); feijão (até 0,8 mg ferro/100 g e de zinco 0,5 mg/100 g); feijão caupi (até 7,7 mg de ferro/100 g e 5,3 mg de zinco/100 g); uma variedade de batata-doce (até 11,5 mg de provitamina A/100 g) e de milho (até 0,75 mg/100 g de provitamina A) (SALTZMAN *et al.*, 2013).

Paralelamente ao melhoramento das culturas, têm sido investigadas a retenção e a biodisponibilidade de micronutrientes após processamento, armazenamento e cozimento dos alimentos (SALTZMAN *et al.*, 2013), uma vez que, para a biofortificação ser bem-sucedida, a elevada densidade de nutrientes deve ser acompanhada,

além de alta produção e rentabilidade, de melhoria no estado nutricional dos indivíduos que consomem os produtos biofortificados (BOUIS *et al.*, 2011).

Modelos animais e *in vitro* são utilizados para avaliar a absorção relativa dos micronutrientes e as variedades mais promissoras. Estudos em seres humanos em experimentos controlados também são realizados. Ensaio que demonstram o impacto das culturas biofortificadas sobre o estado nutricional do indivíduo, como aumento nos índices de micronutrientes e avaliação positiva de indicadores funcionais (adaptação visual no escuro, para as culturas de provitamina A; atividade física, para as culturas biofortificadas com ferro, etc.), fornecem evidências para apoiar o uso de culturas biofortificadas como alternativa de intervenção nutricional para a saúde pública (SALTZMAN *et al.*, 2013).

### **Considerações finais**

A biofortificação já se constitui como meio viável, de baixo custo e efetivo para fornecimento de micronutrientes às populações carentes cujo acesso a suplementos ou alimentos fortificados comercialmente é limitado. Culturas alimentares com níveis mais elevados de micronutrientes têm sido lançadas em vários países para uso na alimentação básica, especialmente dessas populações. O consumo de tais alimentos biofortificados pode contribuir para melhorar o estado nutricional dos indivíduos, diminuindo a deficiência de micronutrientes – problema que ainda é prevalente em todo o mundo.

### **Referências**

BAÑUELOS, G. S.; LIN, Z. Q. (ed.). **Development and uses of biofortified agricultural products**. Boca Raton: CRC, 2008.

BIOFORT. **Resultados**. BioFort, 2020. Disponível em: <https://biofort.com.br/resultados/>. Acesso em: 11 maio 2020.

BOUIS, H. E. *et al.* Biofortification: a new tool to reduce micronutrient malnutrition. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 32, n. 1, p. 31-40, 2011.

BOUIS, H. E. Enrichment of food staples through plant breeding: a new strategy for fighting micronutrient malnutrition. **Nutrition Reviews**, v. 16, p. 701-704, 2000.

BOUIS, H. E. Micronutrient fortification of plants through plant breeding: can it improve nutrition in man at low cost? **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 62, n. 2, p. 403-411, May 2003.

CAKMAK, I. Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification? **Plant and Soil**, v. 302, n. 1-2, p. 1-17, Nov. 2008.

COSTA, N. M. B. Minerais. In: COSTA, N. M.; PELUZIO, M. C. G. (ed.). **Nutrição básica e metabolismo**. Viçosa: Editora UFV, 2008. p. 263-359.

DEL PELOSO, M. J. *et al.* **BRS Pontal**: nova cultivar de feijoeiro comum de tipo de grão carioca com alto potencial produtivo. Santo Antônio de Goiás: Embrapa, 2003. (Série Comunicado Técnico, n. 64).

FROTA, A. B.; FREIRE FILHO, F. R.; CÔRREA, M. P. F. **Impactos socioeconômicos das cultivares de feijão-caupi na região Meio-Norte do Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2000. (Série Documentos, n. 52).

GARVIN, D. F.; WELCH, R. M.; FINLEY, J. W. Historical shifts in the seed mineral micronutrient concentrations of US hard red winter wheat germplasm. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D. C., v. 86, n. 13, p. 2.213-2.220, Oct. 2006.

GRAHAM, R. D. *et al.* Nutritious subsistence food systems. **Advances in Agronomy**, v. 92, p. 1-74, 2007.

GRAHAM, R. D.; WELCH, R. M. **Breeding for staple-food crops with high micronutrient density**: long-term sustainable agricultural solutions to hidden hunger in developing countries. Washington, D. C.: International Food Policy Research Institute, 1996. (Working Papers on Agricultural Strategies for Micronutrients, n. 3).

HAAS, J. D. *et al.* Iron-biofortified rice improves the iron stores of nonanemic filipino women. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 135, n. 12, p. 2.823-2.830, Dec. 2005.

HARVESTPLUS. **HarvestPlus statement on the potential benefits of biofortification on the nutritional status of populations**. HarvestPlus, 17 ago. 2010. Disponível em: [https://www.harvestplus.org/sites/default/files/publications/HarvestPlus\\_statement\\_benefits\\_of\\_biofortification\\_8-17-10\\_0.pdf](https://www.harvestplus.org/sites/default/files/publications/HarvestPlus_statement_benefits_of_biofortification_8-17-10_0.pdf). Acesso em: 11 maio 2020.

HARVESTPLUS. What we do. **Crops**. HarvestPlus, 2004-2020. Disponível em: <http://www.harvestplus.org/content/crops>. Acesso em: 11 maio 2020.

HOTZ, C.; MCCLAFFERTY, B. From harvest to health: challenges for developing biofortified staple foods and determining their impact on micronutrient status. **Food and Nutrition Bulletin**, Boston, v. 28, n. 2, p. S271-S279, June 2007. Supplement 2.

HOUSE, W. A. *et al.* Potential for increasing the amounts of bioavailable zinc in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) through plant breeding. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 82, n. 13, p. 1.452-1.457, Oct. 2002.

MAYER, J. E.; PFEIFFER, W. H.; BEYER, P. Biofortified crops to alleviate micronutrient malnutrition. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, n. 2, p. 166-170, Apr. 2008.

MESQUITA, R. F. *et al.* Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade proteica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1.114-1.121, jul./ago. 2007.

MINGUITA, A. P. da S. *et al.* Teor de ferro e zinco em massas alimentícias a base de mistura de farinha de trigo, farinha de arroz e farinha de feijão biofortificadas. In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4., 2012, João Pessoa. **Anais [...]**. João Pessoa: SBCTA-PB, 2012.

MURPHY, K. M.; REEVES, P. G.; JONES, S. S. Relationship between yield and mineral nutrient concentrations in historical and modern spring wheat cultivars. **Euphytica: International Journal of Plant Breeding**, v. 163, n. 3, p. 381- 390, Oct. 2008.

NESTEL, P. *et al.* Biofortification of staple food crops. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 136, n. 4, p. 1.064-1.067, Apr. 2006. (Symposium Food Fortification in Developing Countries).

NUTTI, M. R. A história dos projetos HarvestPlus, AgroSalud e BioFort no Brasil. *In: REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL*, 4., 2001, Teresina, 2011. **Anais [...]**. Teresina: Embrapa, 2011.

NUTTI, M. R.; CARVALHO, J. L. V. M.; WATANABE, E. A biofortificação como ferramenta para combate a deficiências em micronutrientes. *In: WORKSHOP INTERNACIONAL DE BIOLOGIA MÉDICA*, 3 jun. 2005, Rio de Janeiro. **Anais [...]**. Rio de Janeiro: CPRM, 2006. p. 43-47.

PFEIFFER, W. H.; MCCLAFFERTY, B. HarvestPlus: breeding crops for better nutrition. **Crop Science**, Fitchburg, v. 47, n. 3, p. S88-S105, Dec. 2007. Supplement 3.

RIBEIRO, N. D. Potencial de aumento da qualidade nutricional do feijão por melhoramento genético. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 1.367-1.376, 2010. Suplemento 1.

ROSADO, J. L. *et al.* The quantity of zinc absorbed from wheat in adult women is enhanced by biofortification. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 139, n. 10, p. 1920-1925, Oct. 2009.

SALTZMAN, A. *et al.* Biofortification: progress toward a more nourishing future. **Global Food Security**, v. 2, n. 1, p. 9-17, Mar. 2013.

VAN JAARSVELD, P. J. *et al.*  $\beta$ -Carotene-rich orange-fleshed sweet potato improves the vitamin A status of primary school children assessed with the modified-relative-dose-response test. **American Journal of Clinical Nutrition**, Rockville, v. 81, n. 5, p. 1.080-1.087, May 2005.

WANDER, A. E. *et al.* Impactos econômicos, sociais e ambientais da cultivar de feijoeiro comum BRS Pontal na terceira safra no Brasil Central (2008-2010). *In: REUNIÃO DE BIOFORTIFICAÇÃO NO BRASIL*, 4., 2001, Teresina. **Anais [...]**. Teresina: Embrapa, 2011.

WELCH, R. M. *et al.* Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D. C., v. 48, p. 3.576-3.580, July 2000.

WHITE, P. J. *et al.* Relationship between yield and mineral concentrations in potato tubers. **HortScience**, Alexandria, v. 44, n. 1, p. 6-11, Feb. 2009.



## Capítulo 13

---

# *Comportamentos e percepções do consumidor relacionados à irradiação de alimentos: uma revisão*

Tarcísio Lima Filho  
Suzana Maria Della Lucia

### **Introdução**

A irradiação de alimentos é apontada como um ótimo método para eliminar microrganismos deterioradores e patogênicos, sem alterar drasticamente as características sensoriais e nutricionais dos alimentos, possibilitando, dessa forma, a oferta de produtos com maior vida de prateleira e microbiologicamente mais seguros (LYNCH; TAUXE; HEDBERG, 2009; JOINT FAO/IAEA, 2017). Entretanto, apesar de a radiação ser aceita cientificamente como um ótimo método de conservação e ser permitida e regulamentada por diversos países, a completa comercialização de alimentos irradiados tem sido limitada devido à rejeição e ao receio de parte da população sobre a utilização desse tratamento em produtos alimentícios (ORNELLAS *et al.*, 2006).

Os fatores que envolvem todo o processo de seleção e consumo de um produto podem ser divididos em dois grupos: um grupo relacionado às características do

consumidor, tais como conceitos étnicos, culturais e religiosos, preocupação com a saúde, influências contextuais, questões sociais, idade, sexo e renda familiar dos consumidores; e outro grupo referente às características do produto, como conveniência, utilidade, praticidade, estabilidade, segurança, valor nutritivo, marca, preço, origem e tecnologia de produção alimentícia (DELLA LUCIA *et al.*, 2010).

No caso de alimentos irradiados, a tecnologia de produção é um fator que influencia a aceitação dos consumidores. Na literatura existem diversas pesquisas de mercado sobre esse tipo de produto, realizadas em vários países, em diferentes épocas e com a obtenção de resultados distintos. Enquanto alguns estudos demonstram boa aceitação da população por alimentos irradiados, outros demonstram alta rejeição. Este capítulo analisa os resultados de algumas dessas pesquisas de mercado sobre alimentos irradiados realizadas nas últimas quatro décadas. O objetivo é verificar: se as populações de diferentes países possuem distintos níveis de aceitação pela tecnologia de irradiação de alimentos; se a aceitação tem aumentado com o passar dos anos; e quais são os principais motivos de rejeição.

## **1. Década de 1980**

Em 1986, especiarias irradiadas começaram a ser comercializadas nos Estados Unidos (EUA) (EUSTICE; BRUHN, 2013). Conforme estudo realizado pelo Brand Group (1986), 5 % a 10 % dos entrevistados americanos rejeitaram a irradiação de alimentos, 25 % a 30 % aceitaram e 55 % a 65 % estavam indecisos.

Na Grã-Bretanha, os consumidores eram mais receosos quanto à irradiação de alimentos. Pesquisas realizadas em 1986 e 1988 demonstraram que a grande maioria dos consumidores não compraria produtos irradiados (THOMAS, 1990). Em 1989, uma pesquisa de opinião realizada no Reino Unido revelou que 70 % dos consumidores não queriam comprar alimentos irradiados e que 20 % não se sentiam seguros sobre esses produtos (CGEE, 2010).

Segundo Henson (1995), a grande parcela de indecisos verificada nas pesquisas pode corresponder a consumidores que não possuem conhecimentos sobre a técnica de irradiação e também a consumidores que estão cientes do processo, embora, possivelmente, de forma incerta, mas que ainda não têm pontos de vista estabelecidos sobre o assunto. Por sua vez, Bruhn (1999) afirma que as primeiras pesquisas

realizadas no início da década de 1980 já demonstravam que a falta de familiaridade dos consumidores com essa tecnologia influenciava a aceitação e indicavam a necessidade de melhor informá-los acerca desse método de conservação.

Apesar de, na década de 1980, pesquisas de mercado com questionário indicarem alta rejeição por alimentos irradiados, testes de mercado com comercialização desses produtos já demonstravam bons índices de venda. Em testes de mercado realizados em 1987 e 1988 em Lion, na França, uma cadeia de supermercados colocou sete toneladas de morangos irradiados a 2 kGy à venda. No rótulo foi colocado o símbolo “radura” (símbolo de alimento irradiado) e o termo “protegido por ionização”. Os consumidores afirmaram que compraram os morangos irradiados por serem de melhor qualidade (CGIIA, 1995; ICGFI, 1999). No teste realizado em 1987 as vendas foram boas mesmo com os morangos irradiados tendo sido colocados à venda com preço 30 % maior do que o similar não irradiado (ICGFI, 1999).

Consumidores dos Estados Unidos preferiram frutas irradiadas a frutas conservadas por fumegantes químicos (SCHUTZ; BRUHN; DIAZ-KNAUF, 1989). Os coreanos também demonstraram preferência por alimentos irradiados em vez dos tratados por produtos químicos (BRUHN, 1999).

Já no Reino Unido, a maioria dos entrevistados preferiu alimentos conservados com aditivos químicos a alimentos conservados por irradiação (HENSON, 1995). A grande rejeição dos britânicos foi relacionada, pelos estudiosos, não somente à falta de informação dos consumidores sobre a técnica de irradiação de alimentos e a preocupação sobre a detecção de produtos irradiados, como, sobretudo, ao fato de as pesquisas terem sido realizadas na mesma época em que ocorreu o acidente nuclear de Chernobyl. A imprensa fez grande cobertura sobre a tragédia e estabeleceu relações equivocadas entre a irradiação de alimentos e o desastre, que foram tomadas como verdadeiras por boa parte do público (THOMAS, 1990).

## **2. Década de 1990**

O número de consumidores preocupados com a irradiação diminuiu ao longo das décadas de 1980 e 1990, passando de 43 % em 1980 para 33 % em 1997 (BRUHN, 1999). Uma pesquisa realizada no estado da Geórgia (EUA) verificou que a preocupação de 446 consumidores com pesticidas, resíduos de remédios em carnes, hormônios

de crescimento, aditivos alimentares e as bactérias foi significativamente maior do que a preocupação com a irradiação de alimentos (RESURRECCION *et al.*, 1995).

A menor preocupação dos consumidores de alguns países fez com que a comercialização de produtos irradiados aumentasse ao longo da década de 1990. Nos EUA, principalmente na Flórida e em alguns estados do centro-oeste, mercados de atacado e varejo passaram a vender frutas e hortaliças irradiadas no início de 1990 (GMA, 2009). A produção e o comércio de especiarias irradiadas aumentaram de cerca de 5.000 t em 1990 para mais de 30.000 t em 1994 e mais de 60.000 t em 1997 (ICGFI, 1999). Entre 1990 e 1995, 36.190 t de produtos irradiados foram comercializados na China; destes, 28.500 t eram de alho, 2.100 t de vegetais desidratados, 1.200 t de batata-doce, 950 t de produtos cárneos, 920 t de especiarias e temperos, 850 t de arroz, 200 t de cebola, 150 t de batata, 80 t de maçãs, 40 t de tomate e 850 t de outros alimentos (BRUHN, 1999).

Em um artigo publicado pela International Consultative Group on Food Irradiation (ICGFI), Bruhn (1999) analisou inúmeros estudos, de diversos países, sobre a atitude dos consumidores e testes de mercado de alimentos irradiados, no período de 1984 a 1997. O autor concluiu que:

- em diversos países as pessoas compram alimentos irradiados;
- em alguns mercados, a disponibilidade de um alimento de alta qualidade fora da época de produção foi considerada um importante benefício;
- em outros mercados, produtos de alta qualidade importados eram de interesse significativo;
- a maior segurança microbiológica foi um benefício em alguns mercados;
- os consumidores irão comprar alimentos irradiados.

A sensibilização dos consumidores para a irradiação de alimentos é crescente. Entre os consumidores norte-americanos, 23 % relataram saber da irradiação em 1984. Esse número aumentou para 66 % em 1986, e para 87,5 % em 1995 (SPAULDING; WIEGAND; O'ROUKER, 2006). Foi constatado pelos autores que, nos locais onde os alimentos irradiados estavam disponíveis, os consumidores compravam por causa de sua satisfação com a qualidade e a segurança do produto, principalmente quando são fornecidas informações sobre o processo de irradiação de alimentos e seus benefícios.

Na década de 1990, os testes de mercado com comercialização de alimentos irradiados continuaram mostrando resultados positivos. Na Flórida, em 1992, no primeiro dia de vendas, morangos irradiados foram vendidos com preço mais caro e em

maior quantidade que morangos não irradiados. Morangos irradiados também foram avaliados positivamente no Kansas: os consumidores consideraram a aparência e a cor do morango irradiado equivalentes ou superiores às do morango não irradiado. Quando fornecida a informação sobre o processo ao consumidor, sua intenção de compra aumentou. No total, 80 % dos consumidores relataram que estavam satisfeitos com morangos irradiados e 67 % ficaram satisfeitos com os frutos não irradiados. Metade dos consumidores foi favorável a que o supermercado vendesse morangos irradiados e cerca de um terço declarou incerteza (BRUHN, 1999).

Em Chicago, em 1992, a Carrot Top, produtora e mercearia, vendeu morangos irradiados. Verificou-se que cerca de 70 % dos consumidores já tinham ouvido falar sobre irradiação, porém 90 % sentiram que não haviam recebido informação suficiente. Foram disponibilizadas, no local de venda, informações pró e anti-irradiação e também foram ofertados morangos não irradiados. Do total de morangos vendidos, aproximadamente 90 % a 95 % foram morangos irradiados (BRUHN, 1999).

Apesar desses resultados positivos nos EUA, várias pesquisas na Europa ainda demonstravam um grande número de pessoas rejeitando o consumo de produtos irradiados ou em dúvida sobre eles. Um estudo realizado no início de 1990 na Holanda demonstrou que um terço dos entrevistados provável ou definitivamente compraria produtos rotulados como irradiados, um terço definitivamente não compraria, e o outro terço estava indeciso. No Reino Unido também foram verificadas grande indecisão e rejeição por alimentos irradiados (BRUHN, 1999).

### **3. Década de 2000**

Segundo DeRuiter e Dwyer (2002), no início do novo milênio, os consumidores americanos passaram a perceber e aceitar melhor os benefícios gerados pela irradiação, principalmente quando utilizada para inativar esporos de antraz em encomendas do correio contaminadas, após os ataques terroristas de 11 de setembro de 2001. Esse fato ajudou a aumentar a popularidade da técnica de irradiação. Johnson e colaboradores (2004) verificaram que os estadunidenses estavam mais susceptíveis a comprar alimentos irradiados em 2003 do que em 1993 (69 % e 29 %, respectivamente).

No início da década de 1990, uma pesquisa realizada pela Gallup Organization verificou que a irradiação estava entre as tecnologias de conservação de alimentos que

mais preocupavam os consumidores, junto de tratamentos químicos, como cloração e uso de conservantes (GALLUP ORGANIZATION, 1993). Já em 2002, consumidores dos Estados Unidos foram entrevistados a fim de verificar a sua preocupação quanto a antibióticos, pesticidas, hormônios de crescimento artificial, ingredientes geneticamente modificados, irradiação, cores e sabores artificiais, pasteurização e conservantes: a irradiação ficou em quinto lugar, gerando menor preocupação que pesticidas, hormônios de crescimento artificial, antibióticos e ingredientes geneticamente modificados (HWANG; ROE; TEISL, 2005).

Comparadas ao comportamento dos estadunidenses, a consciência e a aceitação dos turcos em relação ao processo de irradiação de alimentos foi considerada muito baixa (29 %). A maioria dos consumidores (80 %) estava incerta sobre a segurança dos produtos irradiados e somente 11 % afirmaram considerá-los seguros. Entretanto, o nível de atitude positiva para alimentos irradiados aumentou substancialmente (62 %) quando foi fornecida uma declaração benéfica sobre a irradiação. Quanto à intenção de compra, 44 % dos entrevistados afirmaram que comprariam alimentos irradiados se não tivessem de pagar a mais por eles, 23 % indicaram que comprariam e pagariam um preço superior de 5 % por alimentos irradiados e 18 % afirmaram que nunca comprariam alimentos irradiados (GUNES; TEKIN, 2006).

Gerentes de restaurantes do Kansas foram pesquisados quanto a suas atitudes e intenção de compra perante a irradiação de carne moída para hambúrgueres. Os resultados indicaram que 54 % dos restaurantes iriam comprar carne moída irradiada se estivesse disponível pelo mesmo preço que o produto convencional e apenas 11 % indicaram que não iriam comprar tais produtos (MULIK; FOX; BOLAND, 2003). Já os consumidores americanos demonstraram disponibilidade de pagar mais por produtos cárneos irradiados, principalmente quando são informados os benefícios gerados pela irradiação de alimentos (HUANG; WOLFE; MCKISSICK, 2007).

Um estudo de 2001, financiado pela Cattlemen's Beef Board (CBB) (NATIONAL CATTLEMEN'S BEEF ASSOCIATION, 2002) mostrou que a aceitação do consumidor de carne moída irradiada estava crescendo. O estudo, que mediu a percepção dos consumidores sobre o referido produto, revelou um grande mercado potencial. Com essa mudança de atitude dos consumidores americanos, os alimentos irradiados ganharam espaço em supermercados e restaurantes. Em 2003, quase vinte cadeias de supermercados forneciam carne irradiada para os seus clientes em

cerca de trinta estados dos EUA, e duas cadeias de grandes restaurantes ofereciam produtos cárneos irradiados em 145 estabelecimentos (USDA, 2003).

Também em 2003, o United States Department of Agriculture (Usda) incentivou as escolas a educar toda a comunidade, principalmente os funcionários do serviço de alimentação escolar e os pais das crianças, sobre os benefícios da utilização da irradiação em carne bovina. Em julho do mesmo ano, o Food and Nutrition Service (FSN) forneceu a todos os distritos escolares um pacote de informações sobre irradiação de alimentos, com folhetos apresentando respostas às perguntas mais frequentes e informando que o uso da irradiação não substitui as exigências de segurança alimentar existentes para o preparo de carne moída. Em janeiro de 2004, carne moída irradiada passou a ser opção no almoço das escolas nos Estados Unidos, com um valor adicional de treze a vinte centavos por quilo, devido a manuseio, embalagem adicional e custo do processo de irradiação (USDA, 2003).

Entretanto, após o pedido de estudantes e do Public Citizen (grupo ativista contra alimentos irradiados), o conselho de educação do distrito de Columbia aprovou, na época, uma resolução que proibia suas 167 escolas de comprar alimentos irradiados para qualquer um dos seus programas de refeição durante cinco anos. Uma das justificativas para tal decisão foi que as lanchonetes escolares enfrentavam problemas como instalações antigas, temperaturas impróprias de armazenamento dos alimentos, presença de fezes de roedores, aranhas e insetos mortos, e a irradiação não iria ajudar a evitar a contaminação dos alimentos por qualquer um desses problemas. Além disso, representantes da Public Citizen (2004) afirmaram que a irradiação gera substâncias químicas cancerígenas, como as ciclobutanonas.

Segundo a Public Citizen (2004), entre os milhares de comentários que o governo dos Estados Unidos recebeu até maio de 2004, 93 % eram contrários à proposta de incluir a carne irradiada na merenda das crianças e, até o momento, nenhum distrito escolar havia comprado carne irradiada por meio do Usda para o ano escolar de 2004-2005. Ciente da rejeição de parte da população, o Usda incentivou e divulgou estudos mostrando que a irradiação não produz compostos carcinogênicos e não altera as características sensoriais e o valor nutricional das carnes que seriam utilizadas na merenda escolar, numa tentativa de diminuir o receio da população e incentivar a adoção da irradiação na merenda escolar (FAN *et al.*, 2004; SOMMERS, 2006; FAN, 2013).

#### 4. Década de 2010

Dos anos 2010 até os dias atuais, a industrialização, comercialização e o consumo de alimentos irradiados continua aumentando significativamente (EFSA, 2011; FERRIER, 2011). Os países que mais consomem alimentos irradiados no mundo são China, Estados Unidos e Ucrânia, sendo responsáveis por 75 % da quantidade total de alimentos irradiados. A China é o maior entre eles, com mais de duzentas instalações em todo o seu território (EFSA, 2011). Em 2011, aproximadamente sete a oito mil toneladas de carne bovina moída e frango irradiados e treze a dezesseis mil toneladas de frutas e hortaliças irradiadas foram comercializadas nos Estados Unidos (EUSTICE; BRUHN, 2013).

Em 2012, cerca de quinhentas mil toneladas de alimentos eram irradiadas a cada ano no mundo (MOSTAFAVI; MIRMAJLESSI; FATHOLLAHI, 2012). As especiarias, ervas e temperos vegetais secos constituem a maior categoria de alimentos irradiados no mundo; só nos Estados Unidos, cerca de oitenta mil toneladas foram irradiadas em 2007, representando cerca de 20 % do consumo total desses produtos nesse país (GMA, 2009). Em 2011, um terço de todas as especiarias já era irradiado nos Estados Unidos (FERRIER, 2011). No Brasil, as especiarias ainda são os únicos alimentos irradiados comercialmente (SILVA; ROZA, 2000).

Nos Estados Unidos, a exigência de rotulagem se aplica apenas a um alimento que foi irradiado por inteiro, não para um que contenha apenas um ingrediente irradiado (FDA, 2004; FERRIER, 2011). No Brasil, quando um ingrediente irradiado é incluído como componente de outro alimento, a lista de ingredientes no rótulo do produto deve apresentar o termo “alimento tratado por processo de irradiação”, entre parênteses, após o nome do ingrediente (BRASIL, 2001).

Nos Estados Unidos, as embalagens dos alimentos irradiados por inteiro devem apresentar o símbolo da radura e a declaração de “tratado com radiação” ou “tratado por irradiação” (FDA, 2012). No Brasil, tais embalagens devem apresentar, no painel principal e em letras grandes, os dizeres “alimento tratado por processo de irradiação” (BRASIL, 2001). Inúmeros especialistas afirmam que os termos “radiação” e “irradiação” podem ter conotações negativas e assustar os consumidores leigos, e acreditam que uma redação alternativa, como “eletronicamente pasteurizado” ou “pasteurização a frio”, aumentaria a aceitação por alimentos irradiados por inteiro



(MOREHOUSE; KOMOLPRASERT, 2004; VITAL; HERNANDES; SANTOS, 2008; STEPHEN; DOWNING-MATIBAG, 2009; FERRIER, 2011). Isso pode explicar o fato de os alimentos irradiados por inteiro não serem irradiados comercialmente na mesma proporção que as especiarias, ervas e temperos vegetais secos.

No Brasil, parte da população já aceita a tecnologia de radiação. Estudo realizado com 236 consumidores em São Paulo demonstrou que a aceitação e a intenção de compra de agrião orgânico irradiado e de agrião orgânico não irradiado foram iguais, mesmo quando fornecida a informação do tratamento dado ao alimento ou um texto sobre o processo de irradiação. Isso demonstra que o tratamento não acarretou rejeição por parte desses consumidores (MARTINS *et al.*, 2012).

Por outro lado, estudos evidenciam que grande parte da população continua mal informada. Pesquisa recente realizada no Chile com 497 pessoas revelou que 76,5 % não sabiam que a irradiação pode ser utilizada como um método de conservação de alimentos, e 46 % dos entrevistados expressaram sua convicção de que alimento irradiado significa o mesmo que alimento radioativo. No entanto, 91 % afirmaram que se tornariam consumidores de alimentos irradiados se soubessem que irradiado não é de fato radioativo e que a irradiação aumenta a segurança do alimento. Além disso, mesmo com 95 % dos entrevistados não estando familiarizados com o símbolo da radura, 55,8 % responderam que iriam comprar alimentos irradiados por causa do símbolo, afirmando que o mesmo transmite a sensação de confiança e segurança (JUNQUEIRA-GONÇALVES *et al.*, 2011).

Em um estudo realizado em fevereiro de 2012 pela Angus Reid Public Opinion para a Consumers' Association of Canada, 1.006 canadenses maiores de 18 anos foram selecionados aleatoriamente e de forma a garantir uma amostragem representativa de toda a população adulta do Canadá. Os resultados demonstraram que a maioria dos canadenses estava ciente (85 %) e preocupada (70 %) com bactérias nocivas encontradas em alimentos vendidos nos supermercados. Além disso, mesmo com a maioria dos entrevistados relatando nunca ter ouvido falar do processo de irradiação de alimentos (57 %), um em cada três canadenses (34 %) foi contra a venda de alimentos irradiados nos supermercados e 46 % não estavam propensos a considerar alimentos irradiados como uma opção para suas casas.

Em 2012, Lima Filho e colaboradores (2014) realizaram três sessões de teste de aceitação sensorial; em cada uma foi servido um morango controle (sem ser irradiado)

e um morango irradiado na dose de 3,6 KGy. Na primeira sessão foi feito um teste cego, no qual 88 consumidores provaram as amostras e indicaram o quanto gostaram ou não de cada uma, sem receber informações sobre elas. Na segunda sessão o teste ocorreu após a informação sobre tratamento dado ao morango, e os mesmos consumidores provaram as amostras e indicaram o quanto gostaram ou não delas, sabendo qual era a amostra irradiada. Na terceira e última sessão, os consumidores receberam um texto explicativo sobre o processo de irradiação de alimentos e, após a leitura, avaliaram as amostras sabendo qual era o morango irradiado. Os pesquisadores puderam verificar que, quando forneceram a informação sobre o morango irradiado, a aceitação deste diminuiu significativamente ( $p < 0,05$ ). Tal resultado evidencia o receio que os consumidores têm sobre a tecnologia de radiação, e que isso acarreta menor aceitação de alimentos irradiados. Entretanto, quando forneceram o texto sobre o processo de irradiação de alimentos antes de os consumidores avaliarem as amostras, sabendo qual era a irradiada, a aceitação pelo morango irradiado aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ). Esses resultados indicam que ter conhecimento sobre o processo de irradiação é primordial para que ocorra aceitação de alimentos irradiados.

Em pesquisa de mercado realizada em 2013, foram entrevistadas 271 pessoas nos principais supermercados de Alegre, Espírito Santo, Brasil (LIMA FILHO, 2013). Verificou-se que os participantes apresentaram baixo nível de conhecimento sobre o processo de irradiação de alimentos. Aproximadamente metade deles (52 %) afirmou não saber o que é irradiação e cerca de 58 % disseram nunca ter ouvido falar sobre irradiação de alimentos. Apenas 13,7 % dos participantes souberam informar uma aplicação correta da irradiação em alimentos. Conforme comentado anteriormente, esse baixo nível de conhecimento pode justificar a baixa intenção de compra de alimentos irradiados: 56 % dos participantes afirmaram que não comprariam alimentos irradiados e 24,4 % disseram que não sabiam se comprariam.

Curiosamente, por meio de outras perguntas presentes no questionário aplicado em Alegre, verificou-se que 98 % dos consumidores que afirmaram que não comprariam alimentos irradiados consomem ou já consumiram ao menos um alimento com ingrediente irradiado. O fato de tais alimentos possuírem no rótulo a informação de que os ingredientes são irradiados demonstra que a maioria dos consumidores não possui o hábito de ler todo o rótulo dos alimentos que consome (LIMA FILHO, 2013).

Além da falta de conhecimento da população, ainda persistem vários fatores que impedem uma maior aceitação de alimentos irradiados, entre os quais se incluem: a preocupação com os possíveis riscos na utilização da irradiação; a baixa confiança nas indústrias de alimentos; o preço das instalações industriais e, conseqüentemente, dos alimentos irradiados; o pouco conhecimento da população sobre a irradiação de alimentos; e a baixa disponibilidade de produtos irradiados no mercado (LIMA FILHO; DELLA LUCIA; SCOLFORO, 2014).

### **Considerações finais**

Apesar de a tecnologia de irradiação de alimentos ser aceita cientificamente como um ótimo método de conservação e sua utilização ser permitida e regulamentada por diversos países, parte da população ainda possui receio de consumir alimentos irradiados.

Pesquisas de mercado realizadas ao longo das últimas décadas demonstram que a aceitação por alimentos irradiados vem progredindo. Conseqüentemente, são crescentes a utilização dessa tecnologia de conservação e a disponibilidade de alimentos irradiados nas gôndolas dos supermercados. Porém esse aumento tem sido lento, uma vez que boa parte da população ainda possui dúvidas sobre o consumo de alimentos irradiados.

A plena aceitação de alimentos irradiados ainda esbarra na falta de conhecimento da população sobre a tecnologia envolvida. Estudos evidenciam que, quando os consumidores têm informações sobre o processo de irradiação de alimentos, eles tendem a aceitar produtos irradiados. Portanto, é necessário investir em disseminação de conhecimento para a população.

### **Referências**

BRAND GROUP. **Irradiated seafood products**: a position paper for the seafood industry. Final Report. Chicago: Brand Group, 1986.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001**. Aprova o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos, constante do Anexo desta Resolução. Brasília: Anvisa, 2001. Disponível em: <http://>

portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/Resolucao\_RDC\_n\_21\_de\_26\_de\_janeiro\_de\_2001.pdf. Acesso em: 13 maio 2020.

BRUHN, C. M. **Consumer attitudes and market response to irradiated food**. Vienna: ICGFI, 1999.

CGEE. **Estudo da cadeia de suprimento do Programa Nuclear Brasileiro**. Relatório parcial. Irradiadores e aplicações. Panorama – Análise de oportunidades e desafios para o segmento de irradiadores e aplicações na cadeia produtiva do agronegócio. Brasília: CGEE, 2010.

CGIIA. **A irradiação de alimentos: ficção e realidade**. Fichas descritivas do Grupo Consultivo Internacional sobre Irradiação de Alimentos (CGIIA). Edição CDTN/Cnem e Governo do Estado de Minas Gerais. Tradução de Luiz Carlos Duarte Ladeira. Belo Horizonte: Lê, 1995.

CONSUMERS' ASSOCIATION OF CANADA. **Food irradiation survey**. Vancouver: Angus Reid Public Opinion, 2012.

DELLA LUCIA, S. M. *et al.* Características não sensoriais e o comportamento do consumidor: conceitos e métodos estatísticos de avaliação. *In*: MINIM, V. P. R. (ed.). **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2010. p. 125-167.

DERUITER, F. E.; DWYER, J. Consumer acceptance of irradiated foods: dawn of a new era? **Food Service Technology**, Hoboken, v. 2, n. 2, p. 47-58, June 2002.

EFSA. Statement summarizing the conclusions and recommendations from the opinions on the safety of irradiation of food adopted by the Biohaz and CEF panels. **EFSA Journal**, Parma, v. 9, n. 4, p. 2.107, Apr. 2011.

EUSTICE, R. F.; BRUHN, C. M. Consumer acceptance and marketing of irradiated foods. *In*: FAN, X.; SOMMERS, C. H. (ed.). **Food irradiation research and technology**. 2nd ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2013. p. 173-195. Institute of Food Technologists Series.

FAN, X. Irradiated ground beef for National School Lunch Program. *In*: FAN, X.; SOMMERS, C. H. (ed.). **Food irradiation research and technology**. 2nd ed. Ames: Willey-Blackwell, 2013. p. 237-248. Institute of Food Technologists Series.

FAN, X. *et al.* Sensory evaluation of irradiated ground beef patties for the National School Lunch Program. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 9, p. S394-S387, Dec. 2004.

FDA. Irradiation in the production, processing and handling of food. **Federal Register**, Rules and Regulations, v. 77, n. 231, p. 71312-71316, 30 Nov. 2012.

FERRIER, P. Irradiation of produce imports: small inroads, big obstacles. **Amber Waves**, Washington, D. C., v. 9, n. 2, p. 24-31, June 2011.

GALLUP ORGANIZATION. ABT Associates. Center of Food Safety and Quality Enhancement. University of Georgia. **Consumer awareness, knowledge and acceptance of food irradiation**. Arlington: American Meat Institute Foundation, 1993.

GMA. **Food irradiation**: a guide for consumers, policymakers and the media. Washington, D. C.: GMA, 2009. Disponível em: <https://www.scantechsciences.com/wp-content/uploads/2017/03/GMA-Science-Policy-Paper-2009.Irradiation.pdf>. Acesso em: 14 maio 2020.

GUNES, G.; TEKIN, M. D. Consumer awareness and acceptance of irradiated foods: results of a survey conducted on Turkish consumers. Research note. **LWT – Food Science and Technology**, v. 39, p. 443-447, 2006.

HENSON, S. Demand-side constraints on the introduction of new food technologies: the case of food irradiation. **Food Policy**, v. 20, n. 2, p. 111-127, Apr. 1995.

HUANG, C. L.; WOLFE, K.; MCKISSICK, J. Willingness to pay for irradiated meat products: a comparison between poultry and pork. **Southern Business and Economic Journal**, v. 30, n. 1-2, p. 71-78, 2007.

HWANG, Y. J.; ROE, B.; TEISL, M. F. An empirical analysis of United States consumers' concerns about eight food production and processing technologies. **AgBioForum**, Columbia, v. 8 n. 1, p. 40-49, 2005.

ICGFI. **Facts about food irradiation**. Vienna: Iaea, 1999.

JOHNSON, A. M. *et al.* Consumer attitudes towards irradiated food: 2003 vs. 1993. **Food Protection Trends**, Des Moines, v. 24, n. 6, p. 408-418, 2004.

JOINT FAO/IAEA. Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. **Food irradiation: a better way to kill microbes associated with food borne illness**. Vienna: Joint FAO/Iaea Programme, 2017. Disponível em: <http://www-naweb.iaea.org/nafa/news/food-irradiation.html>. Acesso em: 21 mar. 2020.

JUNQUEIRA-GONÇALVES, M. P. *et al.* Perception and view of consumers on food irradiation and the radura symbol. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 80, n. 1, p. 119-122, Jan. 2011.

LIMA FILHO, T. **Irradiação de morangos**: limiares de rejeição e detecção sensorial e impacto da tecnologia de conservação sobre a aceitação e as percepções dos consumidores. 2013. 226 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2013.

LIMA FILHO, T.; DELLA LUCIA, S. M.; SCOLFORO, C. Z. Alimentos irradiados: motivos para sua aceitação ou rejeição pelos consumidores. *In*: TEIXEIRA, L. J. Q.; OLIVEIRA, A. N.; SARTORI, M. A. (ed.). **Tópicos especiais em engenharia de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2014. p. 179-194.

LIMA FILHO, T. *et al.* Irradiation of strawberries: influence of information regarding preservation technology on consumer sensory acceptance. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 26, p. 242-247, Dec. 2014.

LYNCH, M. F.; TAUXE, R. V.; HEDBERG, C. W. The growing burden of foodborne outbreaks due to contaminated fresh produce: risks and opportunities. **Epidemiology & Infection**, Cambridge, v. 137, n. 3, p. 307-315, Apr. 2009.

MARTINS, C. G. *et al.* **Acceptance and purchase intention of irradiated foods in Brazil**: effect of positive information. Lima: PUCP, 2012. (Centrum Católica's Working Paper Series, n. 2012-09-0017, Sept. 2012).

MOREHOUSE, K. M.; KOMOLPRASERT, V. Irradiation of food and packaging: an overview. *In*: KOMOLPRASERT, V.; MOREHOUSE, K. M. (ed.). **Irradiation of food and packaging**: recent developments. Washington, D. C.: American Chemical Society, 2004. p. 1-11. (ACS Symposium Series, n. 875).

MOSTAFAVI, H. A.; MIRMAJLESSI, S. M.; FATHOLLAHI, H. The potential of food irradiation: benefits and limitations. *In*: ELISSA, A. H. A. (ed.). **Trends in vital food and control engineering**. Rijeka: InTech, 2012. p. 43-68.

MULIK, K.; FOX, J. A.; BOLAND, M. A. Acceptability of irradiation technology to food service providers. *In*: SOUTHERN AGRICULTURAL ECONOMICS ASSOCIATION ANNUAL MEETING, 35., 1-5 Feb. 2003, Mobile. **Selected Papers** [...]. Mobile: Saea, 2003. p. 1-17.

NATIONAL CATTLEMEN'S BEEF ASSOCIATION. **Irradiation**: consumer perceptions. Centennial: NCBA, 2002.

ORNELLAS, C. B. D. *et al.* Atitude do consumidor frente à irradiação de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 211-213, jan./mar. 2006.

PUBLIC CITIZEN. D. C. School Board bans irradiated food from School Lunch Program. **Public Citizen**, 20 May 2004. Disponível em: <https://www.citizen.org/news/d-c-school-board-bans-irradiated-food-from-school-lunch-program/>. Acesso em: 14 maio 2020.

RESURRECCION A. V. A. *et al.* Consumer attitudes toward irradiated food: results of a new study. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 58, n. 2, p. 193-196, Feb. 1995.

SCHUTZ, H. G.; BRUHN, C. M.; DIAZ-KNAUF, V. Consumer attitude towards irradiated foods: effects of labeling and benefits information. **Food Technology**, Chicago, v. 43, n. 10, p. 80-86, 1989.

SILVA, A. L. F.; ROZA, C. R. Uso da irradiação em alimentos: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 28, n. 1, p. 49-56, jan./jun. 2000.

SOMMERS, C. H. Recent advances in food irradiation-mutagenicity testing of 2-dodecylcyclobutanone. *In*: JUNEJA, V. K.; CHERRY, J. P.; TUNICK, M. H. (ed.). **Advances in microbial food safety**. Washington, D. C.: American Chemical Society, 2006. p. 109-120. (ACS Symposium Series, n. 931).

SPAULDING, A. D.; WIEGAND, B. R.; O'ROUKER, P. D. Consumer knowledge and perceptions of food irradiation ground beef study. **Journal of Food Distribution Research**, Annapolis v. 37, n. 1, p. 127-173, 2006.

STEPHEN, G. S.; DOWNING-MATIBAG, T. Consumer acceptance of food irradiation: a test of the recreancy theorem. **International Journal of Consumer Studies**, Hoboken, v. 33, p. 417-424, 2009.

THOMAS, P. A. Food irradiation and the consumer. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 35, n. 1-3, p. 342-344, 1990.

USDA. Food and Nutrition Service. **Questions and answers on irradiated ground beef**. Release n. qa0172.03. Washington, D. C.: Usda, 2003.

VITAL, H. C.; HERNANDES, N. K.; SANTOS, A. A conservação de alimentos por irradiação. **Revista CTEx P&D**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 2, p. 45-50, 2008.



## Capítulo 14

---

# *Princípios da secagem de alimentos*

Cintia da Silva Araújo

Leandro Levate Macedo

Wallaf Costa Vimercati

Ramon Ramos de Paula

Luciano José Quintão Teixeira

Sérgio Henriques Saraiva

### **Introdução**

A secagem representa uma boa alternativa tecnológica para reduzir perdas de alimentos. Segundo Fellows (2000), secagem, ou desidratação, é definida como a aplicação de calor, sob condições controladas, para remover a maior parte da água normalmente presente em um alimento por meio de evaporação.

O processo é caracterizado pela transferência da água contida no alimento para o ar não saturado. A secagem envolve transferência de calor e massa: a transferência de calor pode ser realizada por convecção, condução ou radiação; a de massa ocorre na forma de líquido ou vapor para a área externa do alimento e de vapor para o meio circunvizinho (EVANGELISTA NETO, 2013; MARTINS, 2015).

A remoção de água pode causar e/ou acelerar reações físicas, químicas e bioquímicas (às vezes influenciadas pelo valor de atividade de água ( $A_w$ ) do alimento

seco), as quais podem ser desejáveis ou indesejáveis, como o escurecimento não enzimático, caramelização, oxidação lipídica, perda de nutrientes, perda de voláteis e desnaturação das proteínas no produto (MUJUMDAR, 2006; SMITH; HUI, 2004).

A principal finalidade da secagem é prolongar a vida de prateleira dos alimentos pela redução da atividade de água ( $A_w$ ). Mas o processo também proporciona outras vantagens, por exemplo: facilidade no transporte e comercialização; baixo custo de armazenagem devido à economia de energia por não necessitar de refrigeração; redução das perdas pós-colheita; estabilidade dos componentes aromáticos à temperatura ambiente por longos períodos de tempo; e disponibilidade do produto em qualquer época do ano (PARK; YADO; BROD, 2001; CELESTINO, 2010).

O processo de secagem é caracterizado por três etapas. Inicialmente, a pressão parcial de vapor da água na superfície do material é baixa e, por isso, as taxas de transferência de calor e massa também são baixas. Quando o produto alcança maiores temperaturas, ocorre o aumento dessas taxas. Esse período é chamado de período de indução e estabilização. Em seguida, ocorre a etapa de taxa constante, na qual a taxa de migração da água do interior do produto para sua superfície é igual à taxa de evaporação da superfície para o ambiente, o que acontece até que um teor crítico de umidade seja alcançado. A partir desse ponto, à medida que o teor de umidade diminui, igualmente ocorre uma gradual diminuição da taxa de secagem (FELLOWS, 2006).

Os fluidos possuem moléculas que interagem entre si por meio de forças moleculares. Nas camadas superficiais existem forças que não estão na condição de equilíbrio e provocam um efeito de tensão superficial, similar a uma membrana elástica (WOLF; SANTOS; PHILIPPI, 2006). Com o aumento da temperatura, as moléculas entram em um estado de colisão, provocando a diminuição da força das ligações intermoleculares e, conseqüentemente, a diminuição da tensão superficial na superfície do líquido, e tal processo promove a separação das moléculas e a passagem do estado líquido para o de vapor (MAK; WONG, 1990).

A eficiência energética, o tempo de secagem e a qualidade do produto alcançado, entre outros fatores, são características determinantes na escolha do método de secagem. O ideal é que haja um equilíbrio entre eles para se atingir o objetivo econômico, além de garantir um alimento seguro e com qualidade sensorial desejada.

Há vários tipos de processos de desidratação, que, em geral, podem ser divididos em dois grandes grupos: em atmosfera normal e a vácuo. Os processos a vácuo são de uso

preferencial no processamento de produtos sensíveis ao oxigênio e ao calor, visto que podem ser utilizadas temperaturas relativamente baixas (CHEN; MUJUMDAR, 2008).

Os métodos de secagem também podem ser classificados quanto ao fornecimento de calor (contínuo ou intermitente), ao uso de secadores (natural ou artificial) e à movimentação do material a ser seco (estacionário ou móvel) (GARCIA *et al.*, 2004). A secagem natural é aquela que ocorre sem a interferência do homem e se processa pela ação dos ventos e do sol, que retiram a umidade do produto. Por conseguinte, é um processo lento e altamente dependente das condições ambientais. Já na secagem artificial são utilizados meios mecânicos ou elétricos, e a passagem do ar é forçada pelo produto, o que torna o processo mais rápido e permite mais fácil controle das condições de secagem (GARCIA *et al.*, 2004; SILVA; AFONSO; DONZELLES, 2008). A secagem artificial pode ainda ser conduzida a altas ou baixas temperaturas: é considerada secagem a baixa temperatura quando utiliza ar natural ou com aquecimento inferior a 10 °C; e a alta temperatura quando o aquecimento do ar de secagem for superior a 10 °C (SILVA; AFONSO; DONZELLES, 2008).

### **1. Secagem por atomização (*spray dryer*)**

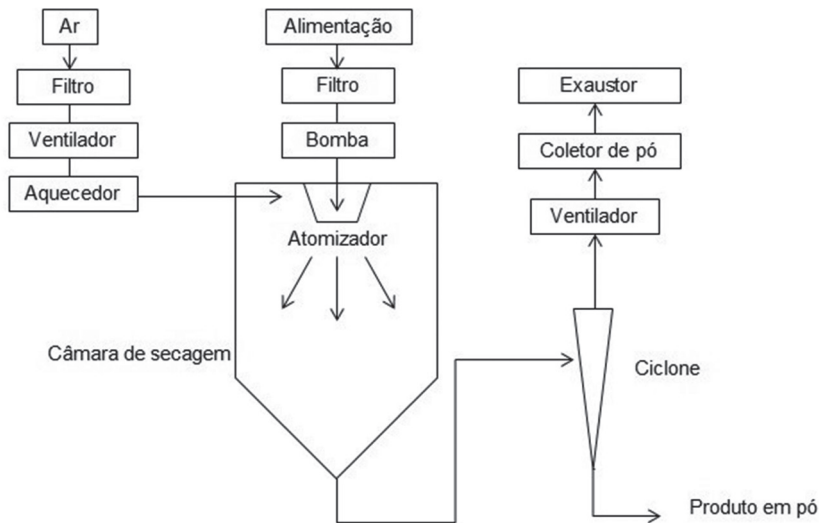
A secagem por pulverização (*spray dryer*) é um dos métodos mais utilizados no mundo ocidental para secar alimentos líquidos. As primeiras aplicações industriais estão relacionadas às indústrias de laticínios e de sabão na década de 1920. Porém a referência mais antiga de sua utilização é de 1865, para a desidratação de ovos (MASTERS, 2002). Embora o desenvolvimento do processo esteja intimamente associado à indústria de laticínios e à demanda por secagem de leite, essa tecnologia tem sido desenvolvida e expandida para cobrir um grupo não somente de alimentos como também de produtos relacionados a biotecnologia agroquímica, química, concentrados minerais, farmacêuticos, entre outros (MUJUMDAR, 2006).

O *spray dryer* é uma técnica que utiliza atomização de líquido para criar gotículas e deixar as partículas em suspensão, as quais são secadas individualmente quando entram em contato com um meio gasoso quente, usualmente ar. A diferença de temperatura e pressão parcial da água entre o produto e o ar resulta na transferência de energia na forma de calor do ar para o produto e na consequente transferência de água do produto para o ar.

Grandes quantidades de gotículas individuais do líquido são formadas pelo atomizador – o do tipo disco rotativo é o mais utilizado em escala industrial. Geralmente localizado na região central da câmara de secagem, o atomizador pulveriza as gotas, resultando em uma rápida evaporação da água a uma temperatura relativamente baixa, devido à grande área superficial das gotas, o que minimiza os danos térmicos ao produto. A secagem das gotículas continua no interior da câmara de secagem até atingir as características de partícula desejadas. A separação das partículas secas e o subsequente recolhimento são realizados em equipamentos externos, como ciclones ou sacos-filtro (CHEN; MUJUMDAR, 2008; SCHUCK, 2009).

O fluxograma de operação do *spray dryer* em sistema de fase única pode ser visualizado na Figura 1.

**Figura 1 – Processo de secagem por atomização**



Fonte: Elaboração própria.

Durante esse processo, o caminho percorrido pela água do interior da gotícula até a superfície é muito curto, o que diminui o tempo necessário para transformar as gotas líquidas em partículas sólidas: geralmente de um a vinte segundos (BRENNAN, 2006). O fato de se tratar de uma operação relativamente rápida e contínua torna o processo

de secagem por *spray dryer* vantajoso. Além disso, permite adaptar um controle automático total, e com o controle das condições de secagem é possível manter constantes as características do pó no final do processo (MASTERS, 1985).

Diversos são os fatores que influenciam as características do produto final desidratado por atomização, entre as quais se destacam: tipo de atomizador; pressão e temperatura de entrada e saída do ar de secagem; propriedades do líquido atomizado (TONON; BRABET; HUBINGER, 2008). Vários estudos mostram que o sistema de secagem por pulverização permite adaptações quanto às temperaturas de entrada e vazão de ar, o que influencia diretamente na temperatura de saída do pó, bem como nas características do produto final.

Perrone e colaboradores (2013) determinaram a influência das condições de operação em *spray dryer* piloto sobre a umidade e a atividade de água do leite em pó integral. Seis tratamentos foram empregados, variando-se a temperatura, a vazão de ar na câmara e a vazão de produto. Os resultados indicaram que o tratamento com menor temperatura do ar de entrada, menor vazão de ar e menor temperatura do ar de saída possibilitou que o leite em pó integral tivesse atividade de água média superior a 0,200 (0,236), o que o torna inadequado. O controle de apenas um único atributo durante a secagem não possibilitou a padronização da umidade e da atividade de água do leite em pó.

Por sua vez, Esteves (2006) variou a temperatura do ar de entrada (140 °C a 170 °C) e a rotação do disco atomizador (27.000 a 33.000 rpm) durante a secagem de extrato de café por *spray dryer*. Os resultados mostraram que o tamanho da partícula do pó apresentou uma tendência a aumentar proporcionalmente à diminuição da temperatura de secagem. Além disso, o aumento tanto da temperatura quanto da velocidade de rotação do disco influenciou inversamente os valores de atividade de água, mas não os valores de densidade aparente.

## **2. Secagem por liofilização**

Liofilização é um processo de secagem em que o meio de suspensão do alimento é cristalizado a baixas temperaturas e, posteriormente, passa por um processo de sublimação, ou seja, mudança de fase do estado sólido diretamente para fase de vapor. O principal objetivo da secagem por liofilização é a fabricação de um produto que permaneça estável durante o armazenamento, com seu volume pouco

diminuído e com suas características sensoriais e nutritivas quase intactas após a reconstituição com água, embora isso também dependa da embalagem e das condições de armazenamento (OETJEN; HASELEY, 2004; EVANGELISTA, 2005; REY; MAY, 2010).

Durante o congelamento, são formados os poros no material a ser desidratado, e essa é a etapa mais importante, pois a formação correta dos poros (tamanho, distribuição) é essencial para garantir a qualidade final após a liofilização, influenciando a consistência, a cor e a retenção de aroma.

Os cristais de gelo devem possuir tamanhos e dispersão homogêneos para que a taxa de transferência de massa seja mais alta e, conseqüentemente, o produto desidrate de modo mais acelerado. Para tanto, o ideal é que o produto cristalize por meio do congelamento rápido. Reações de degradação que ocorrem normalmente durante a secagem (tais como a reação de Maillard, reações enzimáticas e desnaturação de proteínas) são minimizadas pela rápida transição de fases, o que também preserva a qualidade do produto. Alimentos, como carnes, café, sopa e leite, materiais biológicos e fármacos, como vacinas e antibióticos, são frequentemente processados por esse método pela necessidade de manutenção de suas características (LIAPIS; BRUTTINI, 1987; BOSS, 2004).

Após o congelamento, inicia-se a fase de secagem primária, em que a água é removida pelo processo de sublimação e o vapor de água produzido é transportado por difusão e convecção através dos poros, percorrendo o caminho para a câmara de secagem do liofilizador. A fase de secagem secundária tem início após a remoção de todo o gelo e é realizada por meio de um pequeno aumento da temperatura, ainda abaixo da temperatura de degradação do produto, com o objetivo de remover a água residual e o vapor de água para evitar a reabsorção na superfície cristalina do produto (BOSS, 2004).

Basicamente, um liofilizador é constituído de quatro elementos: uma fonte de calor, uma bomba de vácuo, uma câmara de secagem e um condensador. A câmara de secagem pode ser constituída por bandejas, para disposição dos alimentos sólidos, ou por adaptadores para frascos, utilizados na secagem de produtos líquidos. E o condensador tem a função de remover os vapores gerados, condensando-os por sublimação inversa, ou seja, transformando-os em gelo (FELLOWS, 2006; JENNINGS, 2008 *apud* ROCHA *et al.*, 2014).

Estudos indicam que a utilização da técnica de liofilização é promissora devido à possibilidade de boa reidratação, inclusive de alimentos sólidos, além da manutenção das características nutricionais.

Marques (2008) avaliou as características de cinco frutas tropicais: abacaxi, acerola, goiaba, mamão e manga. As frutas liofilizadas apresentaram características de alta porosidade, alta taxa de reidratação e elevada preservação de nutrientes.

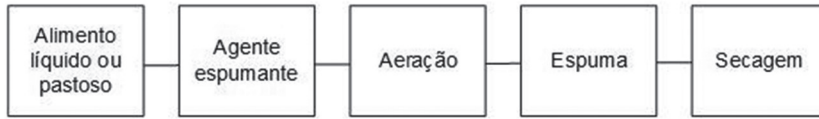
Menezes, Torres e Srur (2008) avaliaram algumas das características físico-químicas de polpa de açaí liofilizada. Os resultados mostraram que o teor de carboidratos totais foi de  $42,53 \% \pm 3,56$  e o de proteínas foi de  $8,13 \text{ g} \pm 0,63$  por 100 g de produto. Na avaliação do perfil de minerais, o potássio (900 mg/100 g de polpa de açaí liofilizada) e o cálcio (330 mg/100 g de polpa de açaí liofilizada) foram os minerais observados em maior abundância. Os autores concluíram que esse processo pode ser considerado uma excelente alternativa de conservação da polpa de açaí devido à presença e manutenção de importantes componentes nutricionais encontrados nela após a liofilização.

Vieira, Nicoleti e Telis (2012) realizaram um trabalho com o objetivo de avaliar a cinética de secagem e os parâmetros de qualidade (conteúdo de vitamina C, reidratação e textura) de fatias de abacaxi liofilizadas em função da espessura e da temperatura de congelamento. Em relação ao teor de vitamina C retido ao final do processo, o comportamento dessa variável teve efeitos distintos quanto à espessura das fatias, sendo maior a retenção de vitamina C para as fatias de menor espessura. O maior grau de dureza foi encontrado nas amostras submetidas a condições intermediárias de temperatura de congelamento e de espessura (1 cm). E o índice de reidratação se mostrou mais vantajoso em temperaturas mais altas de congelamento e em fatias mais finas.

### **3. Secagem em leito de espuma**

A secagem em leito de espuma (*foam-mat drying*) é um método desenvolvido por Arthur Morgan Jr. e colaboradores em 1959 para secagem de alimentos líquidos ou semilíquidos, como sucos, extratos e polpas. O alimento é transformado em espuma estável pela adição de agentes espumantes, como albumina, carbonato de cálcio e pectina, e incorporação de ar por um processo de aeração, que ocorre, em geral, por corrente de ar quente (FELLOWS, 2006; MARQUES, 2009; KADAM; BALASUBRAMANIAN, 2011). A Figura 2 apresenta as etapas desse processo.

**Figura 2 – Fluxograma da secagem em leito de espuma**



Fonte: Elaboração própria.

A secagem em leito de espuma destaca-se pela rapidez e pelas baixas temperaturas ao ser comparada com outros métodos, como a secagem de uma camada similar de líquido, o *spray drying* e o tambor rotativo. A rapidez se deve aos espaços preenchidos com ar na estrutura da espuma, o que facilita a passagem de água (FELLOWS, 2006; RONCHETI *et al.*, 2014). A possibilidade de uso de temperatura menores, como 50 e 60 °C, durante a secagem contribui para a conservação de sabor, compostos aromáticos e nutrientes dos alimentos (FRANCIS, 2000). Em contrapartida, a secagem em leito de espuma não é ideal para atender à produção em grande escala, visto que a camada de espuma apresenta espessura inferior a um centímetro (RAJKUMAR *et al.*, 2007; MARQUES, 2009). A dificuldade na formação de espuma estável é outra desvantagem desse método. Diversos fatores influenciam a formação, a estabilidade e a densidade da espuma, como a natureza do material, o teor de sólidos solúveis, o tipo e a concentração do emulsificante (MARQUES, 2009; THUWAPANICHAYANAN; PRACHAYAWARAKORN; SOPONRONNARIT, 2008).

A espuma é definida como uma dispersão de bolhas de gás dentro de um componente semissólido ou líquido e com alta viscosidade. A estabilidade é o atributo mais importante na avaliação da qualidade da espuma e pode ser garantida pela adição de agentes estabilizantes, baseando-se na redução da tensão superficial da espuma (MUTHUKUMARAN; RATTI; RAGHAVAN, 2008). No entanto, agentes estabilizantes podem alterar algumas das características sensoriais do alimento (MARQUES, 2009).

Esse método de secagem tem sido empregado para uma grande variedade de alimentos, principalmente os sensíveis ao calor, oferecendo grandes possibilidades comerciais. Aplicações foram verificadas em banana (FALADE; OKOCHA, 2012), camarão (AZIZPOUR; MOHEBBI; KHODAPARAST, 2016), carambola (KARIM;

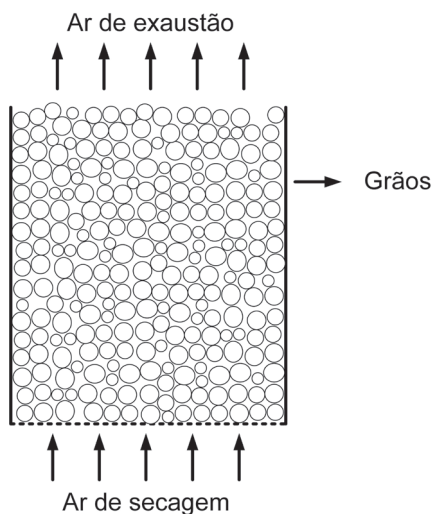


WAI, 1999), clara de ovo (DJAENI; PRASETYANINGRUM; SASONGKO, 2015), graviola (BAPTESTINI *et al.*, 2015), mamão (KANDASAMY *et al.*, 2012) e tomate (KADAM; BALASUBRAMANIAN, 2011).

#### 4. Silo secador-armazenador

O silo secador-armazenador compõe-se de cilindros que possuem fundo perfurado por onde o ar de secagem é insuflado e passa pela camada de produto que permanece em repouso no interior do secador (GARCIA *et al.*, 2004). Durante a secagem em leito fixo formam-se três regiões distintas de umidade dentro do silo. A secagem tem início na região inferior em sentido aos alimentos, onde ocorre a troca de umidade, e progride até a camada superior do silo, conforme apresentado no esquema ilustrativo na Figura 3 (SILVA; AFONSO; DONZELLES, 2008).

**Figura 3 – Silo secador-armazenador**



Fonte: Elaboração própria.

Pode-se utilizar o ar de secagem sem aquecimento e, dessa forma, a secagem ocorre por meio do equilíbrio higroscópico entre o ar de secagem e o material e irá depender basicamente da temperatura e da umidade relativa do ar ambiente, o que

torna o processo bastante lento, mas que, quando bem projetado, fornece produtos de excelente qualidade (QUEIROZ; PEREIRA, 1982; MILMAN, 2002).

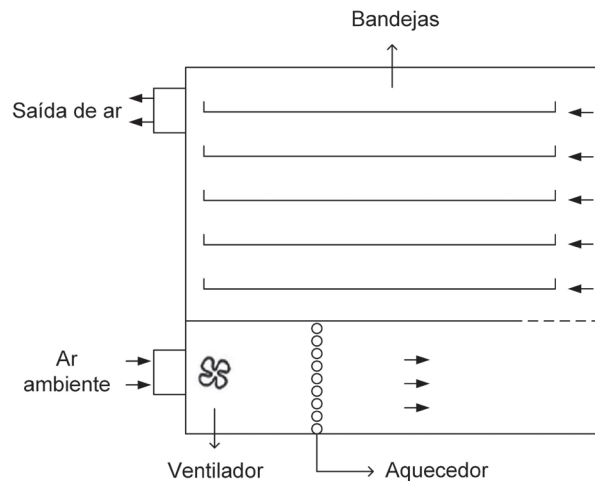
Muitas aplicações para esse tipo de equipamento têm sido verificadas para produtos agrícolas, especialmente grãos e sementes (GARCIA *et al.*, 2004; SILVA; AFONSO; DONZELLES, 2008; EVANGELISTA NETO, 2013; MARTINS, 2015).

## 5. Secador de bandeja

Os secadores de bandeja ou cabine consistem em uma câmara com isolamento externo dotado com bandejas perfuradas, nas quais os alimentos são dispostos. O ar de secagem move-se pelas bandejas ou sobre elas (FELLOWS, 2006). A dispersão do calor na câmara de secagem não é homogênea, visto que alimentos alocados mais próximos da fonte de calor tendem a perder umidade mais rapidamente. Dessa forma, o controle do processo é ruim e produzem-se alimentos com qualidades variadas (FELLOWS, 2006).

Esses secadores podem ser classificados em secador de bandeja fixa ou secador de bandeja móvel. O de bandeja fixa (Figura 4) possui um ventilador responsável pela inserção de ar no secador, um equipamento para aquecer o ar de entrada e bandejas perfuradas ou não, e esse sistema opera em batelada (LIMA NETO, 2008).

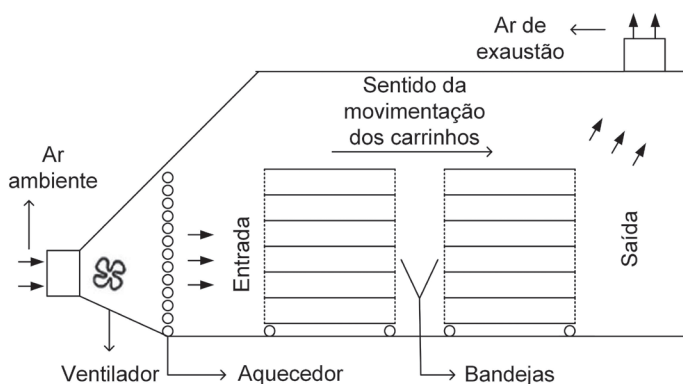
**Figura 4 – Secador de bandeja fixa**



Fonte: Elaboração própria.

O secador de bandeja móvel, por sua vez, é considerado uma adaptação do de bandeja fixa. Há movimentação das bandejas no interior da câmara de secagem e circulação de ar nos sentidos concorrente e contracorrente. Com isso, a capacidade de secagem desse modelo é maior que a do secador de bandeja fixa. A Figura 5 mostra um esquema ilustrativo do secador de bandeja móvel com sentido concorrente, cuja movimentação dos carinhos representa o ciclo com entrada e no qual há o abastecimento com alimento úmido e saída com alimento seco.

**Figura 5 – Secador de bandeja móvel com ar no sentido concorrente**



Fonte: Elaboração própria.

Os secadores de bandeja podem ser utilizados para secagem de diversos tipos de alimentos, tais como acerola (MORAES FILHO *et al.*, 2014), manga (BORGES; MENEGALLI, 1994), manjeriço (SOARES *et al.*, 2007), pimenta (REIS *et al.*, 2011) e trigo (GONELI *et al.*, 2007).

## 6. Secagem ao sol

A secagem ao sol é um dos métodos mais antigos e o mais aplicado no setor agrícola brasileiro. Caracteriza-se pela ausência de equipamentos de secagem, e os alimentos são dispostos no campo, em terreiro, telhado ou outras superfícies planas. Durante o processo, os produtos geralmente vão sendo virados até se atingir o final da secagem (FELLOWS, 2006).

Esse método se destaca por ser simples e barato, tanto para implantação quanto em relação ao custo operacional, e pela possibilidade de secagem de grandes quantidades de alimento. Além disso, não há a exigência de energia e de mão de obra qualificada. No entanto, o controle do processo e a taxa de secagem são baixos e há uma grande dependência das condições climáticas (FELLOWS, 2006).

## **7. Cinética de secagem**

A construção de curvas de secagem é realizada com os dados experimentais obtidos da própria secagem. As características dessas curvas variam de acordo com cada produto (RONCHETI *et al.*, 2014).

Para a descrição do método de secagem, utilizam-se modelos matemáticos que possibilitam a obtenção de estimativas do tempo necessário para a redução do teor de água de um produto, em diferentes condições de secagem, de modo que tais informações se tornam ferramentas úteis para as tomadas de decisão e contribuem para a melhoria da eficiência do processo (ANDRADE; BORÉM; HARDOIM, 2003; SOUSA *et al.*, 2011).

Na literatura são encontrados vários modelos que podem ser ajustados às curvas de secagem. Entretanto, a fim de minimizar erros, é aconselhável que todos sejam testados para condições específicas de secagem. O modelo de Page, Henderson e Pabis e o exponencial são os mais comumente utilizados para ajuste de curvas de secagem para alimentos em geral (SANTOS *et al.*, 2010; PAULA, 2015).

Em relação a produtos de origem vegetal, verifica-se que os estudos da cinética de secagem são empiricamente previstos por meio da utilização de equações dos modelos de Page, Henderson e Pabis e de Newton (AFONSO JÚNIOR; CORRÊA, 1999; BAINI; LANGRISH, 2007; ZANOELO, 2007).

## **Considerações finais**

A secagem é uma operação unitária tradicional e eficiente para o processamento e a conservação de alimentos. Diversos métodos de secagem têm sido continuamente desenvolvidos e aprimorados, de modo a minimizar os danos causados aos alimentos, tais como a perda de compostos bioativos, desenvolvimento de sabores estranhos

e a redução de custos de alguns processos, como a liofilização. Portanto, trata-se de uma área em constante aperfeiçoamento na engenharia de alimentos.

## Referências

AFONSO JÚNIOR, P. C.; CORRÊA, P. C. Comparação de modelos matemáticos para descrição da cinética de secagem em camada fina de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 3, n. 3, p. 349-353, 1999.

ANDRADE, E. T.; BORÉM, F. M.; HARDOIM, P. R. Cinética de secagem do café cereja, boia e cereja desmucilado, em quatro diferentes tipos de terreiros. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, n. 7, p. 37-43, 2003.

AZIZPOUR, M.; MOHEBBI, M.; KHODAPARAST, M. H. H. Effects of foam-mat drying temperature on physico-chemical and microstructural properties of shrimp powder. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 34, p. 122-126, Jan. 2016.

BAINI, R.; LANGRISH, T. A. G. Choosing an appropriate drying model for intermittent and continuous drying of bananas. **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 1, p. 330-343, 2007.

BAPTESTINI, F. *et al.* Modelagem matemática da secagem de espuma de graviola. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 12, p. 1.203-1.208, nov. 2015.

BORGES, S. V.; MENEGALLI, F. C. Influência da desidratação osmótica sobre a cinética de secagem de manga. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 637-642, abr. 1994.

BOSS, E. A. **Modelagem e otimização do processo de liofilização**: aplicação para leite desnatado e café solúvel. 2004. 129 f. Tese (Doutorado em Engenharia

Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

BRENNAN, J. G. (ed.). **Food processing handbook**. Weinheim: Wiley-VCH, 2006.

BRENNAN, J. G. *et al.* **Food engineering operations**. 2nd ed. London: Applied Science, 1976.

CELESTINO, S. M. C. **Princípios de secagem de alimentos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2010.

CHEN, X. D.; MUJUMDAR, A. S. **Drying technologies in food processing**. Chichester: Wiley-Blackwell, 2008.

DJAENI, M.; PRASETYANINGRUM, A.; SASONGKO, S. B. Application of foam-mat drying with egg white for carrageenan: drying rate and product quality aspects. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 52, n. 2, p. 1.170-1.175, Feb. 2015.

ESTEVES, B. N. **Influência do processo de secagem por pulverização mecânica (spray dryer) no tamanho da partícula e densidade aparente do café solúvel**. 2006. 86 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

EVANGELISTA NETO, A. A. **Secagem de grãos de girassol em leito fixo e em leito de jorro**. 2013. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

FALADE, K. O.; OKOCHA, J. O. Foam-mat drying of plantain and cooking banana (*Musa spp.*). **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 4, p. 1.173-1.180, May 2012.

FELLOWS, P. J. **Food processing technology: principles and practice**. 2nd ed. Boca Raton: CRC, 2000.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FRANCIS, F. J. **Wiley encyclopedia of food science and technology**. 2nd ed. New York: Wiley-Interscience, 2000. v. 1.

GARCIA, D. C. *et al.* A secagem de sementes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 603-608, mar./abr. 2004.

GONELI, A. L. D. *et al.* Estudo da difusão de umidade em grãos de trigo durante a secagem. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 135-140, jan./mar. 2007.

KADAM, D. M.; BALASUBRAMANIAN, S. Foam mat drying of tomato juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, London, v. 35, n. 4, p. 488-495, Aug. 2011.

KANDASAMY, P. *et al.* Production of papaya powder under foam-mat drying using methyl cellulose as foaming agent. **Asian Journal of Food and Agro-Industry**, Bangkok, v. 5, n. 5, p. 374-387, Oct. 2012.

KARIM, A. A.; WAI, C. C. Foam-mat drying of starfruit (*Averrhoa carambola* L.) puree. Stability and air drying characteristics. **Food Chemistry**, v. 64, n. 3, p. 337-343, 1999.

LIAPIS, A. I.; BRUTTINI, R. Freeze drying. *In*: MUJUMDAR, A. S. (ed.). **Handbook of industrial drying**. New York: Basel, 1987. p. 309-343.

LIMA NETO, H. J. **Obtenção de tomate seco através do uso de um sistema solar alternativo de baixo custo**. 2008. 87 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia

Mecânica) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2008.

MAK, S. Y.; WONG, K. Y. The measurement of the surface tension by the method of direct pull. **American Journal of Physics**, New York, v. 58, n. 8, p. 791-792, Aug. 1990.

MARQUES, G. M. R. **Secagem de caldo de cana em leito de espuma e avaliação sensorial do produto**. 2009. 84 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2009.

MARQUES, L. G. **Liofilização de frutas tropicais**. 2008. 293 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008.

MARTINS, E. A. S. **Dimensionamento e experimentação de um secador e de leito fixo para a secagem de produtos agrícolas**. 2015. 132 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2015.

MASTERS, K. **Spray drying in practice**. 6th ed. New York: Longman, 2002.

MASTERS, K. **Spray drying handbook**. 4. ed. London: George Godwin, 1985.

MENEZES, E. M. S.; TORRES, A. T.; SRUR, A. U. S. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) liofilizada. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 38, n. 2, p. 311-316, 2008.

MILMAN, M. J. **Equipamentos para pré-processamento de grãos**. Pelotas: Universitária, 2002.

MORAES FILHO, F. C. *et al.* Secagem convectiva da acerola (*Malpighia emarginata* DC.): aplicação de modelos semiteóricos. **Holos**, Natal, ano 30, v. 1, p. 86-95, 2014.



MORGAN JR., A. I. *et al.* Technique for improving instant foods. **Food Engineering**, New York, v. 31, n. 9, p. 89-94, 1959.

MUJUMDAR, A. S. **Handbook of industrial drying**. 3th ed. New York: Taylor & Francis, 2006.

MUTHUKUMARAN, A.; RATTI, C.; RAGHAVAN, V. G. S. Foam-mat freeze drying of egg white and mathematical modeling part I: optimization of egg white foam stability. **Drying Technology**, New York, v. 26, n. 4, p. 508-512, Apr. 2008.

OETJEN, G.; HASELEY, P. **Freeze-drying**. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2004.

PARK, K. J.; YADO, M. K. M.; BROD, F. P. R. Estudo de secagem de pêra Bartlett (*Pyrus* sp.) em fâneas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 3, p. 288-292, set./dez. 2001.

PAULA, R. R. **Estudo da cinética e influência dos métodos de secagem sobre as propriedades físico-químicas de soro de leite**. 2015. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2015.

PERRONE, I. T. *et al.* Influência das condições de operação em spray dryer piloto sobre a umidade e a atividade de água do leite em pó integral. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 68, n. 393, p. 5-9, jul./ago. 2013.

QUEIROZ, D. M.; PEREIRA, J. A. M. **Secagem a baixa temperatura**. Viçosa: Cetreinar, 1982.

RAJKUMAR, P. *et al.* Drying characteristics of foamed alphonso mango pulp in a continuous type foam mat dryer. **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 4, p. 1.452-1.459, Apr. 2007.

REIS, R. C. *et al.* Modelagem matemática da secagem da pimenta Cumari do Pará. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 4, p. 347-353, abr. 2011.

REY, L.; MAY, J. C. **Freeze drying/lyophilization of pharmaceutical and biological products**. 3th ed. London: Informa Healthcare, 2010.

ROCHA, C. T. *et al.* Secagem de alimentos por liofilização. *In*: TEIXEIRA, L. J. Q.; OLIVEIRA, A. N.; SARTORI, M. A. **Tópicos especiais em engenharia de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2014. p. 15-33.

RONCHETI, E. F. S. *et al.* Desidratação em leito de espuma. *In*: TEIXEIRA, L. J. Q.; OLIVEIRA, A. N.; SARTORI, M. A. **Tópicos especiais em engenharia de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2014. p. 51-64.

SANTOS, C. T. *et al.* Cinética e modelagem da secagem de carambola (*Averrhoa carambola* L.) em secador de bandeja. **Acta Scientiarum: Technology**, Maringá, v. 32, n. 3, p. 309-313, 2010.

SCHUCK, P. Understanding the factors affecting spray-dried dairy powder properties and behavior. *In*: CORREDIG, M. **Dairy-derived ingredients**. Boca Raton: CRC, 2009. p. 24-50.

SILVA, J. D. S. e; AFONSO, A. D. L.; DONZELLES, S. M. L. Secagem e secadores. *In*: SILVA, J. D. S. e (ed.). **Secagem e Armazenagem de Produtos Agrícolas**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2008. p. 107-138.

SMITH, J. S.; HUI, Y. H. **Food processing: principles and applications**. Iowa: Blackwell, 2004.

SOARES, R. D. *et al.* Influência da temperatura e velocidade do ar na secagem de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) com relação aos teores de óleos essenciais e de linalol. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1.108-1.113, jul./ago. 2007.

SOUSA, K. A. *et al.* Cinética de secagem do nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 4, p. 883-892, 2011.

THUWAPANICHAYANAN, R.; PRACHAYAWARAKORN, S.; SOPONRONNARIT, S. Modeling of diffusion with shrinkage and quality investigation of banana foam mat drying. **Drying Technology**, New York, v. 26, n. 11, p. 1.326-1.333, Oct. 2008.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 88, n. 3, p. 411-418, Oct. 2008.

VIEIRA, A. P.; NICOLETI, J. F.; TELIS, V. R. N. Liofilização de fatias de abacaxi: avaliação da cinética de secagem e da qualidade do produto. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 50-58, jan./mar. 2012.

WOLF, F. G.; SANTOS, L. O. E.; PHILIPPI, P. C. Formação e dinâmica da interface líquido-vapor simulada pelo método Lattice-Boltzmann. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 167-175, abr./jun. 2006.

ZANOELO, E. F. A theoretical and experimental study of simultaneous heat and mass transport resistances in a shallow fluidized bed dryer of mate leaves. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 46, n. 12, p. 1.365-1.375, 2007.

## Capítulo 15

---

# *Tecnologia do processamento de licor: da extração ao envelhecimento*

Milton de Jesus Filho

Laísa Bernabé do Carmo

Kátia Silva Maciel

Luciano José Quintão Teixeira

Sérgio Henriques Saraiva

### **Introdução**

Segundo Aquarone, Lima e Borzani (1993), as bebidas alcoólicas são quase tão antigas quanto a humanidade. Fenícios, assírios e babilônios, entre outros povos, mencionaram-nas em seus registros. Existem relatos de que a produção de licores também é datada milenarmente: povos antigos misturavam xarope, álcool e ervas para fazer licor, que, segundo eles, possuía alto poder digestivo. Dados de 900 a.C. mostram que o povo árabe desenvolveu melhorias nos métodos de elaboração, por meio de fermentação alcoólica. Alguns autores relatam que a tradição da produção de licor surgiu na Itália e, com o tempo, se espalhou mundialmente (CARVALHO, 2007).

Atualmente, os licores são considerados bebidas muito saborosas, com propriedades digestivas, estimulantes e reconstituintes, e são produzidos em várias regiões do

mundo, de forma artesanal ou industrial. As técnicas de produção tornaram-se mais especializadas devido à escala industrial estabelecida, porém se sabe que os licores artesanais constituem uma alternativa para aproveitamento de produtos regionais, agregando valor e renda às pequenas regiões de produção agrícola (SOUZA; BRAGANÇA, 2001).

A tecnologia de produção de licores representa uma opção refinada de aproveitamento da matéria-prima, o processamento é simples e de fácil execução, em comparação com o de outras bebidas, e o produto final, com extensa vida útil, pode ser comercializado em temperatura ambiente (TEIXEIRA *et al.*, 2005). O processamento envolve as seguintes etapas: preparo da matéria-prima, obtenção do extrato alcoólico, filtração, mistura, clarificação, envase e envelhecimento (TEIXEIRA, 2004). Podem existir variações no processo de acordo com o tipo de licor que está sendo elaborado e as etapas adotadas para tanto.

A seguir, neste capítulo, serão abordadas em maiores detalhes a composição do licor e a tecnologia do processamento desse produto, desde a extração até o envelhecimento.

## 1. O licor

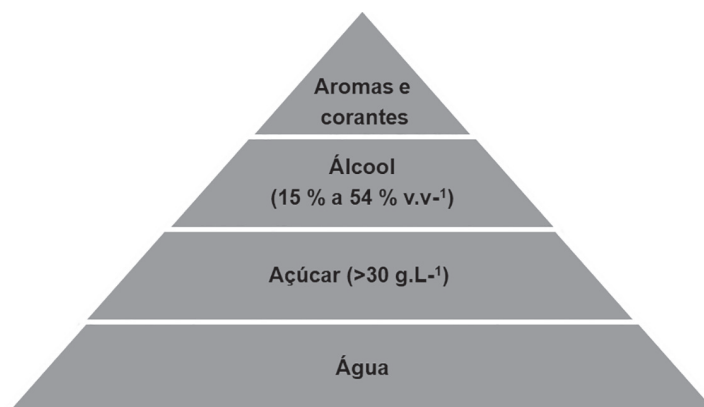
Segundo Penha (2006), o licor é uma bebida alcoólica adocicada, caracterizada pela elevada proporção de açúcar misturado ao álcool, e aromatizada por essências, frutas, raízes, sementes, ervas, flores e até cascas de vegetais, *in natura* ou desidratadas, que têm a função de definir o sabor e o aroma característico de cada produto. Sendo assim, um licor é obtido basicamente da mistura de três ingredientes: álcool, xarope de açúcar e aromatizante.

O Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, define licor como a bebida com graduação alcoólica de 15 a 54 % v.v<sup>-1</sup>, a 20 °C e com um percentual de açúcar superior a 30 g.L<sup>-1</sup>, elaborado com álcool etílico potável ou destilado alcoólico simples, ambos de origem agrícola, ou com bebidas alcoólicas, adicionada de extratos ou substâncias de origem vegetal ou animal, substâncias aromatizantes, saborizantes, corantes e outros aditivos. O produto pode ser classificado conforme a quantidade de açúcar adicionada: licor seco é o que contém entre 30 e 100 g/L de açúcares; licor fino, entre 100 e 350 g/L de açúcares; licor creme, mais de 350 g/L; e licor escarchado ou cristalizado é a bebida saturada de açúcares parcialmente cristalizados (BRASIL, 2009).

## 2. Composição dos licores

Os licores são bebidas preparadas por misturas e sua composição varia enormemente de acordo com a matéria-prima utilizada e o processo de produção empregado. Geralmente os licores contêm água, álcool, açúcar, corantes, aromatizantes (sabor e aroma) e podem conter outros elementos como minerais, fotoquímicos, ácidos orgânicos, entre outros. A Figura 1 ilustra os componentes majoritários dos licores.

**Figura 1 – Componentes majoritários dos licores**



Fonte: Elaboração própria.

### 2.1. Água

Para o processamento de licores, a água deve ser de excelente qualidade, principalmente para os licores que são preparados por processos a frio, ou seja, sem tratamento térmico.

Sendo assim, a água deverá ser potável, filtrada ou destilada, isenta de contaminação microbiana, com destaque para os patogênicos, e não possuir sabor e aroma. Deverá ter alto grau de pureza, não possuir elevada dureza, com objetivo de prolongar a vida útil e evitar problemas relacionados à estabilidade devido à presença de íons inorgânicos (SILVA *et al.*, 1997).

As águas duras devem ser evitadas, pois provocam a turvação do licor (VENTURINI FILHO, 2010).

## *2.2. Álcool*

O álcool é considerado o principal ingrediente no processamento do licor e influencia diretamente a sua qualidade. Podem ser usadas várias bebidas alcoólicas, como conhaque, uísque, cachaça, vodca ou álcool de cereais, e cada uma delas confere uma característica especial ao licor (SOUZA; BRAGANÇA, 2001; TEIXEIRA, 2004).

Embora a cachaça e o aguardente possam ser utilizados no processamento de licor, eles não permitem a obtenção de um produto de boa qualidade, por transferirem odor e sabor que anulam ou descaracterizam o aroma específico do licor e dificultam sua padronização. Entretanto, se existir interesse, a cachaça pode ser utilizada desde que se escolha um produto de excelente qualidade, origem conhecida e padronizada em relação ao teor alcoólico, para não prejudicar a qualidade do licor fabricado (BRAGANÇA, 2013).

## *2.3. Açúcar*

Podem ser empregados o açúcar cristal, o açúcar refinado ou um xarope obtido pela simples fervura de água com açúcar até a completa dissolução deste.

## *2.4. Aromas*

A utilização de partes das plantas (folhas, sementes, cascas, flores de ervas, frutos ou de partes dos frutos), derivados de óleos essenciais destilados por vapor e extratos naturais isolados ou combinados proporciona sabor e aroma ao licor. É de extrema importância estabelecer a proporção entre as substâncias utilizadas (TEIXEIRA, 2004).

A maior fonte da variedade de tipos de licores está relacionada à escolha do aroma e do tipo de extração empregado (TEIXEIRA, 2004). Durante a extração por meio da maceração, substâncias aromáticas são lixiviadas de dentro da fruta para o extrato alcoólico (HERNÁNDEZ GÓMEZ; ÚBEDA IRANZO; BRIONES PÉREZ, 2005).

No processamento de licores artesanais, é importante que a aromatização seja feita com matérias-primas naturais, cultivadas pelo próprio fabricante, pois isso permite maior controle sobre a qualidade geral do produto. Alguns frutos,

como a manga e o morango, perdem o aroma e o sabor após o envelhecimento dos licores. Por sua vez, o uso de frutas cítricas, jenipapo, pequi, jabuticaba, folha de figo, banana, erva-cidreira, menta, café, chocolate e leite oferece bons resultados (SOUZA; BRAGANÇA, 2001).

### *2.5. Corantes*

A coloração característica do licor vai depender da matéria-prima utilizada. No processamento de licor de frutas, muitas delas apresentam em sua composição pigmentos naturais responsáveis por atribuir a cor ao produto, por exemplo, os licores de jabuticaba (GEÓCZE, 2007) e de açaí (OLIVEIRA; SANTOS, 2011), em cujas etapas de infusão o pigmento antocianina é extraído.

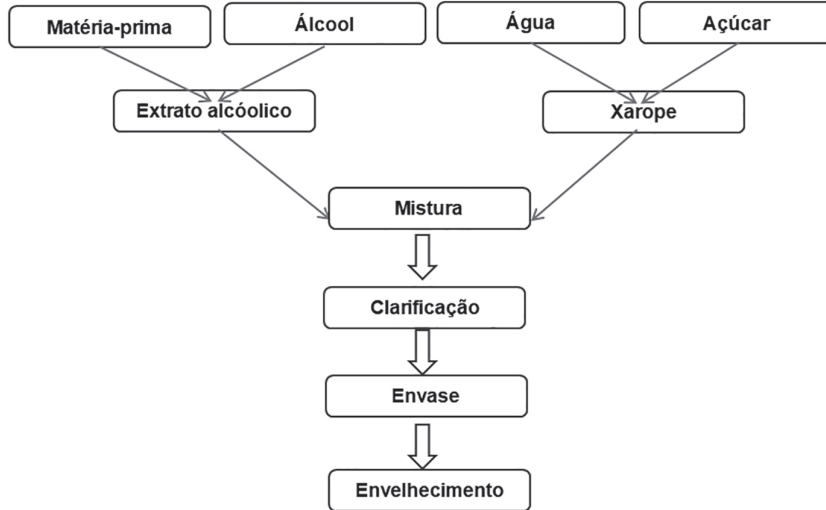
Além disso, a legislação brasileira permite a adição de corantes aos licores. Tais aditivos são aplicados principalmente naqueles licores em cujo processamento se obtém o extrato alcoólico por meio de métodos de destilação ou de adição de essências. É o caso do curaçau, que tem adição de corantes azuis, como o azul patenteado e o brilhante FCF azul.

## **3. Processamento de licor**

De acordo com Penha e colaboradores (2003), os processos empregados na elaboração de licores são considerados simples. Porém existem variações, como na etapa de elaboração do extrato, considerada o ponto mais crítico durante o processamento. Nessa etapa, mudanças na relação entre a quantidade de frutas e a quantidade de álcool utilizadas, na concentração de etanol e no tempo de extração podem produzir licores com aroma e sabor diferentes. Os estudiosos lembram da possibilidade de ocorrerem reações indesejáveis no licor que afetam algumas características sensoriais do produto, como a cor e o sabor. São, principalmente, reações oxidativas ocorridas durante o processamento da fruta na elaboração do licor, devido à exposição da fruta ao oxigênio e ao álcool, entre outros fatores. Na Figura 2, apresenta-se um fluxograma que representa as etapas geralmente empregadas para a produção de licores e que serão descritas nos tópicos seguintes.



**Figura 2 – Fluxograma do processamento de licor**



Fonte: Elaboração própria.

### **3.1. Tratamento da matéria-prima**

Quando a matéria-prima é de origem vegetal, deve-se lavá-la com água corrente de boa qualidade. Em seguida, é necessário que se faça a sanitização em água clorada, seguida de uma nova lavagem para remover o excesso de cloro e evitar a formação de trihalometanos. Dependendo da matéria-prima, ela ainda deverá ser descascada, cortada ou triturada (PENHA, 2006).

### **3.2. Preparação do xarope**

O xarope é definido como uma solução concentrada de açúcar e água que exerce influência na viscosidade, no sabor e na suavidade do licor.

É obtido pela fervura da água com o açúcar, um procedimento que facilita a posterior mistura do xarope com a solução hidroalcoólica (PENHA, 2003), pois a água em aquecimento leva a uma maior solubilidade do açúcar.

Deve-se cuidar da quantidade de água adicionada nesse preparo, uma vez que ela está diretamente relacionada à concentração da solução: um xarope pouco

concentrado está sujeito à fermentação, e, quando supersaturado, à cristalização (SOUZA; BRAGANÇA, 2001). O resfriamento do xarope deve acontecer naturalmente para que não ocorra sua cristalização.

Borges (1975) recomenda a utilização de açúcar refinado, para garantir maior qualidade ao licor, uma vez que o xarope assim formado fica mais translúcido do que os produzidos com açúcar cristal. Além disso, é aconselhado evitar o uso de mel e de glicose, pois possuem menor poder edulcorante e, apesar de serem mais solúveis em álcool, são menos solúveis em água, em comparação com o açúcar comum.

### *3.3. Obtenção do extrato alcoólico*

Os processos aplicados para obtenção do extrato alcoólico na elaboração de licor são a destilação, a maceração e a adição de essência (TEIXEIRA, 2004).

O método de destilação consiste em colocar a matéria-prima em contato com o álcool ou água por algumas horas para, na sequência, promover-se uma destilação. Esse processo é mais comum em licores fabricados a partir de sementes (destilação alcoólica) e de rosa (destilação aquosa) (PENHA, 2006).

A maceração ou infusão consiste em colocar a matéria-prima em contato com uma solução hidroalcoólica, pelo período de tempo necessário a cada material, e depois fazer uma filtração para obter o extrato alcoólico, que possui os compostos aromáticos e corantes extraídos da matéria-prima. Esse procedimento é bastante utilizado em licores produzidos a partir de frutas (SOUZA; BRAGANÇA, 2001; PENHA, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2012; JESUS FILHO *et al.*, 2018). Nestas, os componentes solúveis são encontrados no interior celular. O solvente passa para a superfície da amostra, o que em geral ocorre rapidamente. Em seguida, o solvente migra e se difunde no meio sólido – nessa etapa, muitas vezes a taxa de extração se torna menor porque as paredes celulares são resistentes à difusão, e, para resolver isso, pode-se reduzir a amostra em partículas menores, pois, assim, durante a extração o solvente percorre distâncias mais curtas e chega a um maior número de células. A seguir, o soluto é dissolvido no solvente, difundido por meio da mistura de sólido e solvente na superfície da partícula. Por fim, o soluto é transferido para a solução (GEANKOPLIS, 2007).

No caso dos licores produzidos por adição de essência, não há uma etapa de maceração; ocorre simplesmente uma mistura de essência, álcool e xarope. Esse

método é mais aplicado no caso de alguns licores artificiais e daqueles cuja matéria-prima não propicia o processo de infusão, por exemplo, os licores de chocolate, de cacau e os licores cremosos (VENTURINI FILHO, 2010).

O tempo de extração é influenciado por alguns fatores: tamanho das partículas; temperatura; agitação; velocidade em que ocorrerá a difusão dos componentes aromáticos da matéria-prima para a solução extratora; concentração de álcool; e tipo de matéria-prima utilizada. Assim, processamentos distintos requerem estudos para determinar o tempo adequado de maceração em cada caso (SOUZA; BRAGANÇA, 2001; TEIXEIRA *et al.*, 2005). Na Tabela 1 são apresentadas várias pesquisas que utilizaram tempos de extração diferentes de acordo com o tipo de matéria-prima utilizada.

***Tabela 1 – Tempo de extração aplicado em distintos processamentos de licores***

Matéria-prima	Tempo de extração (dias)	Referência
Banana	15	Teixeira e colaboradores (2007)
Banana	21	Jesus Filho e colaboradores (2018)
Leite	7	Barros e colaboradores (2008)
Casca de tangerina	7	Almeida e colaboradores (2012)
Acerola e laranja	30	Passos e colaboradores (2013)
Polpa de abacaxi	15	Simões e colaboradores (2014)
Graviola	20	Oliveira e colaboradores (2015)

Fonte: Elaboração própria.

Depois de obtido o extrato alcoólico, ele é misturado ao xarope de açúcar em proporções bem definidas para a obtenção do produto final de acordo com o estipulado em cada formulação. A mistura da solução hidroalcoólica ao xarope deve ser feita em temperatura ambiente, para evitar a perda do álcool do extrato, pois a maioria dos compostos responsáveis pelos aromas são voláteis (GEŌCZE, 2007).

### ***3.4. Formulação do licor***

Para estabelecer as proporções adequadas dos componentes do licor, o processo se inicia pelo cálculo do volume de licor a ser preparado. Nessa etapa, é preciso conhecer o volume de extrato obtido e seu teor alcoólico, pois essas são as variáveis limitantes do processo. Assim, para que o licor tenha o teor alcoólico desejado, é necessário

realizar um cálculo de concentração de soluções, considerando-se o volume e a concentração do extrato hidroalcoólico, a partir da seguinte equação matemática:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

Em que:

$C_1$  = Teor alcoólico da solução extratora (°GL);

$V_1$  = Volume do extrato (ml);

$C_2$  = Teor alcoólico do licor (°GL);

$V_2$  = Volume do licor desejado (ml).

Para calcular o teor alcoólico do extrato, primeiramente se faz a destilação da amostra e depois se mede a densidade do destilado. A partir desse dado e utilizando a tabela de conversão de densidade relativa 20 °C/20 °C, corrige-se o teor alcoólico da solução pelo fator de correção e assim se obtém o grau alcoólico real da amostra (ZENEBO; PASCUET; TIGLEA, 2008).

Existem três formas de medir a densidade do destilado com a precisão requerida para essa análise: utilizando-se um picnômetro; por meio de um densímetro analógico acoplado à balança analítica; ou com um densímetro digital.

O picnômetro é um equipamento de vidro com tampa esmerilhada, vazada por tubo capilar, o que permite seu completo preenchimento com líquidos. Sua capacidade volumétrica é facilmente determinável pela pesagem de um líquido tomado como padrão de densidade, na temperatura de operação (SANTOS *et al.*, 2009). Ele deve ser calibrado em relação à massa da água pura em temperatura de 20 °C. Esse método é rápido e bastante utilizado. No entanto, para garantir a eficiência do processo, sempre se deve atentar com precisão à temperatura, pois qualquer variação desta pode alterar a densidade (REIS, 2006).

O densímetro analógico é composto de uma proveta, uma armação para fixação dos componentes do densímetro na balança, um termômetro, um prumo de vidro para a determinação da densidade de líquidos, um suporte para amostra sólida, uma plataforma de metal para o suporte das peças do densímetro na balança e uma peça adaptadora para a montagem sobre a balança. Por meio do densímetro analógico acoplado a uma balança hidrostática, determina-se a densidade da solução da seguinte forma: a

massa de líquido deslocada é igual à massa da amostra pesada no ar, subtraída da massa da amostra pesada no líquido, dividida pelo volume do sólido (MACHADO, 2009).

A medição por densímetro digital baseia-se na frequência natural de vibração produzida pela combinação do tubo de vidro em U mais o líquido. É necessário que o tubo de vidro em U (célula de medição) esteja totalmente preenchido com o líquido, evitando-se que se formem bolhas de ar para que o resultado da análise não seja afetado. Em seguida, é realizada uma vibração a partir de um oscilador, de modo que, para cada tipo de amostra inserida na célula de medição, a frequência gerada por essa vibração seja diferente. A densidade depende da frequência que foi medida, pois, quanto maior for a frequência, menor será o período de oscilação do líquido e, conseqüentemente, menor será o valor da massa específica da amostra. Trata-se de um instrumento de leitura direta, de fácil execução, rápido nas suas medições e preciso para pequenas quantidades de amostra (SOUSA, 2015).

A seguir, apresenta-se um exemplo de como determinar as proporções adequadas de formulação para produzir licor de banana com teor alcoólico de 18 °GL e 30 % (m/v) de açúcar adicionado (os valores podem variar conforme a escolha de cada produtor, desde que se respeitem os limites legais), supondo-se que, após a etapa de extração, se obteve 2 l de extrato com o teor alcoólico de 63 °GL.

O primeiro passo é determinar qual o volume de licor a ser produzido. Para tanto, aplica-se a equação  $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$ , apresentada no início deste tópico. Do lado esquerdo da equação estão os dados referentes ao extrato e, do lado direito, aqueles relacionados ao licor a ser obtido. Substituindo-se os valores do exemplo, tem-se que:

$$63 \text{ °GL} \times 2.000 \text{ ml} = 18 \text{ °GL} \times V_2 \Rightarrow V_2 = 7.000 \text{ ml}$$

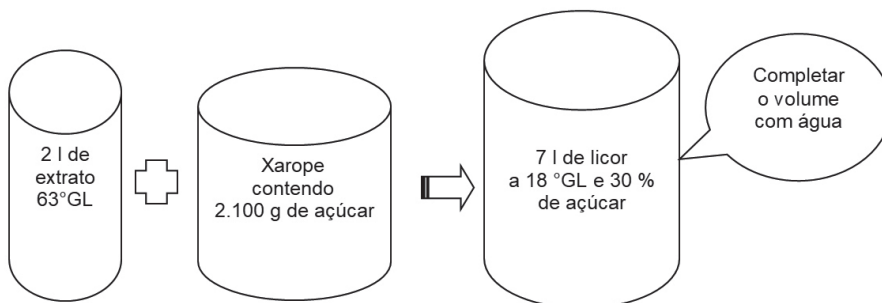
Portanto, esse extrato é suficiente para preparar 7.000 ml (7 l) de licor com teor alcoólico de 18 °GL.

O segundo passo é calcular a quantidade de açúcar (Q) que deve compor o licor para se obter 7.000 ml de licor com 30 % (m/v) de açúcar adicionado (se o volume estiver em ml, a quantidade de açúcar será dada em gramas):

$$Q = 0,30 \times 7.000 \text{ ml} \Rightarrow Q = 2.100 \text{ g}$$

Então, deve-se preparar um xarope contendo 2.100 g de açúcar utilizando-se a proporção de 3:2 (açúcar:água). Finalmente, em um recipiente com volume para 7 l, colocam-se os 2 l de extrato mais o xarope feito com 2.100 g de açúcar e, em seguida, completa-se o volume com água. Com isso, obtém-se 7 l de licor a 18 °GL e 30 % de açúcar adicionado. As etapas da mistura estão ilustradas na Figura 3.

**Figura 3 – Exemplo de formulação de licor de banana**



Fonte: Elaboração própria.

Após a formulação, o licor passa por um período de repouso, com o objetivo de decantar os sólidos insolúveis. Antes de ser envasado e passar para a etapa de envelhecimento, o licor ainda pode ser clarificado com uso de agentes clarificantes, uma etapa opcional.

### 3.5. Clarificação

Segundo Teixeira (2004), a clarificação de licores tem como intuito reduzir sua turbidez e evitar a formação de flocos que sedimentam no fundo das garrafas, para melhorar a estabilidade física e a qualidade sensorial do produto. Durante essa operação, são retidos compostos responsáveis por turbidez e sedimentação, como as pectinas, diversos carboidratos e o complexo tanino-proteína (TEIXEIRA, 2004). George (1986) explica que a turbidez pode decorrer de diferentes fatores, com destaque para a utilização de açúcar seco durante a elaboração e para a presença de pectinas das frutas usadas como matéria-prima.

Uma das maneiras mais fáceis de clarificar o licor é a decantação natural seguida da realização de uma nova filtragem e do envase do sobrenadante. Entretanto, esse processo é lento, sendo necessárias formas para acelerar essa operação. Uma das técnicas que pode ser utilizada para a melhoria do processo é a colagem, que consiste em adicionar cola de peixe, gelatina ou clara do ovo ao produto. Nesse caso, os agentes adicionados têm o objetivo de “quebrar” a suspensão, ou então agem como colóides de proteção que, ao envolverem as partículas suspensas, aceleram a sua sedimentação (VENTURINI FILHO, 2010). No entanto, por serem limitados os produtos alimentícios que podem passar por colagem, boas alternativas para acelerar a decantação são: o emprego do leite associado a alúmen de potássio, betonitas especiais e caolim (VENTURINI FILHO, 2010), o uso da terra de diatomácea (POREDA *et al.*, 2015) ou ainda o emprego de membranas (NOGUEIRA; VENTURINI FILHO, 2005).

Nogueira e Venturini Filho (2005) estudaram a clarificação do licor de acerola via microfiltração e ultrafiltração e concluíram que os licores clarificados resultaram em permeados sem turvação. Entre os parâmetros físico-químicos avaliados, só a cor foi afetada pelo processo, o que era esperado, pois a clarificação torna o produto mais translúcido.

### ***3.6. Envelhecimento***

Essa etapa promove uma mistura mais íntima dos ingredientes, com o objetivo de modificar o aroma e tornar os licores mais agradáveis. Ocorre com o decorrer do tempo de armazenamento e não há como chegar de forma artificial aos resultados desejados (VENTURINI FILHO, 2010).

Uma vez engarrafado o licor, restam pequenas quantidades de oxigênio dissolvidos no produto. Esse oxigênio residual reage completamente com outros compostos durante semanas ou meses. O licor passa, então, de um ambiente propenso à oxidação para um ambiente redutor. Nessas condições, desenvolve o aroma específico ou de envelhecimento (buquê), que é percebido se permanecer na garrafa por um período suficiente (VENTURINI FILHO, 2010).

Na literatura, há poucos trabalhos relativos a alterações no licor durante o envelhecimento. Sendo assim, não estão bem elucidadas as modificações que ocorrem nas características físico-químicas e sensoriais desse produto. Relacionam-se, na Tabela 2,

dados de pesquisas que utilizaram tempos de envelhecimento diferentes para a realização de análises em licores.

**Tabela 2 – Tempos de envelhecimento utilizados na maturação de licores**

Matéria-prima	Tempo de envelhecimento (dias)	Referência
Acerola	15	Penha e colaboradores (2003)
Banana	60	Teixeira e colaboradores (2007)
Jabuticaba	150	Geőcze (2007)
Camu-camu	30	Vieira e colaboradores (2010)
Açaí	20	Oliveira e Santos (2011)
Damasco japonês	60	Akamatsu e colaboradores (2019)
Banana	15	Jesus Filho e colaboradores (2018)

Fonte: Elaboração própria.

#### **4. Licores produzidos no mundo**

Há vários tipos de licores produzidos, e suas peculiaridades também estão relacionadas ao país em que foram desenvolvidos.

Limoncello é um licor espesso e com sabor intenso de limão, produzido originalmente no sul da Itália, especialmente na região do Golfo de Nápoles, na Costa Amalfitana e nas ilhas Ischia e Capri, mas também é produzido na Sicília e na Sardenha. É feito à base de limão, álcool, água e açúcar; deve ser mantido no congelador e, conseqüentemente, bebido bem gelado (BORGES, 2016).

Amaretto dell'Orso é um licor feito a partir de amêndoas, damasco, mel e flores. Dessa combinação resultou um produto de cor âmbar, aroma agradável e sabor único. Consagrado na Itália, seu país de origem, é hoje um dos mais consumidos no mundo (BORGES, 2016).

Bénédictine é de origem francesa e considerado um dos mais famosos e antigos licores do mundo. Possui conhaque e grande número de ervas aromáticas em sua composição, além de apresentar uma coloração amarelo-âmbar (BORGES, 2016).

Cointreau é um licor produzido em Saint-Barthélemy-d'Anjou, em Angers, na França. Para sua elaboração, é utilizada a laranja. Uma das peculiaridades desse tipo de licor é que na sua preparação não há contato do álcool com a fruta por um longo período, enquanto desprende seu buquê e sabor específicos, o que resulta num



produto final com pouca pigmentação e o torna incolor. Esse licor é consumido como digestivo e aperitivo, mas também é muito utilizado na culinária (BORGES, 2016).

Lejay Lagoute Green Apple é um licor francês, elaborado a partir de suco de limão e maçã verde. Possui cor transparente, límpida e aroma e sabor de maçã verde. Possui uma graduação alcoólica de 22 °GL e é servido gelado (BORGES, 2016).

Amarula é um licor de origem africana preparado com creme de leite e suco da fruta marula, com 17 °GL de álcool em sua composição. A bebida é destilada e envelhecida por dois anos. Em seguida, é misturada com creme, para obter-se um sabor mais suave (BORGES, 2016).

Curaçau é um licor que se originou em uma ilha do Caribe, elaborado a partir de cascas de laranja-azedas secas. Seu sabor diferenciado e estimulante se deve ao solo de Curaçau, que produz uma fruta muito ácida. É um licor do tipo Triple Sec (quando há uma terceira destilação), podendo ser encontrado também com dupla destilação (menos adocicado). Em geral, é artificialmente colorido de azul, mas também pode ser incolor ou verde, vermelho e castanho-claro. Dependendo da quantidade de destilações e do processo, sua graduação alcoólica varia de 24 °GL a 39 °GL.

Os licores da Amazônia são fabricados com frutos típicos brasileiros da floresta amazônica. São produzidos mais de vinte tipos de licores com sabores de diferentes frutas dessa região, e a matéria-prima utilizada é adquirida por meio de produtores locais. Os sabores são: abricó, açaí, acerola, araçá-boi, bacuri, buriti, café, caju, camu-camu, carambola, chichuá, cubiu, cupuaçu, energético, graviola, guaraná, jenipapo, laranja, manga, mangarataia, maracujá, murici, pitomba, tangerina e taperebá (BORGES, 2016).

### **Considerações finais**

Considera-se, na produção de licores, que a qualidade final do produto não depende somente das matérias-primas utilizadas, mas também do processamento.

A proporção de frutas e solventes, a concentração de etanol e o tempo de extração e de maturação são variáveis responsáveis pela obtenção de licores com aromas e sabores distintos. Além disso, a combinação adequada do teor alcoólico, da quantidade de açúcar e do aroma da matéria-prima utilizada pode desempenhar um papel fundamental quanto à aceitação do licor pelos consumidores.

Devido ao elevado teor de álcool e de açúcar utilizados na elaboração de licores, o produto final é considerado estável e seguro, o que permite o seu armazenamento em temperatura ambiente. Além disso, o processamento não é custoso e pode aproveitar diferentes matérias-primas que não estejam no padrão visual para a comercialização, mas mantenham as outras características de qualidade preservadas. Esse aproveitamento agrega valor à produção e diminui o desperdício, aumentando a renda familiar rural.

## Referências

AKAMATSU, F. *et al.* Carbon stable isotopic compositions of citric acid and malic acid in Japanese apricot liqueur decrease as the fruit ripens. **Food Chemistry**, v. 277, p. 70-74, 2019.

ALMEIDA, E. L. *et al.* Elaboração de licor de casca de tangerina. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 23, n. 2, p. 259-265, abr./jun. 2012.

AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Blucher, 1993. v. 5.

BARROS, J. C. *et al.* Obtenção e avaliação de licor de leite a partir de diferentes fontes alcoólicas. **Global Science and Technology**, Rio Verde, v. 1, n. 4, p. 27-33, dez./mar. 2008.

BORGES, E. P. Os licores e suas frutas, plantas e ervas. **Adega**, São Paulo, 11 maio 2016. Disponível em: [https://revistaadega.uol.com.br/artigo/frutas-plantas-ervas-e-seus-licores\\_6223.html](https://revistaadega.uol.com.br/artigo/frutas-plantas-ervas-e-seus-licores_6223.html). Acesso em: 15 maio 2020.

BORGES, J. M. **Práticas de tecnologia de alimentos**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1975.

BRAGANÇA, M. G. L. **Licor: processamento artesanal**. Belo Horizonte: Emater, 2013.

BRASIL. Presidência da República. **Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009.** Regulamenta a Lei nº 8.918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Brasília, 2009. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/2009/decreto-6871-4-junho-2009-588673-publicacaooriginal-113386-pe.html>. Acesso em: 18 maio 2020.

CARVALHO, R. F. **Produção de licores.** Dossiê técnico. Salvador: Retec/BA, SBRT, 2007.

GEANKOPLIS, C. J. **Transport processes and separation process principles:** includes unit operations. 4th ed. New Delhi: Prentice Hall of India Private, 2007.

GEÓCZE, A. C. **Influência da preparação do licor de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba Vell berg*) no teor de compostos fenólicos.** 2007. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

GEORGE, H. **Elaboración artesanal de licores.** Zaragoza: Acribia, 1986.

HERNÁNDEZ GÓMEZ, L. F.; ÚBEDA IRANZO, J.; BRIONES PÉREZ, A. Role of maceration in improving melon spirit. **European Food Research and Technology**, Berlin, n. 220, n. 1, p. 55-62, Dec. 2005.

JESUS FILHO, M. *et al.* Banana liqueur: optimization of the alcohol and sugar contents, sensory profile and analysis of volatile compounds. **LWT – Food Science and Technology**, v. 97, p. 31-38, 2018.

MACHADO, M. R. **Elaboração e validação de um fluido mimetizador do sangue humano quanto às suas propriedades ultra-sônicas, reológica e térmica.** 2009. 55 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Coppe, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

NOGUEIRA, A. M. P.; VENTURINI FILHO, W. G. Ultra e microfiltração de licor de acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 8, n. 4, p. 305-311, out./dez. 2005.

OLIVEIRA, E. N. A. de *et al.* Estabilidade física e química de licores de graviola durante o armazenamento em condições ambientais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 3, p. 245-251, mar. 2015.

OLIVEIRA, E. N. A. de; SANTOS, D. C. Processamento e avaliação da qualidade de licor de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 70, n. 4, p. 534-541, 2011.

PASSOS, F. R. *et al.* Avaliação físico-química e sensorial de licores mistos de cenoura com laranja e com maracujá. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 15, n. 3, p. 211-218, 2013.

PENHA, E. das M. **Licor de frutas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. (Coleção Agroindústria Familiar).

PENHA, E. das M. *et al.* Efeito dos teores de álcool e açúcar no perfil sensorial de licor de acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 1, p. 33-42, jan./jun. 2003.

POREDA, A. *et al.* Effects of wort clarifying by using carrageenan on diatomaceous earth dosage for beer filtration. **Czech Journal of Food Sciences**, Prague, v. 33, n. 4, p. 392-397, 2015.

REIS, J. Z. **Dosagem de etanol utilizando álcool desidrogenase de levedura de panificação**. 2006. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2006.

SANTOS, F. K. B. dos *et al.* **Laboratório de química geral**. Apostila da disciplina oferecida pelo Departamento de Agrotecnologia e Ciências Sociais da Ufersa, Mossoró, 2009.

SILVA, F. T. *et al.* Noções de boas práticas de fabricação, limpeza e sanificação. *In*: TORREZAN, R. (coord.). **Curso de processamento de frutas**. Rio de Janeiro: Embrapa-CTAA, 1997. p. 15-38.

SIMÕES, L. de S. *et al.* Estudo da extração dos componentes do abacaxi em função do teor alcoólico e do tamanho da partícula para a produção de licor de abacaxi. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 16, n. 3, p. 239-246, 2014.

SOUSA, C. L. S. **Novas possibilidades para determinação do teor de biodiesel em óleo diesel para aplicação em distribuidoras de combustíveis**. 2015. 61 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

SOUZA, C. M.; BRAGANÇA, M. G. L. **Doces de Minas: processamento artesanal de frutas**. Belo Horizonte: Cultura, 2001.

TEIXEIRA, L. J. Q. **Avaliação tecnológica de um processo de produção de licor de banana**. 2004. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

TEIXEIRA, L. J. Q. *et al.* Avaliação tecnológica da extração alcoólica no processamento de licor de banana. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 329-346, jul./dez. 2005.

TEIXEIRA, L. J. Q. *et al.* Testes de aceitabilidade de licores de banana. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 2, p. 205-209, abr./jun. 2007.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas**. São Paulo: Edgard Blucher, 2010. v. 1.

VIERA, V. B. *et al.* Produção, caracterização e aceitabilidade de licor de camu-camu (*Myrciaria dúbia* (H.B.K.) McVaugh). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 4, p. 519-522, out./dez. 2010.

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

## Capítulo 16

---

# *Farinhas mistas utilizadas em produtos panificados: importância tecnológica*

Olivia Furlan Cavallini

Raquel Vieira de Carvalho

Priscila Brigide

Antonio Manoel Maradini Filho

### **Introdução**

Os produtos de panificação são alimentos muito consumidos e difundidos em todo o mundo e considerados boa fonte de nutrientes e energia para população. Essa popularidade está relacionada, principalmente, com a sua conveniência para o consumo, os preços acessíveis e as inúmeras variedades de sabores (GOESAERT *et al.*, 2005). As diferenças nos tipos de produtos dependem da matéria-prima, da tradição a que pertence o produto, dos processos tecnológicos empregados e dos hábitos alimentares dos consumidores.

Os principais ingredientes utilizados para a fabricação de produtos panificados são farinha de trigo, água, sal e fermento biológico. Como componentes essenciais, destacam-se a farinha de trigo e a água, podendo ser adicionados os demais, como: lipídios, açúcares, fermento, ovos, leite, aromatizantes e corantes, que darão as características dos vários tipos de produtos (LAMPIGNANO *et al.*, 2013).

A farinha de trigo é o ingrediente básico na formulação, com a função de fornecer as proteínas formadoras do glúten, responsáveis pela qualidade tecnológica desses produtos. A água é importante para a formação e para o controle de temperatura da massa. O fermento biológico está relacionado com o crescimento da massa, devido à formação de gás, e com a intensificação das características sensoriais. O sal exerce influência no desenvolvimento da massa, no fortalecimento da rede de glúten, no sabor e na conservação do produto (ANVISA, 2012).

Novas propostas têm surgido no mercado, como as farinhas mistas ou compostas de cereais, leguminosas e tubérculos, que podem ser utilizadas como substitutos parciais da farinha de trigo para a elaboração de panificados, sem que as características tecnológicas e sensoriais do produto sejam comprometidas (BORGES, 2009). A utilização de farinhas mistas objetiva diminuir a dependência de importação de trigo, dada a insuficiência da produção nacional, reduzindo o custo de fabricação dos novos produtos por meio do aproveitamento de outras matérias-primas mais nutritivas.

O desenvolvimento de alimentos enriquecidos tem grande importância não só para a indústria de alimentos como também para a elevação da qualidade da alimentação e da nutrição humanas, pois permite criar produtos ou melhorar os já existentes com composições balanceadas em relação a alguns nutrientes, melhorando, dessa forma, o valor nutritivo de diversos alimentos disponíveis no mercado (FROTA *et al.*, 2010).

## **1. Características tecnológicas dos produtos panificados**

Os produtos panificados têm como ingredientes básicos de sua formulação a farinha de trigo, a água, o fermento e o sal, cada um desempenhando suas funções para o adequado desenvolvimento da massa (CANELLA-RAWLS, 2006). A adição de outros ingredientes como açúcar, ovos e gordura, entre outros, pode resultar em pães, bolos e biscoitos com diferentes e melhores características tecnológicas (CAUVAIN; YOUNG, 2009).

Segundo Cauvain e Young (2009) a qualidade dos produtos panificados pode ser determinada pela avaliação de suas características internas, externas e sensoriais, estando as duas primeiras categorias relacionadas com as propriedades tecnológicas do produto. As características externas analisadas com maior frequência são o volume, as dimensões, a cor da crosta e a aparência. Já as características internas



relacionam-se a distribuição de células, textura e cor do miolo, assim como a atributos da crosta (EL-DASH; CAMARGO; DIAZ, 1982).

A distribuição das células do miolo deve ser homogênea, sem alvéolos abertos ou fechados demais. Em relação à textura do miolo, deve ser uniforme, leve, de aspecto úmido e suave. A dureza ou firmeza dos pães está relacionada com a força aplicada para ocasionar uma deformação ou rompimento do produto; é avaliada por texturômetros mecânicos e correlacionada com a mordida humana durante a ingestão desses alimentos (ESTELLER; LIMA; LANNES, 2006). A presença de açúcares na formulação acelera as reações de caramelização e de Maillard, levando ao escurecimento progressivo da crosta e do miolo, o que pode ser desejado ou não (ESTELLER; AMARAL; LANNES, 2004).

O percentual de farinha de trigo necessário para garantir bons resultados em farinhas mistas depende tanto da qualidade e da quantidade da proteína do trigo quanto das características da farinha adicionada (BORGES, 2009).

### *1.1. Influência do glúten nas características tecnológicas*

O trigo é um dos cereais mais produzidos no mundo e dele se extrai uma farinha que possui um sabor agradável e é um ingrediente fundamental para a elaboração de produtos panificados (SCHEUER *et al.*, 2011).

A farinha de trigo possui as proteínas gliadinas e gluteninas, que formam o glúten, responsável pela elasticidade e pela consistência da massa. O glúten é formado quando a farinha de trigo, a água e os demais ingredientes são misturados e sofrem uma ação mecânica (ANVISA, 2012). À medida que a água começa a interagir com a gliadina e a glutenina, a rede de glúten começa a ser formada. Essa rede confere à massa a capacidade de extensibilidade, elasticidade e retenção do gás carbônico proveniente da fermentação, o que resulta em um aumento desejado do volume (CANELLA-RAWLS, 2006). Um glúten de boa qualidade permite expansão suficiente e boa distribuição das células de gás dentro da massa, resultando em produto volumoso e com boa textura (BORGES, 2009).

A propriedade viscoelástica do glúten hidratado é caracterizada a partir da atuação plastificante da gliadina, que promove a viscosidade da massa, e da glutenina, que propicia resistência à ruptura da massa, ou seja, a gliadina proporciona a

extensibilidade da massa e a glutenina melhora a elasticidade dela (SCHEUER *et al.*, 2011). A qualidade dos produtos panificados está, desse modo, fortemente relacionada com as propriedades das proteínas formadoras do glúten presentes na farinha de trigo utilizada na produção, e que dificilmente são encontradas em outros cereais, como a cevada e o centeio (GOESAERT *et al.*, 2005).

O desenvolvimento de produtos com matérias-primas que substituam o glúten é, portanto, um desafio para a indústria de alimentos, uma vez que elas não apresentam a mesma qualidade tecnológica quando comparadas com os derivados do trigo. Mas a demanda por produtos sem glúten é crescente e eles constituem um mercado muito carente e promissor, o dos pacientes celíacos e de outras síndromes relacionadas à sensibilidade ao glúten não celíaca (SILVA; FURLANETTO, 2010; ARAÚJO, 2010), que necessitam excluir o glúten da dieta, e o dos consumidores que não o ingerem por preferência (CAMPO *et al.*, 2016). Visando o atendimento dessas necessidades, novas técnicas têm sido desenvolvidas. Bourekoua e colaboradores (2016), por exemplo, avaliaram tratamentos hidrotérmicos de farinhas de arroz e milho como opções potenciais para produtos panificados livres de glúten. Por sua vez, Ferreira e colaboradores (2016) desenvolveram uma massa alimentícia livre de glúten com sorgo, arroz e amido de batata.

## **2. Farinhas mistas**

De acordo com a Resolução-RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2005), as farinhas são os produtos obtidos de partes comestíveis de uma ou mais espécies de cereais, leguminosas, frutos, sementes, tubérculos e rizomas por moagem e/ou outros processos tecnológicos considerados seguros para a produção de alimentos. Farinha mista ou composta é a designação utilizada quando a farinha de trigo é substituída parcialmente por outras farinhas para uso em produtos de panificação.

Ao se formular uma farinha mista, deve-se levar em consideração alguns aspectos para que seja viável a sua aplicação, como as propriedades reológicas da massa e as características físicas, sensoriais e nutricionais das matérias-primas empregadas na formulação (BORGES, 2009). A substituição parcial da farinha de trigo por outras farinhas que não contenham glúten pode reduzir o potencial panificável da mistura,

resultando em dificuldades no manuseio da massa, menor volume, aumento da firmeza, escurecimento do miolo e, em alguns casos, alteração do sabor, que pode ser benéfica ou não (WANG; ROSELL; DE BARBERA, 2002). Segundo Benassi e Watanabe (1997), para garantir esse potencial panificável, deve-se substituir parcialmente a farinha de trigo em uma determinada formulação até um limite em que não sejam comprometidas as características tecnológicas da massa e sensoriais dos produtos derivados. A porcentagem de farinha de trigo necessária para garantir bons resultados em farinhas mistas depende da qualidade e da quantidade da proteína do trigo, bem como das características da farinha adicionada.

A farinha de arroz vem sendo utilizada em panificados por ser um produto versátil, com sabor suave, propriedades hipoalergênicas, baixos níveis de sódio e com carboidratos de fácil digestão. Também por isso é uma das mais indicadas para produzir produtos sem glúten (SIVARAMAKRISHNAN; SENGE; CHATTOPADHYAY, 2004).

No entanto, cereais sem glúten, como o arroz, não preenchem as necessidades indispensáveis para o processamento de produtos fermentados panificáveis, pois, quando a farinha de arroz é amassada com água, não ocorre a formação de uma massa viscoelástica que retém o CO<sub>2</sub> formado durante a fermentação e, conseqüentemente, o produto resultante tem baixo volume específico e apresenta características muito distintas das do pão de trigo.

Segundo Reyes Aguilar, De Palomo e Bressani (2004), a substituição de farinha de trigo por farinha de arroz, em produtos de panificação, reduz a elasticidade e a capacidade de retenção de gás carbônico produzido durante a fermentação, resultando em produtos mais compactos. Isso ocorre porque o arroz tem, em comparação com o trigo, um menor teor de proteínas e porque estas são hidrofóbicas, ou seja, resistentes à absorção de água em pH neutro (KADAN *et al.*, 2001).

Muitos trabalhos estão sendo realizados com a utilização de farinhas mistas visando o aproveitamento de alimentos, um aumento da qualidade nutricional, novas tendências no consumo e nos hábitos alimentares e uma possível manutenção ou melhoria das características tecnológicas e sensoriais dos produtos panificados (ASSIS *et al.*, 2009; ARAÚJO, 2010; KRISHNAN *et al.*, 2011; SINGH; MISHRA; MISHRA, 2012; RONDA *et al.*, 2015; CAMPO *et al.*, 2016; RIZZELLO *et al.*, 2016).

Medeiros, Kwiatkowski e Clemente (2012), por exemplo, verificaram um potencial panificável para a farinha mista composta de 10 % de farinha de pupunha

(*Bactris gasipaes* Kunth) e 90 % de farinha de trigo. Como a farinha da pupunha possui granulometria fina, ao ser misturada à farinha de trigo ela diminui a força da massa pela redução do teor de glúten, e tal mistura pode ser utilizada na preparação de massas mais leves como a de bolos e biscoitos (CLEMENT; SANTOS, 2002).

### *2.1. Utilização de farinhas mistas na elaboração de pães*

Os pães são produtos obtidos da farinha de trigo (e/ou outras farinhas) adicionada de líquido, submetidos ou não a processos de fermentação e cocção. Podem conter outros ingredientes, desde que não descaracterizem os produtos (BRASIL, 2005).

Diversos estudos pesquisaram o uso de farinhas mistas para a elaboração de pães. Por exemplo, Borges (2009) utilizou farinha mista de trigo e linhaça integral para elaboração de pão de sal, nas proporções de 0 %, 10 % e 15 % de linhaça integral, e avaliou o impacto de sua utilização nas características físicas do produto e na aceitação deste pelo consumidor. Verificou que houve um aumento nos teores de fibras, lipídios e proteínas nos pães com farinha de linhaça, mas que ela influenciou negativamente as propriedades tecnológicas do produto. Borges também observou uma redução no teor de carboidratos, relacionada a uma redução na quantidade de amido, que contribui para a formação da estrutura, consistência e textura do miolo. A adição de farinha de linhaça promoveu uma redução no volume dos pães e um aumento da firmeza, que não são atributos desejáveis. Mesmo com essas características, o produto foi bem aceito sensorialmente pelos consumidores.

De acordo com Goesart e colaboradores (2005), a adição de farinhas integrais na elaboração dos pães pode ter efeito prejudicial nas propriedades reológicas da massa e na qualidade final dos produtos, dependendo do tipo de fibra. As fibras insolúveis têm grande capacidade de retenção de água, tornando esse ingrediente indisponível para o desenvolvimento do glúten, além de serem desestabilizadoras das células de gás – essas características resultam em diminuição do volume do pão. Por sua vez, as fibras solúveis têm a propriedade de reter as bolhas de gás, o que gera um efeito positivo na qualidade dos pães.

O triticale é um cereal desenvolvido pelo cruzamento do trigo (*Triticum* spp.) com o centeio (SERNA-SALDIVAR; GUAJARDO-FLORES; VIESCA-RIOS, 2004) e apresenta melhor qualidade nutricional, melhor equilíbrio de aminoácidos e maior

quantidade de lisina, em comparação com o trigo. Possui melhor propriedade panificável que o centeio, mas inferior à do trigo, devido à formação de uma massa com estrutura mais fraca. A farinha de triticale se desenvolve rapidamente, absorve menos água e possui menor estabilidade que a farinha de trigo (NAEEM *et al.*, 2002). Montenegro (2011) utilizou a farinha de triticale na elaboração de pão de forma nas proporções de 30 %, 50 %, 70 % e 100 % e verificou que a adição de triticale proporcionou uma coloração mais escura ao produto e que o teor de glúten da massa foi substancialmente reduzido e gradativamente enfraquecido à medida que se aumentava o percentual de incorporação da farinha de triticale à farinha de trigo.

Outra matéria-prima que pode ser utilizada em farinhas mistas é o *okara*, um subproduto gerado a partir do processamento do grão de soja para a produção de extrato aquoso. Conforme Bowles e Demiate (2006), o *okara* apresenta elevada qualidade nutricional e, quando desidratado, pode proporcionar melhorias em produtos alimentícios. No entanto, os pesquisadores, ao elaborarem pães do tipo francês com 5 %, 10 % e 15 % de *okara* como substituto parcial da farinha de trigo, verificaram que essa adição comprometeu o volume dos pães, provavelmente devido à diminuição da concentração do glúten do trigo na massa (BOWLES; DEMIATE, 2006).

A utilização de farinhas mistas na panificação também foi pesquisada por Soares Júnior e colaboradores (2006), que produziram pães de forma com diferentes proporções de farinha de trigo, fécula de mandioca e *okara*. Os pães elaborados com 64,1 % de farinha de trigo, 18,9 % de *okara* e 17 % de fécula de mandioca apresentaram o volume típico de um pão de forma e tiveram boa aceitação pelos consumidores.

Araújo (2010) utilizou a farinha de inhame nos percentuais de 25 % e 50 % como substituto parcial da farinha de trigo para a elaboração de pão de forma. O volume dos pães com 25 % de farinha de inhame foi semelhante ao padrão, e os pães elaborados com 50 % apresentaram um volume ligeiramente menor que o padrão.

Trabalhos que utilizaram farinhas e cereais fermentados diferentes do trigo demonstraram melhoria nas características sensoriais do produto, como aroma, aparência e flavor, e aceitação sensorial pelos consumidores. É o caso das substituições da farinha de trigo por variedades de tefe (*Eragrostis tef*) (RONDA *et al.*, 2015) ou a mistura de farinhas de tefe e outros cereais, como arroz e trigo-sarraceno (CAMPO *et al.*, 2016). Turkut e colaboradores (2016) avaliaram o uso da farinha de quinoa com farinha de arroz, trigo-sarraceno e amido de batata. A quantidade de farinha de

quinoa adicionada não gerou diferença significativa no volume, no volume específico e no teor de proteínas, e o produto apresentou bons resultados sensoriais e textura leve. Rizzello e colaboradores (2016) estudaram o potencial da farinha de quinoa na fermentação da massa do pão e verificaram melhoria nas características químicas, na textura e nos atributos sensoriais.

Essas pesquisas, entre outras, confirmam que pode haver a substituição de parte da farinha de trigo por outras farinhas sem grandes alterações do produto final.

## *2.2. Utilização de farinhas mistas na elaboração de bolos*

Embora não seja considerado um alimento básico como o pão, o bolo é aceito e consumido por pessoas de qualquer idade. É um produto obtido pela mistura, homogeneização e cozimento conveniente de massa preparada com farinhas, fermentadas ou não, e outras substâncias alimentícias, como leite, ovos e gordura (BORGES *et al.*, 2006). Com a utilização de farinhas mistas nesse preparo, ocorrem alterações nas propriedades físicas e tecnológicas que podem ser favoráveis ou não conforme o produto. No caso do bolo, a farinha fraca proporcionada pela mistura é desejável, porque a estrutura desse produto é mais leve e porosa e, portanto, depende menos de glúten, em comparação com produtos como pães (BORGES *et al.*, 2006).

Montenegro (2011) utilizou farinha de triticale para elaboração de bolo tipo inglês, nas proporções de 30 %, 50 %, 70 % e 100 % e verificou que a adição dessa farinha não afetou o volume dos bolos, mas influenciou a cor do miolo tornando-o mais escuro.

Rosa e colaboradores (2009) produziram farinha de *yacon* e a utilizaram como substituto parcial da farinha de trigo nas proporções de 10 % e 20 % para a elaboração de bolo. O produto formulado com 20 % de farinha de *yacon* apresentou-se mais firme e com maior resistência ao corte, o que não é uma característica desejável.

Estudos têm revelado propriedades tecnológicas, sensoriais, nutricionais e funcionais vantajosas da utilização de aveia na elaboração de produtos alimentícios (TEDRUS *et al.*, 2001). A aveia é um cereal que fornece um aporte energético e nutricional equilibrado, por conter em sua composição química aminoácidos, ácidos graxos, vitaminas e sais minerais indispensáveis ao organismo humano, além das fibras (SÁ *et al.*, 2000). Esse cereal pode ser utilizado como ingrediente na panificação devido às suas excelentes propriedades de absorção de umidade, que retardam

o envelhecimento de bolos, pães e biscoitos (SEABRA *et al.*, 2002). Borges e colaboradores (2006) avaliaram a viabilidade tecnológica e sensorial do uso da farinha integral de aveia em mistura com farinha de trigo na elaboração de bolos, com 0 %, 15 %, 30 % e 45 % de substituição e verificaram, no entanto, uma interferência negativa da utilização da farinha de aveia em relação ao volume do produto.

### 2.3. Utilização de farinhas mistas na elaboração de biscoitos

Biscoitos ou bolachas são produtos obtidos pela mistura de farinha, amido e/ou fécula com outros ingredientes, submetidos a processos de amassamento e cocção, fermentados ou não. Podem apresentar cobertura, recheio, formato e textura diversos (BRASIL, 2005).

Fasolin e colaboradores (2007) desenvolveram *cookies* com misturas compostas de farinha de trigo e 10 %, 20 % e 30 % de farinha de banana verde, que apresenta grande quantidade de amido resistente. Os *cookies* elaborados com 20 % e 30 % de farinha de banana verde apresentaram maior variação de peso, o que pode indicar uma menor capacidade de retenção de água pelos componentes da massa após a adição de maiores quantidades de farinha de banana verde.

Saha e colaboradores (2011) utilizaram o painço de dedo (*Eleusine coracana*), que é um grão rico em cálcio e fibra dietética e amplamente consumido no sul da Índia, e desenvolveram duas formulações com 60 % e 70 % de farinha de painço em biscoitos. Os produtos elaborados com 70 % de farinha de painço apresentaram maior expansão, e os elaborados com 60 % de painço apresentaram menor resistência à ruptura e superior fraturabilidade. Segundo Oliver, Thacker e Wheeler (1995), a dureza é um dos fatores que determina a aceitabilidade do alimento pelo consumidor e, assim como no caso da fraturabilidade, é desejável que seus valores sejam baixos. Sensorialmente, os biscoitos elaborados com painço apresentaram boa aceitação.

Assis e colaboradores (2009) elaboraram biscoitos tipo *cookie* com formulações contendo apenas farinha de trigo, farinha de aveia ou farinha de arroz parboilizado e com substituições da farinha de trigo em percentuais de 25 %, 50 % e 75 %. O cálculo da variação de peso antes e após o forneamento dos biscoitos forneceu a perda de peso no assamento, e com isso se observou que a adição de farinha de aveia na formulação dos biscoitos não influenciou a perda de peso em relação à formulação

com 100 % de farinha de trigo, provavelmente devido à maior retenção de água pelas fibras. Porém os pesquisadores verificaram um aumento no diâmetro dos biscoitos após o forneamento para todas as formulações, exceto para aquela com 100 % de farinha de arroz parboilizado (ASSIS *et al.*, 2009).

Os biscoitos geralmente apresentam aumento no diâmetro após assamento devido ao baixo conteúdo de glúten e à menor força da farinha de trigo, havendo a formação de um filme frágil em vez de uma rede viscoelástica, o que é muito positivo no caso de biscoitos (ZOULIAS; PIKNIS; OREOPOULOU, 2000).

Assis e colaboradores (2009) ainda verificaram uma redução da dureza e aumento da fraturabilidade dos biscoitos com o aumento da proporção de farinha de aveia na formulação. Os biscoitos com farinha de arroz parboilizado também apresentaram dureza menor que os biscoitos elaborados somente com farinha de trigo. Os biscoitos com farinha de aveia e arroz parboilizado apresentaram-se mais macios que os biscoitos elaborados com farinha de trigo. A redução da dureza dos biscoitos com a adição da farinha de aveia pode ser atribuída ao maior teor lipídico da aveia. E a menor dureza dos biscoitos com arroz parboilizado, comparada à da formulação com farinha de trigo, pode ser explicada pela ausência de rede proteica de glúten no arroz, o que torna a massa mais frágil.

Os pesquisadores também apontaram que os biscoitos desenvolvidos apresentaram propriedades sensoriais aceitáveis e poderiam ter uma aceitação comercial satisfatória (ASSIS *et al.*, 2009).

### **Considerações finais**

A utilização de farinhas compostas ou mistas na elaboração de produtos panificados é importante para aumentar a qualidade nutricional dos produtos, assim como para aproveitar alguns alimentos ou parte deles que são descartados como subprodutos pela indústria de alimentos. Entretanto, a incorporação de farinhas mistas deve ser bem analisada do ponto de vista tanto das propriedades tecnológicas quanto das sensoriais, para que o produto elaborado apresente características semelhantes ou superiores nutricionalmente, em comparação com as já encontradas nos panificados produzidos apenas com farinha de trigo.



## Referências

ANVISA. **Guia de boas práticas nutricionais: pão francês**. Brasília: Anvisa, 2012.

ARAÚJO, A. C. **Elaboração de pão com farinha de inhame (*Dioscorea sp.*)**. 2010. 27 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Faculdade do Vale do Ipojuca, Caruaru, 2010.

ASSIS, L. M. *et al.* Propriedades nutricionais, tecnológicas e sensoriais de biscoitos com substituição de farinha de trigo por farinha de aveia ou farinha de arroz parboilizado. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 1, p. 15-24, jan./mar. 2009.

BENASSI, V. T.; WATANABE, E. **Fundamento da tecnologia de panificação**. Rio de Janeiro: Embrapa-CTAA, 1997.

BORGES, J. T. da S. **Avaliação tecnológica da farinha mista de trigo e linhaça integral e sua utilização na elaboração de pão de sal**. 2009. 144 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

BORGES, J. T. da S. *et al.* Utilização de farinha mista de aveia e trigo na elaboração de bolos. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 145-162, jan./jun. 2006.

BOUREKOUA, H. *et al.* Developing gluten free bakery improvers by hydrothermal treatment of rice and corn flours. **LWT – Food Science and Technology**, v. 73, p. 342-350, Nov. 2016.

BOWLES, S.; DEMIATE, I. M. Caracterização físico-química de *okara* e aplicação em pães do tipo francês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 652-659, jul./set. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução-RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 184, seção 1, p. 368-369, 23 set. 2005.

CAMPO, E. *et al.* Impact of sourdough on sensory properties and consumers' preference of gluten-free breads enriched with teff flour. **Journal of Cereal Science**, v. 67, p. 74-82, Jan. 2016.

CANELLA-RAWLS, S. **Pão: arte e ciência**. 2. ed. São Paulo: Senac, 2006.

CAUVAIN, S. P.; YOUNG, L. S. **Tecnologia da panificação**. 2. ed. Barueri: Manole, 2009.

CLEMENT, C. R.; SANTOS, L. A. Pupunha no mercado de Manaus: preferências de consumidores e suas implicações. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 778-779, dez. 2002.

EL-DASH, A. A.; CAMARGO, C. O.; DIAZ, N. M. **Fundamentos da tecnologia de panificação**. São Paulo: Coodenadoria da Indústria e Comércio, 1982.

ESTELLER, M. S.; AMARAL, R. L.; LANNES, S. C. da S. Effect of sugar and fat replacers on the texture of baked goods. **Journal of Texture Studies**, Trumbull, v. 35, n. 4, p. 383-393, Oct. 2004.

ESTELLER, M. S.; LIMA, A. C. O.; LANNES, S. C. da S. Color measurement in hamburger buns with fat and sugar replacers. **LWT – Food Science and Technology**, v. 39, p. 184-187, 2006.

FASOLIN, L. H. *et al.* Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações química, física e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 27, v. 3, p. 524-529, jul./set. 2007.

FERREIRA, S. M. R. *et al.* Utilization of sorghum, rice, corn flours with potato starch for the preparation of gluten-free pasta. **Food Chemistry**, v. 191, p. 147-151, 2016.

FROTA, K. de M. G. *et al.* Utilização da farinha de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) na elaboração de produtos de panificação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, p. 44-50, dez. 2010. Suplemento 1.

GOESAERT, H. *et al.* Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, n. 1, p. 12-30, Mar. 2005.

KADAN, R. S. *et al.* Texture and other physicochemical properties of whole rice bread. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 66, n. 7, p. 940-944, Sept. 2001.

KRISHNAN, R. *et al.* Quality characteristics of biscuits prepared from finger millet seed coat based composite flour. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 499-506, Nov. 2011.

LAMPIGNANO, V. *et al.* Microstructure, textural and sensorial properties of durum wheat bread as affected by yeast content. **Food Research International**, v. 50, n. 1, p. 369-376, Jan. 2013.

MEDEIROS, G. R.; KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E. Características de qualidade de farinhas mistas de trigo e polpa de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 23, n. 4, p. 655-660, out./dez. 2012.

MONTENEGRO, F. M. **Avaliação do desempenho tecnológico de misturas de farinhas de triticale e trigo em produtos de panificação**. 2011. 111 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

NAEEM, H. *et al.* Mixing properties, baking potential and functionality changes in storage proteins during dough development of triticale-wheat flours blends. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 79, n. 3, p. 332-339, May 2002.

OLIVER, G.; THACKER, D.; WHEELER, R. J. Semi-sweet biscuits: the influence of sodium metabisulphite on dough rheology and baking performance. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 69, n. 2, p. 141-150, Oct. 1995.

REYES AGUILAR, M. J.; DE PALOMO, P.; BRESSANI, R. Desarrollo de un producto de panificación apto pra el adulto mayor a base de harina de trigo y harina de arroz. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 54, n. 3, p. 314-321, sept. 2004.

RIZZELLO, C. G. *et al.* Use of sourdough made with quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and autochthonous selected lactic acid bacteria for enchancing the nutritional, textural and sensory features of white bread. **Food Microbiology**, v. 56, p. 1-13, June 2016.

RONDA, F. *et al.* Suitability of tef varieties in mixed flour bread matrices: a physico-chemical and nutritional approach. **Journal of Cereal Science**, v. 64, p. 139-146, July 2015.

ROSA, C. S. *et al.* Elaboração de bolo com farinha de Yacon. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 6, p. 1.869-1.872, set. 2009.

SÁ, R. M. de *et al.* Variação no conteúdo de beta-glucanas em cultivares brasileiros de aveia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 99-102, abr. 2000.

SAHA, S. *et al.* S. Compositional and varietal influence of finger millet flour on rheological properties of dough and quality of biscuit. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, n. 3, p. 616-621, Jan. 2011.

SCHEUER, P. M. *et al.* Trigo: características e utilização na panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 13, n. 2, p. 211-222, jun. 2011.

SEABRA, L. M. J. *et al.* Fécula de mandioca e farinha de aveia como substitutos de gordura na formulação de hambúrguer de carne ovina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3, p. 245-248, set./dez. 2002.

SERNA-SALDIVAR, S. O.; GUAJARDO-FLORES, S.; VIESCA-RIOS, R. Potential of triticale as a substitute for wheat in flour tortilla production. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 81, n. 2, p. 220-225, Mar. 2004.

SILVA, T. S. G. ; FURLANETTO, T. W. Diagnóstico de doença celíaca em adultos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 56, n. 1, p. 122-126, 2010.

SINGH, K. P.; MISHRA, A.; MISHRA, H. N. Fuzzy analysis of sensory attributes of bread prepared from millet-based composite flours. **LWT – Food Science and Technology**, n. 48, n. 2, p. 276-282, Oct. 2012.

SIVARAMAKRISHNAN, H. P.; SENGE, B.; CHATTOPADHYAY, P. K. Rheological properties of rice dough for making rice bread. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 62, n. 1, p. 37-45, 2004.

SOARES JÚNIOR, M. S. *et al.* Otimização da formulação de pães de forma preparados com diferentes proporções de farinha de trigo, fécula de mandioca e okara. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 221-248, jan./jun. 2006.

TEDRUS, G. A. S. *et al.* Estudo da adição de vital glúten à farinha de arroz, farinha de aveia e amido de trigo na qualidade de pães. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 20-25, jan./abr. 2001.

TURKUT, G. M. *et al.* Effect of quinoa flour on gluten-free bread batter rheology and bread quality. **Journal of Cereal Science**, v. 69, p. 174-181, May 2016.

WANG, J.; ROSELL, C. M.; DE BARBERA, C. B. Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. **Food Chemistry**, v. 79, n. 2, p. 221-226, Nov. 2002.

ZOULIAS, E. I.; PIKNIS, S.; OREOPOULOU, V. Effect of sugar replacement by polyols and acesulfame-K on properties of low-fat cookies. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, n. 14, p. 2.049-2.056, Nov. 2000.

## Capítulo 17

---

# *Aproveitamento de resíduos agroindustriais*

Antonio Manoel Maradini Filho

Luísa Oliveira Mendonça

Nicolly da Silveira Menditi

Raquel Vieira de Carvalho

Suzana Maria Della Lucia

### **Introdução**

Observa-se, nos últimos anos, uma atenção especial no sentido de diminuir os resíduos sólidos gerados pela maioria dos processos agroindustriais e de buscar formas de reaproveitamento desses resíduos. Provenientes da indústria de alimentos, muitos deles apresentam quantidades apreciáveis de cascas, bagaços, caroços, sementes, entre outras partes reaproveitáveis. De acordo com Coelho e colaboradores (2001) esses materiais representam importante fonte de matéria orgânica e podem fornecer nutrientes, como proteínas, fibras, óleos essenciais, vitaminas e minerais, e outras substâncias biologicamente ativas, benéficas à saúde humana, como antioxidantes, compostos fenólicos e fitormônios.

Segundo Pelizer, Pontieri e Moraes (2007) muito se tem falado atualmente em gestão ambiental e certificação da ISO 14000 – conjunto de normas que determinam diretrizes para garantir que o desenvolvimento de atividades dos mais diversos

segmentos seja realizado sem transgredir as leis ambientais vigentes – visto que os principais países desenvolvidos estão cada vez mais preocupados com o meio ambiente e a sustentabilidade do planeta. De fato, vários órgãos governamentais e muitas indústrias vêm demonstrando crescente preocupação com o meio ambiente e mobilizando vários segmentos do mercado para a criação e aplicação de uma política ambiental que diminua os impactos negativos na natureza.

Os subprodutos agroindustriais descartados no meio ambiente representam fontes de sérios problemas, pois a liberação excessiva de nutrientes, como o fósforo e o nitrogênio, pela matéria orgânica pode causar eutrofização de ambientes aquáticos, com consequentes redução de oxigênio dissolvido, morte de organismos aeróbios e desequilíbrio do ecossistema local (PELTZER *et al.*, 2008). Os resíduos industriais necessitam, portanto, de destino e tratamento adequados, pois, além de criarem potenciais problemas ambientais, eles representam perda de matéria-prima e energia que poderiam ser (re)aproveitadas.

Tal preocupação com o meio ambiente tem levado ao estudo e à viabilização de projetos que visam a sustentabilidade do sistema de produção industrial e o aproveitamento dos subprodutos na elaboração de produtos para o consumo humano (GARMUS *et al.*, 2009 *apud* FAVARIN *et al.*, 2012). A indústria de alimentos, por exemplo, produz uma série de resíduos com alto valor de (re)utilização, e por isso inúmeros estudos com resíduos industriais do processamento de alimentos têm sido realizados.

Lallo e colaboradores (2003) pesquisaram a possibilidade de substituição da silagem de milho pela silagem de resíduo industrial de abacaxi em ração de gado de corte. Ferrari, Colussi e Ayub (2004) realizaram um estudo para caracterizar e verificar o melhor aproveitamento das sementes excedentes do processamento do suco do maracujá na alimentação humana. Borges e colaboradores (2004) desenvolveram um trabalho sobre a viabilidade da utilização de resíduos das indústrias de conserva de abacaxi da região de Pelotas (RS) para a produção de suco.

Kobori e Jorge (2005) realizaram uma pesquisa cuja finalidade foi caracterizar os óleos extraídos das sementes de laranja, maracujá, tomate e goiaba como aproveitamento de resíduos industriais. Segundo os autores as análises realizadas indicaram que esses óleos possuem características físico-químicas semelhantes a alguns óleos comestíveis e podem ser uma nova fonte para o consumo humano.



Reda e colaboradores (2005) fizeram a caracterização dos óleos essenciais de limão rosa e de limão-siciliano, considerados resíduos industriais, e concluíram que eles apresentam propriedades semelhantes aos dos óleos comestíveis e têm boa perspectiva de utilização na produção de alimentos.

Outros trabalhos estudaram a bioutilização de vários resíduos, como: palha de trigo (ABDULLAH; TENDERDY; MURTHY, 1985), resíduos da batata-doce (YANG *et al.*, 1993), polpa de maçã residual da indústria de suco (JOSHI; SANDHU, 1996) e o bagaço de cana-de-açúcar (MONTEIRO; SILVA; MORAES, 1991; BRAVO *et al.*, 1994; PELIZER; PONTIERI; MORAES, 2007) para enriquecimento proteico de ração animal.

Os estudos com resíduos industriais do processamento de alimentos demonstram resultados não somente para o (re)aproveitamento desses materiais como também para a minimização do impacto ambiental das indústrias nas regiões onde estão situadas, bem como para a agregação de valor de mercado aos produtos (PELIZER; PONTIERI; MORAES, 2007).

Nas seções a seguir, será abordado com mais detalhes o reaproveitamento de resíduos agroindustriais de uva e gergelim.

## **1. Utilização da farinha do bagaço de uva na elaboração de *muffins***

A uva é uma das frutas mais consumidas em todo o mundo, na forma *in natura* ou processada, e recebe grande atenção como uma fonte importante de compostos biologicamente ativos, que são benéficos à saúde humana (SHRIKHANDE, 2000; ORAK, 2007). É constituída basicamente de açúcares, ácidos, pectinas, gomas, compostos aromáticos e compostos fenólicos. Durante a maturação, sofre um acréscimo de alguns desses constituintes, como os açúcares, ácidos, compostos fenólicos, vitaminas e minerais, que são responsáveis pelo crescimento da baga da uva, pelo acúmulo de açúcares, pela formação de taninos, pela diminuição de ácidos e, conseqüentemente, pela formação de aromas.

O Brasil cultiva basicamente duas espécies de uva, a *Vitis vinifera*, que é destinada principalmente à elaboração de vinhos e outros produtos finos, e a *Vitis labrusca*, que é destinada à produção de vinhos de mesa, sucos e seus derivados e ao consumo *in natura* e corresponde a 80 % da produção nacional (SAUTTER, 2003; NACHTIGAL; SCHNEIDER, 2007). Do total de produtos industrializados elaborados a partir

da uva, especialmente de cultivares de *Vitis labrusca*, 77 % representam os vinhos de mesa, 9 % são sucos de uva e o restante são doces, geleias, graspa, entre outros. Grande parte da produção brasileira de uvas e derivados é destinada ao mercado interno. O suco de uva é o principal produto de exportação, em volume, representando cerca de 15 % do total destinado ao mercado externo. Apenas 5 % da produção de uvas de mesa é destinada à exportação e menos de 1 % dos vinhos produzidos são comercializados no exterior (PROTAS; CAMARGO; MELLO, 2006).

A cada safra, no país, produz-se uma grande quantidade de subprodutos da industrialização da uva, representando cerca de 10 % a 15 % do total vinificado. Porém eles são praticamente desprezados (WENDLER, 2009). Os principais subprodutos obtidos na vinificação sofrem separações nas etapas de esmagamento e prensagem das uvas, e somente reduzidas quantidades são aproveitadas (TORRES *et al.*, 2002 *apud* ROCKENBACH, 2008). Atualmente, a forma predominante de aproveitamento desses subprodutos é a produção de ração animal e adubos após passarem por um processo de compostagem (MARASCHIN *et al.*, 2002).

Os subprodutos da vinificação são o bagaço, as sementes, a casca, resíduos da polpa da uva (borra), folhas e engaço, sendo resultado do esmagamento da baga por um processo tecnológico adequado de separação do suco ou mosto. Segundo Rockenbach (2008) tais subprodutos correspondem a 20 % do total do fruto e podem ser reaproveitados para produção de alimentos nutritivos ricos em antioxidantes naturais e fibras. O bagaço constitui a maior parte desses resíduos, representando de 12 % a 15 % em peso da matéria inicial, e é obtido por meio das prensagens das partes sólidas da uva e do mosto, que constituem a matéria-prima da vinificação (SILVA; BORGES; MARTINS, 2001; SILVA *et al.*, 2005).

Mesmo depois da extração do suco ou da elaboração do vinho, os resíduos ainda contêm compostos, como antioxidantes, açúcares e outros glicídios, proteínas, corantes, entre outros, com capacidades funcionais que evidenciam seu elevado potencial para utilização no desenvolvimento de produtos destinados ao consumo humano (CAMPOS, 2005; SILVA *et al.*, 2005; FERRARI, 2010). O bagaço, por exemplo, é composto por açúcares e outros glicídios, proteínas e fibras, e nas sementes se encontra um alto teor lipídico.

De acordo com Araújo (2010 *apud* PERIN; SCHOTT, 2011), a farinha obtida desses subprodutos possui um alto teor de fibras e flavonoides e, tal como a uva,

representa uma importante fonte de antioxidantes naturais, servindo para combater os radicais livres e, assim, prevenir doenças degenerativas. A farinha de uva auxilia ainda no tratamento de doenças circulatórias, na diminuição do aparecimento de varizes, na prevenção de problemas cardiovasculares e de artrite, na minimização dos danos no fibroma e no combate a doenças de pele como psoríase e eczema.

A farinha do bagaço de uva pode, por conseguinte, ser utilizada na elaboração de diversos produtos, como biscoitos, pães, bolos, barras de cereais, massas caseiras, vitaminas e sucos, e contribuir para a melhoria nutricional dos produtos. O uso de farinhas compostas empregadas em produtos panificados não é recente e vem se expandindo na elaboração de bolos e biscoitos, uma vez que esses produtos apresentam uma alta aceitabilidade, sendo consumidos por pessoas de diferentes faixas etárias (EL-DASH; CABRAL; GERMANI, 1994). A viabilidade técnica e econômica do uso de farinhas mistas em produtos panificados é bem empregada no setor industrial alimentício; uma das tecnologias mais empregadas consiste na secagem de resíduos para obtenção de farinha como ingrediente alimentar para posterior incorporação nos mais diversos alimentos, objetivando a substituição parcial ou até total da farinha de trigo (ABUD; SANTOS; SILVA, 1994; MATIAS *et al.*, 2005).

## **2. Utilização do resíduo da extração dos sólidos solúveis de gergelim na elaboração de biscoitos**

O gergelim (*Sesamum indicum* L.) é uma espécie de oleaginosa que pertence à família pedaliácea. É originário da África, onde se encontra a maioria das espécies silvestres do gênero *Sesamum*. Na Ásia, por sua vez, é encontrada a maioria das espécies cultivadas. No Brasil, essa semente foi introduzida pelos portugueses no século XVI, sendo plantada, tradicionalmente, na Região Nordeste para consumo local.

Suas sementes são pequenas, apresentando formato achatado e coloração variando do branco ao preto, são ricas em constituintes minerais e podem ser consumidas *in natura* ou utilizadas para complementar produtos confeitados, como os de panificadoras. Na indústria de alimentos, são usadas principalmente para produção de óleo, mas também na produção de pastas do tipo *tahine* e em formulações de alguns produtos alimentícios (ELLEUCH *et al.*, 2014). O gergelim possui também diversas aplicações na indústria óleo-química, de fármacos e de cosméticos. Além

disso, a torta obtida da prensagem dos grãos se constitui em excelente concentrado proteico para a alimentação de bovinos, suínos e aves (BELTRÃO; VIEIRA, 2001; PRIMO, 2008).

O gergelim é, atualmente, a nona oleaginosa mais cultivada mundialmente. Segundo levantamento estatístico feito pelo Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (Iica) (2004), 88 % do comércio global desse produto é de sementes, seguido pela torta (8 %) e pelo óleo (4 %). A principal demanda de gergelim provém da indústria alimentícia, sendo que 70 % da produção, na maioria dos países importadores, são utilizados para a elaboração de óleo e farinha.

O cultivo do gergelim apresenta grande potencial econômico devido à obtenção de sementes com teores de óleo superior a 50 %, com elevada estabilidade química (ARAÚJO *et al.*, 2006), e às possibilidades de exploração, por ser usado pelas indústrias de alimentos, química, farmacêutica e de rações (BARROS; SANTOS, 2002). Graças à sua tolerância à seca e também à facilidade de manejo, ele apresenta alto potencial agrônomo, tanto para os sistemas de cultivo tradicionais quanto para a agricultura orgânica e sustentável (EMBRAPA, 2006).

Nos últimos anos, o gergelim também tem despertado maior interesse de produtores e empresários brasileiros que buscam uma cultura alternativa para alimentação, e com exploração agrícola viável, graças às descobertas de novas formas de aproveitamento do grão e de seus subprodutos. Vem sendo explorado comercialmente no Centro-Oeste e Sudeste, sobretudo no estado de São Paulo, para atender o segmento agroindustrial de óleos e de alimentos *in natura* (ARAÚJO *et al.*, 2006). O mercado do gergelim é sempre crescente nos setores de panificação e de biscoitos (BARROS; SANTOS, 2002).

Esse aumento da popularização do consumo de gergelim no Brasil se iniciou na década de 1980 com a instalação da rede norte-americana de *fast-food* McDonald's no país, pois as sementes dessa oleaginosa são colocadas na parte superior dos pães utilizados nos sanduíches. Por conta disso, diversas padarias também começaram a usar o gergelim na elaboração dos mais diversos tipos de pães, bolos e biscoitos, alavancando o consumo da semente, o qual, desde então, passou a crescer à razão de 10 % ao ano. Ainda assim, a utilização da semente e dos subprodutos de gergelim apresenta-se baixo em comparação com o mercado mundial e, especialmente, diante das potencialidades de aplicação dessa oleaginosa (ARRIEL *et al.*, 2009).

## 2.1. Características físico-químicas e nutricionais das sementes

O gergelim desempenha um importante papel na nutrição humana, pois possui alto valor nutritivo devido à quantidade elevada de proteínas, lipídeos, sais minerais e vitaminas importantes (KAYA *et al.*, 2008). Segundo Elleuch e colaboradores (2014) a composição química do gergelim comprova que a semente é uma importante fonte de lipídeos (44-58 %), proteínas (18-25 %), carboidratos (13,5 %) e cinzas (5 %).

O óleo que é extraído das sementes é muito rico em ácidos graxos insaturados, principalmente o oleico (41-45 %) e o linoleico (31-42 %) (HWANG; SHYU, 2001). É um óleo especial e muito procurado, devido a sua estabilidade química. Alimentos produzidos com o óleo de gergelim ficam livres de rancidez num período dez vezes maior do que aqueles fabricados com qualquer outro óleo vegetal conhecido (FIRMINO *et al.*, 2001).

Também podem ser destacados como principais minerais presentes nas sementes de gergelim o cálcio, o fósforo e o ferro, e também potássio, magnésio, zinco e selênio, conforme Namiki (1995). A maior quantidade desses minerais e outros micronutrientes do gergelim se localizam na casca, por isso ocorrem perdas nutricionais quando é feita a retirada dessa camada protetora das sementes (ARRIEL *et al.*, 2009).

Os teores de fenólicos do gergelim ficam em torno de 700 mg/100 g<sup>-1</sup> de acordo com Rangkadilok e colaboradores (2010), mas valores inferiores (em torno de 260 mg/100 g<sup>-1</sup>) foram encontrados por Silva e colaboradores (2011). E Mohdaly e colaboradores (2010) obtiveram valores ainda menores de fenólicos totais, 81 mg/100 g<sup>-1</sup>, em estudo sobre a torta de gergelim.

## 2.2. O resíduo de gergelim (“torta de gergelim”)

Durante a extração do óleo das sementes de gergelim, quando realizada a frio e sem uso de solventes (prensagem a frio dos grãos), gera-se um subproduto denominado torta. Em diversos países produtores de gergelim, a torta é usada somente para fabricação de ração animal ou é descartada, num subaproveitamento que já foi ressaltado por diferentes autores (SUJA *et al.*, 2004; SUJA; JAYALEKSHMY; ARUMUGHAN, 2005; MOHDALY *et al.*, 2010, 2011; RESHMA *et al.*, 2010).

De acordo com Morrison (1966) o resíduo da prensagem das sementes de gergelim apresenta elevado teor proteico, elevada concentração de aminoácidos e baixo teor de fibras, conforme disposto na Tabela 1.

**Tabela 1 – Composição média da torta de gergelim**

Constituintes	%
Umidade	8,2
Lipídeos	12,8
Proteínas	39,7
Carboidratos	22,8
Fibras	4,7
Cinzas	11,8

Fonte: Morrison (1966).

Embora a literatura sobre a utilização da torta de gergelim na produção de alimentos para consumo humano ainda seja muito escassa, estudos recentes revelam que ela pode ser utilizada para fins alimentícios (BELTRÃO; VIEIRA, 2001; MILANI; GONDIM; COUTINHO, 2005). Por apresentar excelentes características nutricionais e possuir uma quantidade significativa de antioxidantes, a torta é um resíduo que pode, portanto, ser recuperado e utilizado como um produto de alto valor agregado.

### **Considerações finais**

O bagaço da uva e a torta de gergelim, como subprodutos, possuem uma rica composição nutricional e funcional. A utilização desses resíduos na formulação de alimentos, tais como bolos, pães e biscoitos, a fim de incrementá-los com maior valor nutricional, trazendo mais saúde e qualidade de vida para quem os consumir, constitui uma alternativa potencial e viável, com menor custo. Além disso, o aproveitamento dos resíduos gerados permite aumentar o faturamento das indústrias e reduzir a poluição ambiental.

## Referências

ABDULLAH, A. L.; TENDERDY, R. P.; MURTHY, V. G. Optimization of solid substrate fermentation of wheat straw. **Biotechnology and Bioengineering**, Hoboken, v. 27, n. 1, p. 20-27, Jan. 1985.

ABUD, A. K. S.; SANTOS, M. N.; SILVA, R. P. Obtenção da farinha da semente da jaca: estudo de sua viabilidade em substituição à farinha de trigo. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13., 1994, Salvador. **Anais [...]**. Jaboticabal: SBF, 1994. v. 3, p. 1.069.

ARAÚJO, A. E. D. *et al.* **Cultivo do gergelim**. Campina Grande: Embrapa, 2006.

ARRIEL, N. H. C. *et al.* Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 5, p. 801-809, maio 2009.

BARROS, M. A. L.; SANTOS, R. B. **Situação do gergelim nos mercados mundial e nacional**, 1995 a 2002. Campina Grande: Embrapa-CNPA, 2002. (Circular Técnica 67).

BELTRÃO, N. E. M.; VIEIRA, D. J. R. (ed.). **O agronegócio do gergelim no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2001.

BORGES, C. D. *et al.* Produção de suco de abacaxi obtido a partir dos resíduos da indústria conserveira. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 22, n. 1, p. 23-34, jan./jun. 2004.

BRAVO, O. *et al.* Growth of *Chaetomium cellulolyticum* in solid-state fermentation of sugar cane bagasse treated with water and alkali at several liquid/solid ratios. **Biotechnology Letters**, v. 16, n. 8, p. 865-870, Aug. 1994.

CAMPOS, L. M. A. S. de. **Obtenção de extratos de bagaço de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*): parâmetros de processo e modelagem matemática**. 2005.

123 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

COELHO, M. A. Z. *et al.* Aproveitamento de resíduos agroindustriais: produção de enzimas a partir da casca de coco verde. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 33-42, jan./jun. 2001.

EL-DASH, A. A.; CABRAL, L. C.; GERMANI, R. (ed.). **Tecnologia de farinhas mistas**: uso de farinha mista de trigo e soja na produção de pães. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. (Coleção Tecnologia de Farinhas Mistadas, v. 3).

ELLEUCH, M. *et al.* Improving halva quality with dietary fibers of sesame seed coats and date pulp, enriched with emulsifier. **Food Chemistry**, v. 145, p. 765-771, Feb. 2014.

EMBRAPA. **Gergelim**: uma opção alimentar e renda para agricultura familiar. 27 set. 2006. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/18003425/gergelim--uma-opcao-alimentar-e-renda-para-agricultura-familiar>. Acesso em: 26 maio 2020.

FAVARIN, F. R. *et al.* Caracterização bromatológica de resíduos da produção de suco *in natura*. In: SIMPÓSIO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 16., 2012, Santa Maria. **Anais** [...]. Santa Maria: Unifra, 2012. v. 3.

FERRARI, R. A.; COLUSSI, F.; AYUB, R. A. Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá – aproveitamento das sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 101-102, abr. 2004.

FERRARI, V. **A sustentabilidade da vitivinicultura através de seus próprios resíduos**. 2010. 26 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Econômicas) – Universidade de Caxias do Sul, Bento Gonçalves, 2010.



FIRMINO, P. T. *et al.* **Caracterização química de semente de gergelim (*Sesamum indicum* L.) BRS 196 (CNPA G-4)**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2001. (Instrução Técnica n. 117).

HWANG, L. S.; SHYU, Y.-S. Antioxidative activity of the crude extract of lignin glycosides from unroasted burma black sesame meal. **Food Research International**, v. 40, n. 5, p. 357-365, July 2001.

IICA. **Cadena agroindustrial del ajonjolí de Nicaragua**. Managua: Iica, 2004. (Colección Cadena Agroindustrial, v. Ajonjolí). Disponível em: <http://repiica.iica.int/docs/B0010e/B0010e.pdf>. Acesso em: 26 maio 2020.

JOSHI, V. K.; SANDHU, D. K. Preparation and evaluation of an animal feed byproduct produced by solid-state fermentation of apple pomace. **Bioresource Technology**, v. 56, n. 2-3, p. 251-255, May/June 1996.

KAYA, S. *et al.* Colloidal stability and rheological properties of sesame paste. **Journal of Food Engineering**, v. 87, n. 3, p. 428-435, Aug. 2008.

KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 5, p. 1.008-1.014, set./out. 2005.

KONG, W. *et al.* Occurrence of toxigenic fungi and determination of mycotoxins by HPLC-FLD in functional foods and spices in China markets. **Food Chemistry**, v. 146, n. 4, p. 320-326, Mar. 2014.

LALLO, F. H. *et al.* Níveis de substituição da silagem de milho pela silagem de resíduos industriais de abacaxi sobre a degradabilidade ruminal em bovinos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 719-726, 2003.

MARASCHIN, R. P. *et al.* Biomassa residual proveniente da indústria viti-vinícola: perspectivas de aproveitamento. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 142-145, nov./dez., 2002.

MATIAS, M. F. O. *et al.* Use of fibers obtained from the cashew (*Anacardium occidentale*, L) and guava (*Psidium guayava*) fruits for enrichment of food products. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, p. 143-150, jun. 2005. Special number.

MILANI, M.; GONDIM, T. M. S.; COUTINHO, D. **Cultura do gergelim**. Campina Grande: Embrapa-CNPA, 2005. (Circular Técnica n. 83).

MOHDALY, A. A. A. *et al.* Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 1, p. 952- 959, July 2011.

MOHDALY, A. A. A. *et al.* Antioxidant properties of various solvent extracts of potato peel, sugar beet pulp and sesame cake. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 90, n. 2, p. 218-226, Jan. 2010.

MONTEIRO, J. B. R.; SILVA, D. O.; MORAES, C. A. Produção de biomassa proteica de *Trichoderma reesei* e *Rhizopus oligosporus* em bagaço de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Microbiologia**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 164-169, 1991.

MORRISON, F. B. **Alimentos e alimentação dos animais**. 2. ed. São Paulo: Melhoramentos, 1966.

NAMIKI, M. The chemistry and physiological functions of sesame. **Food Reviews International**, London, v. 11, n. 2, p. 281-329, 1995.

NACHTIGAL, J. C.; SCHNEIDER, E. P. (ed.). **Recomendações para produção de videiras em sistemas de base ecológica**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho,

2007. (Série Documentos, n. 65). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/26047/1/Doc65.pdf>. Acesso em: 26 maio 2020.

ORAK, H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 111, n. 3, p. 235-241, Feb. 2007.

PELIZER, L. H.; PONTIERI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, Santiago, v. 2, n. 1, p. 118-127, Mar. 2007.

PELTZER, P. M. *et al.* Effects of agricultural pond eutrophication on survival and health status of *Scinax nasicus* tadpoles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Zabrze, v. 70, n. 1, p. 185-197, May 2008.

PERIN, E. C.; SCHOTT, I. B. **Utilização de farinha extraída de resíduos de uva na elaboração de biscoito tipo cookie**. 2011. 61 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Tecnologia em Alimentos) – Universidade Federal Tecnológica do Paraná, Francisco Beltrão, 2011.

PRIMO, A. P. **Torta de gergelim na alimentação de frangos de corte**. 2008. 59 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2008.

PROTAS, J. F. da S.; CAMARGO, U. A.; MELLO, L. M. R. de. Vitivinicultura brasileira: regiões tradicionais e pólos emergentes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 234, p. 7-15, set./out. 2006.

RANGKADILOK, N. *et al.* Variation of sesamin, sesamol and tocopherols in sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds and oil products in Thailand. **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 724-730, Oct. 2010.

REDA, S. Y. *et al.* Caracterização dos óleos das sementes de limão rosa (*Citrus Limonia* Osbeck) e limão siciliano (*Citrus limon*), um resíduo agroindustrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 672-676, out./dez. 2005.

RESHMA, M. V. *et al.* Extraction, separation and characterization of sesame oil lignin for nutraceutical applications. **Food Chemistry**, v. 120, n. 4, p. 1.041-1.046, June 2010.

ROCKENBACH, I. I. **Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas (*Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*)**. 2008. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

SAUTTER, C. K. **Avaliação da presença de resveratrol em suco de uva**. 2003. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

SHRIKHANDE, A. J. Wine by-products with health benefits. **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 469-474, July 2000.

SILVA, E. R. *et al.* Capacidade antioxidante e composição química de grãos integrais de gergelim creme e preto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 7, p. 736-742, jul. 2011.

SILVA, G. B. *et al.* Influência da temperatura no processo de maceração para produção de extrato hidrossolúvel de gergelim. *In*: ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16.; ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 12.; ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA JÚNIOR, 6., 24-25 out. 2012, São José dos Campos. **Anais [...]**. São José dos Campos: Univap, 2012.

SILVA, M. R.; BORGES, S.; MARTINS, K. A. Avaliação química, física e sensorial de biscoitos enriquecidos com farinha de jatobá-do-cerrado e de jatobá-da-mata como fonte de fibra alimentar. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 4, p. 163-170, Oct. 2001.

SILVA, S. *et al.* Identification of flavonol glycosides in winemaking by-products by HPLC with different detectors and hyphenated with mass spectrometry. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, Dois Portos, v. 20, n. 1, p. 17-33, 2005.

SUJA, K. P. *et al.* Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. **Food Chemistry**, v. 84, n. 3, p. 393-400, Feb. 2004.

SUJA, K. P.; JAYALEKSHMY, A.; ARUMUGHAN, C. Antioxidant activity of sesame cake extract. **Food Chemistry**, v. 91, n. 2, p. 213-219, June 2005.

TORRES, J. L. *et al.* Valorization of grape (*Vitis vinifera*) byproducts. Antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D. C., v. 50, n. 26, p. 7.548-7.555, Dec. 2002.

WENDLER, D. F. **Sistema de gestão ambiental aplicado a uma vinícola: um estudo de caso.** 2009. 176 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

YANG, S. S. *et al.* Protein enrichment of sweet potato residue by solid-state cultivation with mono and co-cultures of amylolytic fungi. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 9, n. 2, p. 258-264, Mar. 1993.

## Capítulo 18

---

# *Potenciais da análise de correlação canônica na ciência e tecnologia de alimentos*

Joel Camilo Souza Carneiro  
Paulo Roberto Cecon  
Valéria Paula Rodrigues Minim  
Cosme Damião Cruz  
Antônio Policarpo Souza Carneiro  
Suzana Maria Della Lucia  
Sérgio Henriques Saraiva  
Luciano José Quintão Teixeira  
Tarcísio Lima Filho

### **Introdução**

Entre as várias técnicas de análise estatística usadas para relacionar variáveis, algumas são univariadas e outras, multivariadas. As análises univariadas são usadas com objetivo de verificar se existe relação entre duas variáveis. Mas, se em um estudo existem muitas variáveis, é necessário que cada par delas seja analisado

separadamente, o que pode tornar o trabalho oneroso diante de uma grande “massa” de dados; nesse caso, é melhor usar a análise multivariada.

Algumas das técnicas abordadas na literatura e implementadas em programas para análise de dados, com propósito de verificar relações entre variáveis, são: correlação de Pearson, correlação de Spearman, correlação parcial, análise de tripla e correlação canônica.

Essas técnicas são aplicadas em várias áreas do conhecimento, inclusive na ciência e tecnologia de alimentos. Por exemplo, Endo (2010) usou a correlação de Pearson para relacionar dois atributos sensoriais (aroma característico de laranja e aroma de casca de laranja) com compostos voláteis (citralcis, citraltrans, limoneno e linalol) avaliados em néctar de laranja acondicionado em filmes aromatizados.

Silva e colaboradores (2003) utilizaram a correlação de Pearson e a de Spearman para relacionar medidas *in vivo* obtidas por ultrassom e algumas características de carcaça pós-abate em novilhos nelore.

Figueiró (2013), ao utilizar regressão linear simples, verificou que o aumento gradual na concentração de nitrito de sódio adicionado em linguiça suína frescal causou redução na oxidação da linguiça.

Miguel e colaboradores (2013) relacionaram características de qualidade de manga (ocorrência de injúrias e podridões, coloração da casca e polpa, firmeza da polpa, teores de sólidos solúveis, acidez titulável e de ácido ascórbico, além da atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase) com o tempo de armazenamento da fruta.

Diógenes e colaboradores (2013) ajustaram modelos matemáticos para obter as curvas de secagem de grãos inteiros de abóbora, grãos de abóbora sem tegumento e farinha de grãos de abóbora, nas temperaturas de 40, 50, 60, 70 e 80 °C.

Viana (2010) estudou a influência da temperatura (10, 20, 25, 30, 40, 50, 60 e 70 °C) e do teor de sólidos solúveis (14, 17, 19, 23 e 25 °Brix) nas características reológicas e termofísicas da polpa de cupuaçu. Nesse estudo foram utilizadas a análise de correlação e a análise de regressão linear múltipla, além do ajuste de outros modelos matemáticos, para explorar a relação entre variáveis.

Frente aos estudos citados, observa-se que, na área de ciência e tecnologia de alimentos e suas várias subáreas (como conservação, avaliação sensorial, qualidade dos alimentos, estudos envolvendo pós-colheita, desidratação e secagem de

alimentos, propriedades físico-químicas, microbiológicas, reológicas, termofísicas, entre outras), há grande necessidade de explorar as relações entre variáveis. Quando é necessário relacionar dois grupos de variáveis, a alternativa é o uso da análise de correlação canônica.

Neste capítulo, a análise de correlação canônica será abordada por meio de exemplos a partir de dados experimentais de diferentes subáreas da ciência e tecnologia de alimentos, com o propósito de explorar o potencial da técnica. As análises são realizadas utilizando-se o programa Genes – aplicativo computacional em genética e estatística experimental (CRUZ, 2013), desenvolvido no Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa e disponibilizado gratuitamente via internet. O Genes já está consolidado na área de genética, estatística experimental e análise multivariada, e pode ser utilizado, sem prejuízo, em outras áreas do conhecimento, como na área de ciência e tecnologia de alimentos.

## 1. Análise de correlação canônica

De acordo com Shafto, Degani e Kirlik (1997) e Mingoti (2005), a análise de correlação canônica (ACC) é um tipo de análise estatística multivariada descrita, inicialmente, por Hotelling (1935, 1936), para analisar as relações entre dois conjuntos de variáveis.

Segundo Mingoti (2005), a ideia básica é resumir a informação de cada conjunto de variáveis-resposta em combinações lineares, sendo que a escolha dos coeficientes dessas combinações é feita tendo-se como critério a maximização da correlação entre os conjuntos de variáveis-resposta. As combinações lineares que podem ser construídas são chamadas de variáveis canônicas, e a correlação entre elas é chamada de correlação canônica.

Ao considerar-se que o primeiro grupo seja composto por  $p$  variáveis ( $U' = [u_1, u_2, \dots, u_p]$ ) e o segundo por  $q$  variáveis ( $V' = [v_1, v_2, \dots, v_q]$ ), o número possível de correlações canônicas será igual a  $s$  (o menor entre  $p$  e  $q$ ). Os pares canônicos são dados por:

$$U_i = a_i'U = a_{i1}u_1 + a_{i2}u_2 + \dots + a_{ip}u_p$$

$$V_i = b_i'V = b_{i1}v_1 + b_{i2}v_2 + \dots + b_{iq}v_q$$



Sendo que:

$i$  varia de 1 a  $s$ , sendo  $s$  o menor entre  $p$  e  $q$ ;

$a_i$ : autovetor associado a autovalor de  $R_{11}^{-1}R_{12}R_{22}^{-1}R'_{12}$ ;

$b_i$ : autovetor associado a autovalor de  $R_{22}^{-1}R'_{12}R_{11}^{-1}R_{12}$ .

As correlações canônicas são dadas por:

$$r_i(U_i, V_i) = \sqrt{\lambda_i}$$

Sendo:

$\lambda_i$ : autovalores da matriz  $R_{11}^{-1}R_{12}R_{22}^{-1}R'_{12}$ .

Os autovalores  $\lambda_i$  e correspondentes autovetores  $a_i$  e  $b_i$  são obtidos de, respectivamente:

$$(R_{11}^{-1}R_{12}R_{22}^{-1}R'_{12} - \lambda I)a = \phi$$

$$(R_{22}^{-1}R'_{12}R_{11}^{-1}R_{12} - \lambda I)b = \phi$$

De acordo com Cruz (2006), para verificar as significâncias das correlações canônicas  $r_i(U_i, V_i)$ , utiliza-se uma aproximação do teste de qui-quadrado. Este, segundo Dunteman (1984), é dado por:

$$x^2 = -t \log_e \left[ \prod_{i=1}^s (1 - r_i^2) \right]$$

Com:

$$t = n - 0,5(p + q + 3)$$

Sendo:

$n$ : número de observações experimentais;

$p$ : número de variáveis do grupo I;

$q$ : número de variáveis do grupo II.

A estatística é associada a  $pq$  graus de liberdade e a hipótese de nulidade testada é de que todas as possíveis correlações canônicas são nulas. Caso a hipótese seja rejeitada, testa-se uma nova hipótese, por meio de:

$$-t \log_e \left[ \prod_{i=k+1}^s (1-r_i^2) \right]$$

– que está associada a  $x^2$ , com  $(p-k)(q-k)$  graus de liberdade.

Esse procedimento deve continuar até a não rejeição de  $H_0$ . O enunciado dessa última hipótese determina, então, o número de correlações canônicas diferentes de zero.

## 2. Aplicações

### 2.1. Relação entre características sensoriais e instrumentais

#### 2.1.1. Conjunto de dados

Foram utilizados os dados parciais da dissertação de Silva (2010), referentes a nove formulações de requeijão cremoso *light* adicionado de concentrado proteico de soro (CPS), avaliadas por avaliadores treinados quanto a duas características sensoriais de textura (consistência e espalhabilidade) e cinco características instrumentais quantificadas pela análise do perfil de textura (firmeza, gomosidade, mastigabilidade, coesividade e elasticidade) em máquina universal de teste mecânico (Instron). O interesse foi verificar possíveis relações do grupo I de variáveis (características sensoriais) com o grupo II (características instrumentais), conforme Tabela 1. Nessa ilustração, ambos os grupos são compostos por variáveis-resposta.

**Tabela 1 – Variáveis avaliadas em nove formulações de requeijão light**

<b>Características sensoriais (U)</b>	
Scon	Consistência
Sesp	Espalhabilidade
<b>Características instrumentais (V)</b>	
PTFIR	Firmeza
PTGOM	Gomosidade
PTMAS	Mastigabilidade
PTCOE	Coesividade
PTELA	Elasticidade

Fonte: Elaboração própria.

Para quantificação das características instrumentais, utilizou-se o delineamento composto central rotacional (DCCR), em que o ponto central (formulação nove) foi repetido três vezes, e para as demais formulações não foram realizadas repetições, como previsto nesse tipo de delineamento. Sendo assim, no estudo de correlação canônica, considerou-se, para a formulação nove, a média das três repetições. Para as características sensoriais, foi utilizado o delineamento em blocos casualizados (DBC) e foram consideradas as médias por formulações. Os dados são ilustrados na Tabela 2, na qual as siglas das características sensoriais iniciam-se pela letra S de sensorial e as siglas das características instrumentais, pelas letras PT de perfil de textura.

**Tabela 2 – Sete características avaliadas em nove formulações de requeijão light**

Formulação	Scon	Sesp	PTFIR	PTGOM	PTMAS	PTCOE	PTELA
1	6,3	3,5	0,290	0,255	1,178	0,869	4,463
2	1,2	8,4	0,020	0,016	0,000	1,203	0,000
3	4,3	5,7	0,230	0,084	0,000	0,964	0,000
4	8,3	0,6	1,640	1,263	8,776	0,774	6,954
5	2,2	6,1	0,040	-0,041	0,000	-1,244	0,000
6	2,0	7,4	0,020	0,033	0,000	1,451	0,000
7	7,8	1,4	1,930	1,422	10,088	0,742	7,099
8	7,0	0,9	2,340	1,577	10,514	0,674	6,663
9	4,9	4,4	0,233	0,226	0,907	0,963	4,073

Fonte: Elaboração própria.

### 2.1.2. Processamento da análise

A partir dos dados da Tabela 2, foi estimada a matriz de correlação entre as sete características sensoriais, por meio do procedimento “estatística experimental/correlações/correlações simples/correlação de Pearson”. E, a partir dessa matriz de correlação, foi realizada a análise de correlação canônica, por meio do procedimento “Análise multivariada/correlações canônicas”.

### 2.1.3. Resultados e discussão

A consistência (Scon) e a espalhabilidade (Sesp) estão correlacionadas com algumas das características instrumentais, conforme Tabela 3 (nessa tabela, as características com nome iniciados pela letra S foram quantificadas usando-se a avaliação sensorial e as iniciadas por PT a técnica de perfil de textura).

Espera-se que haja correlação entre os dois grupos de características. Essa inspeção preliminar da matriz de correlação dá uma ideia do que se esperar da análise de correlação canônica. Mas, à medida que se trabalha com maiores números de variáveis, torna-se mais difícil ter essa percepção e fica mais evidente a necessidade de uso de correlações canônicas.

**Tabela 3 – Matriz de correlação linear simples entre as sete características de requeijão light**

	Scon	Sesp	PTFIR	PTGOM	PTMAS	PTCOE	PTELA
Scon	1						
Sesp	-0,97	1					
PTFIR	<b>0,82</b>	<b>-0,88</b>	1				
PTGOM	<b>0,85</b>	<b>-0,90</b>	0,99	1			
PTMAS	<b>0,83</b>	<b>-0,89</b>	0,99	1,00	1		
PTCOE	0,10	0,05	0,03	0,07	0,03	1	
PTELA	<b>0,94</b>	<b>-0,95</b>	0,86	0,90	0,88	0,11	1

Fonte: Elaboração própria.

Os resultados da análise de correlação canônica estão apresentados na Tabela 4. Note-se que foram estimados dois pares canônicos, visto que o menor dos grupos possui apenas duas variáveis.

**Tabela 4 – Correlações canônicas entre medidas sensoriais e instrumentais**

<i>Pares canônicos</i>	<i>U1, V1</i>	<i>U2, V2</i>
Correlações canônicas (r)	0,99*	0,76 <sup>ns</sup>
<b>Cargas canônicas das medidas sensoriais (grupo I)</b>		
<i>Variável</i>	<i>U1</i>	<i>U2</i>
Scon	<b>-0,89</b>	0,45
Sesp	<b>0,97</b>	-0,24
<b>Cargas canônicas das medidas instrumentais (grupo II)</b>		
<i>Variável</i>	<i>V1</i>	<i>V2</i>
PTFIR	<b>-0,90</b>	0,04
PTGOM	<b>-0,91</b>	0,11
PTMAS	<b>-0,90</b>	0,07
PTCOE	0,20	<b>0,81</b>
PTELA	<b>-0,91</b>	0,38

\* Significativo ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$ .

<sup>ns</sup> Não significativo ( $p > 0,05$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$ .

Fonte: Elaboração própria.

Desses pares, apenas o primeiro foi significativo ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$ , sendo a correlação canônica  $r(U1, V1) = 0,99$ . Como o teste foi significativo para pelo menos um dos pares canônicos, conclui-se que os grupos I e II de variáveis não são independentes. Ou seja, a textura avaliada na análise sensorial (variáveis do grupo I) e a textura avaliada no perfil de textura (variáveis do grupo II) não são independentes.

Ambas as medidas sensoriais, Scon (com carga -0,89) e Sesp (0,97), estão correlacionadas com  $U1$  e são as variáveis desse grupo que contribuem para a correlação canônica  $r(U1, V1) = 0,99$  (Tabela 4). Como ambas as variáveis são características de textura e mensuradas pela avaliação sensorial, pode-se nominar a variável canônica  $U1$  como textura sensorial. A espalhabilidade (Sesp) contribui mais, visto que sua carga (0,97), em valor absoluto, é um pouco maior que a da consistência (0,89).

Quatro das cinco medidas instrumentais estão correlacionadas com  $V1$  e são as principais variáveis desse grupo responsáveis pela correlação canônica entre  $U1$  e  $V1$ . Como as cargas dessas variáveis estão em valores próximos, em valor absoluto (oscilaram entre 0,90 e 0,91) a contribuição delas é similar. Já a coesividade (PTCOE), com carga 0,20, não contribui para a correlação canônica  $r(U1, V1)$ . A variável canônica  $V1$  será denominada de textura instrumental, visto que as quatro variáveis a ela relacionadas são medidas de textura e mensuradas por equipamentos.

Uma vez identificadas as relações entre variáveis, o sinal das cargas canônicas é considerado para indicar se a relação entre as variáveis é direta ou inversa. Por exemplo, a característica sensorial Sesp apresenta relação inversa com as medidas instrumentais PTFIR, PTGOM, PTMAS e PTELA (Tabela 4). Assim, formulações de requeijão com alta intensidade na firmeza, gomosidade, mastigabilidade e elasticidade apresentarão baixa espalhabilidade sensorial.

As cargas canônicas (Tabela 4) são usadas também para verificar a importância relativa das variáveis de cada grupo, na relação entre os grupos. Quanto maior a carga nos últimos pares canônicos não significativos, menor é a importância relativa. Assim, identifica-se PTCOE (carga 0,81 em  $V2$ ) como a característica do grupo II de menor importância relativa na relação entre os grupos.

Com o uso da análise de correlação canônica, foi possível verificar que os grupos de variáveis estão correlacionados e determinar a importância relativa das variáveis de cada grupo na relação entre eles.

Dado que existe correlação entre variáveis dos dois grupos (variáveis quantificadas por análise sensorial e variáveis quantificadas por um método instrumental), é intuitivo buscar as possíveis relações funcionais existentes entre as variáveis. Nesse caso, é recomendada a análise de regressão. Por exemplo, foi detectado que Sesp se relaciona, principalmente, com as variáveis PTFIR, PTGOM, PTMAS e PTELA. Então, é desejável o uso da análise de regressão linear múltipla para modelar a relação entre a variável espalhabilidade (Sesp), quantificada por avaliação sensorial, e as outras quatro variáveis (quantificadas por método instrumental). O modelo então obtido tem aplicação prática ao ser usado para estimar a espalhabilidade sensorial a partir das variáveis quantificadas por método instrumental de novas amostras de requeijão.

Uma opção é realizar análise de regressão para obter a relação funcional entre as variáveis canônicas  $U1$  (textura sensorial) e  $V1$  (textura instrumental). E

o modelo obtido pode ser usado para estimar a textura sensorial a partir de novas medidas da textura instrumental.

Estão apresentados, na Tabela 5, os escores para as variáveis canônicas *U1* (textura sensorial) e *V1* (textura instrumental). A relação entre elas é linear simples, cujo modelo está apresentado na Equação 1, com parâmetro significativo ( $p < 0,05$ ) e  $r^2$  igual a 0,814.

**Tabela 5 – Relação entre textura sensorial e instrumental para requeijão light**

Formulação	Variável canônica V1	Variável canônica U1	Textura sensorial
	Textura instrumental	Textura sensorial	estimada
	Tins	Tsen	Tsen estimada <sup>1</sup>
1	10,470	13,297	14,747
2	0,783	17,851	15,525
3	0,653	15,677	15,536
4	64,700	9,730	10,391
5	-0,158	14,306	15,601
6	0,729	16,765	15,530
7	74,388	10,829	9,613
8	77,246	9,050	9,383
9	8,288	13,743	14,922

<sup>1</sup> Modelo:  $Tsen = 15,58 - 0,080 * Tins$ ;  $r^2 = 0,814$ ; parâmetro significativo ( $p < 0,05$ ) pelo teste *t*.

Fonte: Elaboração própria.

Observa-se que os valores da textura sensorial (*Tsen*) são próximos aos estimados (*Tsen estimada*) usando o modelo (Tabela 5). Portanto, para uma nova amostra de requeijão *light*, pode-se medir a textura instrumental (*Tins*) e usar o modelo para estimar a textura sensorial (*Tsen*). Isso possibilita ter uma estimativa da textura sensorial, realizando-se apenas as medidas instrumentais de textura, sem ter de se recorrer a uma equipe de avaliadores treinados. Dessa forma, o usuário pode ter interesse em usar a análise de correlação canônica como a técnica para a análise dos dados ou, se for de interesse, na sequência, usar a análise de regressão.

$$Tsen = 15,58 - 0,080 * Tins$$

Equação 1

Foi utilizado, na ilustração, um número não muito grande de variáveis. À medida que este cresce, mais a análise de correlação canônica se torna importante, minimizando tempo e facilitando a verificação de relações entre grupos de variáveis.

## *2.2. Relação entre variáveis em estudo sobre conservação de alimentos*

### *2.2.1. Conjunto de dados*

Os dados experimentais analisados e discutidos a seguir são parte do experimento de mestrado de Figueiró (2013) e se referem à conservação de alimentos. Considere-se, então, o fator quantitativo concentração de nitrito de sódio em linguiça suína fresca, com cinco níveis (0, 50, 100, 150 e 200 mg de nitrito de sódio/kg de linguiça), no delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Nessa ilustração está sendo considerado apenas um fator com cinco níveis; portanto, trata-se de um estudo com cinco tratamentos. As linguiças foram elaboradas, armazenadas por quinze dias a 5 °C e avaliadas quanto a pH, acidez (em % de ácido láctico), TBA (substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico, expressas em mg de malonaldeído por kg de linguiça), Rnitrito (nitrito residual, expresso em mg de nitrito por kg de linguiça) e coordenadas L\* (luminosidade), a\* (tonalidade de vermelho a verde) e b\* (amarelo a azul).

A matriz R, de correlação linear simples entre as variáveis-resposta, e consequentemente a análise de correlação canônica podem ser processadas de diferentes formas. Se há um número considerável de tratamentos, o mais usual é considerar o delineamento experimental e obter a matriz de correlação a partir das médias de tratamentos. Já, quando existem poucos tratamentos, o mais recomendado é fazer a análise a partir do número total de observações.

### *2.2.2. Processamento da análise considerando-se o delineamento experimental com cinco tratamentos e três repetições*

#### a) Correlações obtidas a partir das médias de tratamento

Inicialmente, são obtidas as médias por tratamento e estas são usadas para calcular a matriz de correlação R. Note-se que, nesse caso, as correlações são obtidas a partir de cinco medidas (cinco tratamentos).



Uma das formas de se obter a matriz de correlação, e que foi utilizada neste estudo, é proceder à Anova como uma análise preliminar, por meio do procedimento “estatística experimental/análise de variância/inteiramente ao acaso” do programa Genes (CRUZ, 2013). Essa análise é realizada apenas para se obter a matriz R, que, no Genes, é denominada de matriz de correlação fenotípica. Ao final da Anova, o usuário do programa tem a opção de salvar essa matriz na forma de um arquivo de dados, que posteriormente é processado para a análise de correlação canônica, por meio do procedimento “análise multivariada/correlações canônicas”.

Para efeito da análise de correlação canônica, considere-se que o interesse seja verificar possíveis relações entre o grupo I de variáveis (acidez e nitrito residual) com o grupo II (TBA e L), Tabela 6.

**Tabela 6 – Variáveis avaliadas em linguiça suína frescal armazenadas por quinze dias a 5 °C**

<b>Variáveis do grupo I (U)</b>	
Acidez	Acidez
Rnitrito	Nitrito residual
<b>Variáveis do grupo II (V)</b>	
TBA	Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico
L	Coordenada L* (luminosidade)

Fonte: Elaboração própria.

Apesar de existirem sete variáveis à disposição e de ser interessante considerarem-se todas elas na análise, serão consideradas apenas quatro (Tabela 6), pois, para sete variáveis, o número de medidas (cinco tratamentos) disponíveis para calcular as correlações é pequeno e limita o uso de todas as variáveis. Ou seja, para se considerarem as sete variáveis na análise de correlação canônica, seria necessário um maior número de tratamentos.

Além de se estimarem as correlações canônicas, é realizado o teste aproximado de qui-quadrado,  $\chi^2$  (DUNTEMAN, 1984), Equação 2, para testar a hipótese de que todas as possíveis correlações canônicas são nulas. Quando o número de observações é muito pequeno em relação ao número de variáveis, o valor de qui-quadrado calculado é afetado e pode levar a resultados não consistentes. Por exemplo, se fossem consideradas todas as sete variáveis disponíveis, o valor de t seria zero e,

consequentemente, o do qui-quadrado também seria zero. Isso levaria à não significância do teste, independentemente de existir ou não relação entre os dois grupos de variáveis. Então, para esse conjunto de dados, seria necessário um maior número de medidas (tratamentos). Como se dispõe de apenas cinco medidas (cinco tratamentos), consideraram-se quatro variáveis (Tabela 6), a título de ilustração da análise de correlação canônica para dados de conservação de alimentos.

$$x^2 = -t \log_e \left[ \prod_{i=1}^s (1-r_i^2) \right] \quad \text{Equação 2}$$

Com:

$$t = n - 0,5 (p + q + 3)$$

Sendo:

*n*: número de observações experimentais (neste estudo, número de tratamentos);

*p*: número de variáveis do grupo I;

*q*: número de variáveis do grupo II;

e a estatística associada a *pq* graus de liberdade.

#### b) Resultados e discussão

Nota-se, na Tabela 7, que dos dois pares canônicos estimados apenas o primeiro é significativo ( $p < 0,05$ ) pelo teste aproximado de  $x^2$ , sendo a correlação canônica  $r(U1, V1) = 0,999$ . Assim, os grupos I e II de variáveis não são independentes.

A variável Rnitrito (com carga 1,00) está correlacionada com a variável canônica *U1* e, desse grupo, é a principal variável responsável pela correlação canônica entre *U1* e *V1*. Já no grupo II, TBA (com carga -0,99 em *V1*) é a principal variável responsável pela correlação canônica (*U1*, *V1*). O fato de as cargas das correlações serem opostas indica uma relação inversa entre Rnitrito e TBA, ou seja, as formulações de linguiça que apresentarem maior teor de nitrito residual (Rnitrito) exibirão menor nível de oxidação (menor quantidade de TBA) e, assim, serão mais estáveis no que se refere à conservação.

O que provavelmente está ocorrendo é que ambas as variáveis (Rnitrito e TBA) são influenciadas pela variável independente (variável de entrada) concentração do nitrito de sódio (0, 50, 100, 150 e 200 mg/kg), adicionado nas formulações

de linguiça e constituinte dos cinco tratamentos em estudo. A análise de regressão é, então, recomendada para se obterem as possíveis relações funcionais entre as variáveis-resposta e os tratamentos. Tais relações foram verificadas por Figueiró (2013) em seu estudo.

**Tabela 7 – Correlações canônicas entre variáveis quantificadas na conservação de linguiça suína frescal**

<i>Pares canônicos</i>	<i>U1, V1</i>	<i>U2, V2</i>
Correlações canônicas (r)	0,999*	0,357 <sup>ns</sup>
<b>Cargas canônicas das variáveis do grupo I</b>		
<i>Variável</i>	<i>U1</i>	<i>U2</i>
Acidez	0,60	0,80
Rnitrito	<b>1,00</b>	0,03
<b>Cargas canônicas das variáveis do grupo II</b>		
<i>Variável</i>	<i>V1</i>	<i>V2</i>
TBA	<b>-0,99</b>	-0,14
L	0,62	0,78

\*Significativo ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$ .

<sup>ns</sup> Não significativo ( $p > 0,05$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$ .

Fonte: Elaboração própria.

Pelos resultados, pode-se concluir que a análise de correlação canônica foi útil neste estudo sobre conservação de alimentos porque indicou as relações entre variáveis dos dois grupos, e que é desejável sua utilização combinada com outras técnicas de análise, como a análise de regressão. Porém o usuário deve atentar-se ao fato de que não se deve trabalhar com um número muito pequeno de observações experimentais (número de tratamentos, neste estudo) quando comparado ao número de variáveis em análise, pois pode afetar a estimativa da estatística do teste aproximado do qui-quadrado, propiciando resultados não consistentes para esse teste.

### 2.2.3. Processamento da análise considerando-se o número total de observações

São consideradas as quinze observações (cinco tratamentos vezes três repetições), a partir das quais é obtida a matriz de correlação R, e esta usada na análise de correlação

canônica. Essas análises são processadas usando os procedimentos “estatística experimental/correlações/correlações simples/correlação de Pearson” e “análise multivariada/correlações canônicas” do programa Genes (CRUZ, 2013).

Como há um número um pouco maior de observações, foi possível considerar na análise todas as variáveis-resposta mensuradas no experimento. Essas variáveis estão organizadas em dois grupos e apresentadas na Tabela 8.

**Tabela 8 – Variáveis avaliadas em linguiça suína fresca armazenadas por quinze dias a 5 °C**

<b>Variáveis do grupo I (U)</b>	
pH	Potencial de hidrogênio
Acidez	Acidez
Rnitrito	Nitrito residual
<b>Variáveis do grupo II (V)</b>	
TBA	Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico
L	Coordenada <b>L</b> * (luminosidade)
A	Coordenada <b>a</b> * (tonalidade de vermelho a verde)
B	Coordenada <b>b</b> * (tonalidade de amarelo a azul)

Fonte: Elaboração própria.

#### a) Resultados e discussão

Foram estimadas três correlações canônicas (Tabela 9), que coincidem com o número de variáveis no menor grupo. Dasquelas, apenas a correlação canônica entre o primeiro par ( $U1$ ,  $V1$ ) foi significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$  e vale 0,89. Portanto, os grupos I e II de variáveis não são independentes.

A variável Rnitrito (com carga 0,93), correlacionada com  $U1$ , e a TBA (com carga -0,95), correlacionada com  $V1$ , são as principais variáveis, de cada grupo, responsáveis pela correlação canônica  $r(U1, V1)$ . O fato de as cargas possuírem sinais opostos indica que a relação entre Rnitrito e TBA é inversa. Assim, as formulações de linguiça que apresentarem maior teor de nitrito residual (Rnitrito) exibirão menor nível de oxidação (menor quantidade de TBA) e, por isso, serão mais estáveis no que tange à conservação.

Pelos resultados, conclui-se que a análise de correlação canônica foi aplicável para analisar os dados provenientes da conservação de linguiça suína. Quando

a análise foi realizada considerando-se todas as quinze observações, foi possível incluir um maior número de variáveis, em comparação com a análise feita a partir das médias dos cinco tratamentos.

Se o pesquisador pretende usar a análise de correlação canônica, ele deve ficar atento ao número de observações e de variáveis que comporão o experimento.

**Tabela 9 – Correlações canônicas entre variáveis quantificadas na conservação de linguiça suína frescal**

<i>Pares canônicos</i>	<i>U1, V1</i>	<i>U2, V2</i>	<i>U3, V3</i>
Correlações canônicas (r)	0,89*	0,72 <sup>ns</sup>	0,25 <sup>ns</sup>
<b>Cargas canônicas das variáveis do grupo I</b>			
<i>Variável</i>	<i>U1</i>	<i>U2</i>	<i>U3</i>
pH	-0,14	0,83	-0,54
Acidez	0,41	-0,28	0,87
Rnitrito	<b>0,93</b>	-0,21	0,31
<b>Cargas canônicas das variáveis do grupo II</b>			
<i>Variável</i>	<i>V1</i>	<i>V2</i>	<i>V3</i>
TBA	<b>-0,95</b>	0,30	0,06
L	0,19	-0,98	0,04
A	0,31	0,66	0,06
B	-0,54	0,33	-0,77

\* Significativo ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$ .

<sup>ns</sup> Não significativo ( $p > 0,05$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$ .

Fonte: Elaboração própria.

## 2.3. Relação entre medidas analíticas em alimentos

### 2.3.1. Conjunto de dados

Considerem-se os dados parciais do experimento de mestrado de Silva (2010) referentes a composição centesimal (porcentagem de água, gordura, proteína, cinza, carboidrato, extrato seco desengordurado) e valor calórico de nove formulações de requeijão cremoso *light* adicionado de concentrado proteico de soro (CPS).

Todas as formulações foram preparadas com uma redução de pelo menos 25 % no teor de gordura em relação ao requeijão tradicional. O teor mínimo de

gordura foi estabelecido por testes preliminares. Variou-se também o teor de água dos requeijões, sendo os valores mínimo e máximo estabelecidos em testes preliminares, dentro de uma faixa que resultava em produtos com textura característica de requeijão.

Utilizou-se o delineamento composto central rotacional, em que o ponto central (formulação nove) foi repetido três vezes, e para as demais formulações não foram realizadas repetições, conforme previsto nesse tipo de delineamento. Sendo assim, no estudo de correlação canônica, considerou-se, para a formulação nove, a média das três repetições.

Considere-se, ainda, que o interesse seja verificar possíveis relações entre as variáveis do grupo I (porcentagem de gordura e água) e do grupo II (porcentagem de proteína, cinza, carboidrato, extrato seco desengordurado e valor calórico) avaliadas nos requeijões (Tabela 10).

**Tabela 10 – Variáveis avaliadas em nove formulações de requeijão light**

<b>Variáveis do grupo I (U)</b>	
Água	Água (%)
Gordu	Gordura (%)
<b>Variáveis do grupo II (V)</b>	
Prote	Proteína (%)
Cinza	Cinzas (%)
Carbo	Carboidratos (%)
ESD	Extrato seco desengordurado (%)
Vcalo	Valor calórico (kcal)

Fonte: Elaboração própria.

### 2.3.2. Processamento da análise

A partir dos dados experimentais, foi estimada a matriz de correlação entre as sete variáveis (Tabela 10), por meio do procedimento “estatística experimental/correlações/correlações simples/correlação de Pearson”. E, a partir dessa matriz de correlação, realizou-se a análise de correlação canônica por meio do procedimento “análise multivariada/correlações canônicas”. Ambos os procedimentos estão disponíveis no programa Genes (CRUZ, 2013).

### 2.3.3. Resultados e discussão

As correlações canônicas entre os pares ( $U_1$ ,  $V_1$ ) e ( $U_2$ ,  $V_2$ ) foram significativas ( $p < 0,01$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$  e valem, respectivamente, 1,000 e 0,999 (Tabela 11). Assim, os grupos I e II de variáveis não são independentes.

As variáveis Água (com carga 0,60) e Gordura (carga 0,78), correlacionadas com  $U_1$ , e as variáveis Proteína (-1,00), Cinzas (-0,81), Carboidrato (-0,83) e ESD (-1,00), correlacionadas com  $V_1$ , são as variáveis, em cada grupo, responsáveis pela correlação canônica  $r(U_1, V_1)$ . Pelos sinais das cargas (Tabela 11), nota-se relação inversa entre as variáveis do grupo I (Água e Gordura) e as variáveis Proteína, Cinzas, Carboidrato e ESD, ou seja, ao reduzir-se a quantidade de água e de gordura adicionada nas formulações de requeijão, há um aumento na proporção dos demais constituintes.

**Tabela 11 – Correlações canônicas entre variáveis quantificadas em requeijão cremoso light**

<i>Pares canônicos</i>	$U_1, V_1$	$U_2, V_2$
Correlações canônicas (r)	1,000**	0,999**
<b>Cargas canônicas das variáveis do grupo I</b>		
<i>Variável</i>	$U_1$	$U_2$
Água	<b>0,60</b>	<b>0,80</b>
Gordura	<b>0,78</b>	<b>-0,62</b>
<b>Cargas canônicas das variáveis do grupo II</b>		
<i>Variável</i>	$V_1$	$V_2$
Proteína	<b>-1,00</b>	-0,04
Cinzas	<b>-0,81</b>	0,19
Carboidrato	<b>-0,83</b>	0,21
Extrato seco desengordurado	<b>-1,00</b>	0,00
Valor calórico	0,39	<b>-0,92</b>

\*\*Significativo ( $p \leq 0,01$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$ .

Fonte: Elaboração própria.

No que tange à correlação canônica  $r(U_2, V_2)$ , conforme Tabela 11, nota-se que a Água e a Gordura, do grupo I, e apenas o Valor calórico, do grupo II, são as variáveis responsáveis por tal correlação. Assim, pode-se verificar a influência das

duas primeiras variáveis no valor calórico dos requeijões: ao reduzir-se o teor de gordura e ao aumentar-se o teor de água adicionado nas formulações, há redução no valor calórico dos requeijões.

Essas conclusões estão em consonância com as obtidas, de forma descritiva, por Silva (2010) em sua dissertação. Isso sinaliza que a análise de correlação canônica é útil para “tratar” dados referentes à composição centesimal de alimentos.

Deve-se destacar que, com o uso de correlação canônica, a magnitude das correlações  $r(U, V)$  e o teste aproximado de  $\chi^2$  tornam as conclusões mais objetivas, em comparação com o uso de estatística descritiva.

## 2.4. Relação entre qualidade físico-química e qualidade microbiológica em alimentos

### 2.4.1. Conjunto de dados

Considerem-se os dados parciais do experimento de mestrado de Nascimento Neta (2013) referentes a qualidade físico-química (acidez e extrato seco desengordurado) e qualidade microbiológica (contagem bacteriana total, contagem de bactérias psicotróficas e de *Staphylococcus spp.*) de leite cru refrigerado proveniente de quatro tanques coletivos de armazenamento. Foram realizadas duas coletas por tanque, totalizando-se oito observações. O interesse é verificar possíveis relações entre qualidade físico-química (grupo I de variáveis) e qualidade microbiológica (grupo II de variáveis) do leite, conforme Tabela 12.

**Tabela 12 – Variáveis avaliadas em oito amostras de leite cru refrigerado**

Variáveis do grupo I (U)	
Acidez	Acidez dornic (g de ácido láctico/100 ml)
Exseto	Extrato seco total (%)
Variáveis do grupo II (V)	
CBT	Contagem bacteriana total (UFC/ml)
Psicro	Contagem de bactérias psicotróficas (UFC/ml)
Sthafi	Contagem de bactérias <i>Staphylococcus spp.</i> (UFC/ml)

Fonte: Elaboração própria.



#### *2.4.2. Processamento da análise*

A partir dos dados experimentais, foi estimada a matriz de correlação entre as cinco variáveis (Tabela 12), por meio do procedimento “estatística experimental/correlações/correlações simples/correlação de Pearson”. E, a partir dessa matriz de correlação, realizou-se a análise de correlação canônica, por meio do procedimento “análise multivariada/correlações canônicas”. Ambos os procedimentos estão disponíveis no programa Genes (CRUZ, 2013).

#### *2.4.3. Resultados e discussão*

As correlações canônicas entre os pares ( $U_1, V_1$ ) e ( $U_2, V_2$ ) foram não significativas ( $p > 0,05$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$  e valem, respectivamente, 0,51 e 0,11 (Tabela 13). Assim, os grupos I e II de variáveis são independentes, ou seja, não houve relação entre qualidade físico-químicas e qualidade microbiológica para as amostras de leite avaliadas.

### *2.5. Relação entre conjuntos de respostas obtidas em levantamentos de dados com aplicação de questionários*

#### *2.5.1. Conjunto de dados*

Considerem-se os dados parciais do experimento de mestrado de Lima Filho (2013), referentes ao perfil dos consumidores (idade, estado civil, grau de instrução e renda familiar) e à preocupação deles com a segurança dos alimentos (preocupação com o consumo de alimentos com agrotóxicos, transgênicos, com aditivos químicos, irradiados, orgânicos, contaminados com microrganismos e contaminados com produtos químicos).

**Tabela 13 – Correlações canônicas entre variáveis quantificadas em leite cru refrigerado**

<i>Pares canônicos</i>	<i>U1, V1</i>	<i>U2, V2</i>
Correlações canônicas (r)	0,51 <sup>ns</sup>	0,11 <sup>ns</sup>
<b>Cargas canônicas das variáveis do grupo I</b>		
<i>Variável</i>	<i>U1</i>	<i>U2</i>
Acidez	-0,24	0,97
Exseto	0,96	0,28
<b>Cargas canônicas das variáveis do grupo II</b>		
<i>Variável</i>	<i>V1</i>	<i>V2</i>
CBT	0,54	0,82
Psicro	0,97	0,09
Sthafi	0,81	0,12

<sup>ns.</sup> Não significativo ( $p > 0,05$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$ .

Fonte: Elaboração própria.

Considere-se ainda que o interesse seja verificar possíveis relações entre o perfil dos consumidores (grupo I de variáveis) e a preocupação deles com a segurança dos alimentos (grupo II de variáveis), conforme Tabela 14. Na Tabela 15, são fornecidos os códigos e a escala usados para coleta e tabulação dos dados.

**Tabela 14 – Questões respondidas pelos consumidores**

<b>Variáveis do grupo I (U) – Perfil dos consumidores</b>	
Idade	Idade
Ecivil	Estado civil
Ginst	Grau de instrução
Rfami	Renda familiar
<b>Variáveis do grupo II (V) – Preocupação com a segurança dos alimentos</b>	
Agrot	Preocupação com consumo de alimentos com agrotóxicos
Trans	Preocupação com consumo de alimentos transgênicos
Aditi	Preocupação com consumo de alimentos com aditivos químicos
Irrad	Preocupação com consumo de alimentos irradiados
Orga	Preocupação com consumo de alimentos orgânicos
Micro	Preocupação com consumo de alimentos contaminados por microrganismos
Quimi	Preocupação com consumo de alimentos contaminados por produtos químicos

Fonte: Elaboração própria.

**Tabela 15 – Códigos e escala usados na coleta e tabulação dos dados experimentais**

Variável	Alternativas	Códigos
Estado civil	( ) Solteiro	1
	( ) União estável	2
	( ) Separado	3
	( ) Divorciado	4
	( ) Viúvo	5
Grau de instrução	( ) Ensino fundamental incompleto	1
	( ) Ensino fundamental completo	2
	( ) Ensino médio incompleto	3
	( ) Ensino médio completo	4
	( ) Graduação incompleta	5
	( ) Graduação completa	6
	( ) Pós-graduação incompleta	7
	( ) Pós-graduação completa	8
Renda familiar	( ) 1 a 2 salários mínimos	1
	( ) > 2 a 5 salários mínimos	2
	( ) > 5 a 10 salários mínimos	3
	( ) > 10 a 20 salários mínimos	4
	( ) > 20 salários mínimos	5

Variável	Escala
Preocupação com consumo de alimentos com agrotóxicos	1: maior preocupação – 7: menor preocupação
Preocupação com consumo de alimentos transgênicos	
Preocupação com consumo de alimentos com aditivos químicos	
Preocupação com consumo de alimentos irradiados	
Preocupação com consumo de alimentos orgânicos	
Preocupação com consumo de alimentos contaminados por microrganismos	
Preocupação com consumo de alimentos contaminados por produtos químicos	

\* Variável Idade: foi considerada a idade, em anos, informada no questionário pelos consumidores.

Fonte: Elaboração própria.

### 2.5.2. *Processamento da análise*

A partir dos dados experimentais, foi estimada a matriz de correlação entre as onze variáveis (Tabela 14), por meio do procedimento “estatística experimental/correlações/correlações simples/correlação de Pearson”. E, a partir dessa matriz de correlação, realizou-se a análise de correlação canônica, por meio do procedimento “análise multivariada/correlações canônicas”. Ambos os procedimentos estão disponíveis no programa Genes (CRUZ, 2013).

### 2.5.3. *Resultados e discussão*

Das quatro correlações canônicas estimadas, pelo menos uma foi significativa ( $p < 0,01$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$  e vale 0,35 (Tabela 16). Assim, os grupos I e II de variáveis não são independentes, ou seja, há relação entre o perfil dos consumidores e a preocupação deles com a segurança dos alimentos.

As variáveis Idade (com carga -0,79), Ecivil (-0,73) e Rfami (0,61), correlacionadas com  $U1$ , e as variáveis Agrot (0,80), Aditi (-0,49) e Micro (-0,44), correlacionadas com  $V1$ , são as variáveis, em cada grupo, responsáveis pela correlação canônica  $r(U1, V1)$ . Pelos sinais das cargas (Tabela 16), pode-se verificar a influência das variáveis do grupo I (perfil dos consumidores) sobre as do grupo II (preocupação dos consumidores com a segurança dos alimentos). Por exemplo, a Idade apresenta relação direta com Agrot (preocupação com consumo de alimentos com agrotóxico). Assim, os consumidores mais velhos atribuíram menores escores (maior preocupação) para Agrot, ou seja, os mais velhos foram mais preocupados com o consumo de alimentos com agrotóxicos quando comparados aos consumidores mais jovens. Usando raciocínio similar, nota-se que os consumidores mais velhos se preocuparam menos com o consumo de alimentos com aditivos químicos ou contaminados com microrganismos, em comparação com os consumidores mais jovens.

Já as preocupações com consumo de alimentos transgênicos (Trans), irradiados (Irrad), orgânicos (Orga) ou contaminados com produtos químicos (Quimi) não estão relacionadas com o perfil dos consumidores (Tabela 16).

**Tabela 16 – Correlações canônicas entre perfil dos consumidores e a preocupação deles com a segurança dos alimentos**

Pares canônicos	U1, V1	U2, V2	U3, V3	U4, V4
Correlações canônicas (r)	0,35 **	0,25 <sup>ns</sup>	0,19 <sup>ns</sup>	0,15 <sup>ns</sup>
Cargas canônicas das variáveis do grupo I				
Variável	U1	U2	U3	U4
Idade	-0,79	0,00	0,56	-0,24
Ecivil	-0,73	0,68	0,03	-0,07
Ginst	0,45	0,27	0,44	0,73
Rfami	0,61	0,34	0,66	-0,28
Cargas canônicas das variáveis do grupo II				
Variável	V1	V2	V3	V4
Agrot	0,80	0,30	-0,07	0,42
Trans	-0,03	0,37	0,31	-0,63
Aditi	-0,49	0,04	0,24	0,67
Irrad	0,13	-0,15	-0,40	-0,29
Orga	0,11	0,27	0,53	-0,20
Micro	-0,44	-0,43	0,16	0,01
Quimi	-0,28	0,08	-0,61	-0,13

\*\*Significativo ( $p \leq 0,01$ ) pelo teste aproximado de  $\chi^2$ .

Fonte: Elaboração própria.

## Considerações finais

Evidenciou-se, neste capítulo, que a exploração das relações entre variáveis é relevante em várias subáreas da ciência e tecnologia de alimentos. E, quando o interesse está na relação entre grupos de variáveis, a análise de correlação canônica é apropriada, constituindo-se como alternativa de análise. Portanto, fica claro o potencial da técnica aplicada na análise de dados provenientes da área de ciência e tecnologia de alimentos.

## Referências

CRUZ, C. D. Genes – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, jul./set. 2013.

CRUZ, C. D. **Programa Genes: análise multivariada e simulação**. Viçosa: Editora UFV, 2006.

DIÓGENES, A. M. G. *et al.* Cinética de secagem de grãos de abóbora. *Revista Caatinga*, Mossoró, v. 26, n. 1, p. 71-80, jan./mar. 2013.

DUNTEMAN, G. H. **Introduction to multivariate analysis**. Beverly Hills: Sage, 1984.

ENDO, E. **Desenvolvimento e aplicações de filmes aromatizados para melhoria da qualidade sensorial de néctar de laranja**. 2010. 138 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

FIGUEIRÓ, L. S. **Influência da redução do teor de nitrito de sódio na estabilidade oxidativa e microbiológica de linguiça suína frescal**. 2013. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2013.

LIMA FILHO, T. **Irradiação de morangos: limiares de rejeição e detecção sensorial e impacto da tecnologia de conservação sobre a aceitação e as percepções dos consumidores**. 2013. 226 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2013.

MIGUEL, A. C. A. *et al.* Qualidade de mangas cv. Palmer após armazenamento sob baixas temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 398-408, jun. 2013.

MINGOTI, S. A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada.** Belo Horizonte: Editora UFMG, 2005.

NASCIMENTO NETA, F. C. **Parâmetros de qualidade em leite cru refrigerado em propriedades de base familiar na região sul do Espírito Santo.** 2013. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2013.

SHAFTO, M. G.; DEGANI, A.; KIRLIK, A. Canonical correlation analysis of data no human-automation interaction. *In: HUMAN FACTORS AND ERGONOMICS SOCIETY ANNUAL MEETING: ANCIENT WISDOM – FUTURE TECHNOLOGY*, 41., 22-26 Sept. 1997, Albuquerque. **Proceedings** [...]. Santa Monica: HFES, 1997.

SILVA, R. C. S. N. **Caracterização sensorial e reológica de requeijão light adicionado de concentrado proteico de soro.** 2010. 167 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

SILVA, S. L. *et al.* Correlações entre características de carcaça avaliadas por ultra-som e pós-abate em novilhos Nelore, alimentados com altas proporções de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 5, p. 1.236-1.242, out. 2003.

VIANA, A. D. **Propriedades termofísicas e comportamento reológico da polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) em diferentes concentrações e temperaturas.** 2010. 99 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2010.

## *Sobre os organizadores*

**Consuelo Domenici Roberto** é Professora Associada do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAIE) da Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes). Contato: consuelodr@yahoo.com

**Luciano José Quintão Teixeira** é Professor Associado do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCAIE da Ufes. Contato: luqteixeira@yahoo.com.br

**Raquel Vieira de Carvalho** é Professora Associada do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCAIE da Ufes. Contato: raquelvcarvalho@hotmail.com

## *Sobre os autores*

**Ana Lúcia Almeida Duarte** é Nutricionista e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PCTA) da Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes). Contato: nalu\_ad@hotmail.com

**Antonio Manoel Maradini Filho** é Professor Adjunto do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAIE) da Ufes. Contato: antoniomaradinifilho@yahoo.com

**Antônio Policarpo Souza Carneiro** é Professor Associado do Departamento de Estatística do Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Contato: policarpo@ufv.br

**Christiano Jorge Gomes Pinheiro** é Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Rural do CCAIE da Ufes. Contato: christrieste@yahoo.it



**Cintia da Silva Araújo** é Engenheira de Alimentos e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: araujo.s.cintia@gmail.com

**Consuelo Domenici Roberto** é Professora Associada do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCAE da Ufes. Contato: consuelodr@yahoo.com

**Cosme Damião Cruz** é Professor Titular do Departamento de Biologia Geral do Centro de Ciências Biológicas da UFV. Contato: cdcruz@ufv.br

**Denes Kaic Alves do Rosário** é Engenheiro de Alimentos e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: deneskaic@hotmail.com

**Ellen Silva Lago Vanzela** é Professora Assistente do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Contato: ellen@ibilce.unesp.br

**Emília Maria França Lima** é Cientista de Alimentos pela Universidade Federal de Ouro Preto e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: emiliamflima@gmail.com

**Estefânia Pecegueiro Prudêncio** é Engenheira de Alimentos e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: estefaniamerick@hotmail.com

**Joel Camilo Souza Carneiro** é Professor Associado do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCAE da Ufes. Contato: carneirojoel@hotmail.com

**Jussara Moreira Coelho** é Professora Adjunta do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCAE da Ufes. Contato: jmoreiracoelho@yahoo.com.br

**Kátia Silva Maciel** é Engenheira de Alimentos e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: katiasmaciell@hotmail.com

**Laísa Bernabé do Carmo** é Engenheira de Alimentos pelo CCAE da Ufes. Contato: laisabernabe@hotmail.com

**Lara Pupin Calegario** é Engenheira de Alimentos pelo CCAE da Ufes. Contato: lara\_pupin@hotmail.com

**Leandro Levate Macedo** é Engenheiro de Alimentos e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: leandrolevate@hotmail.com

**Lucas Mosquini** é Engenheiro de Alimentos pelo CCAE da Ufes. Contato: lcmosquini@gmail.com

**Luciano José Quintão Teixeira** é Professor Associado do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCAE da Ufes. Contato: luqteixeira@yahoo.com.br

**Luísa Oliveira Mendonça** é Engenheira de Alimentos pelo CCAE da Ufes. Contato: luisa\_om@hotmail.com

**Maria das Graças Vaz Tostes** é Professora Adjunta do Departamento de Farmácia e Nutrição do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde (CCENS) da Ufes. Contato: mgvaztostes@gmail.com

**Marina Carvalho Martins** é Engenheira de Alimentos e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: marina\_cmartins@yahoo.com.br

**Mateus da Silva Junqueira** é Professor Associado do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de São João Del-Rei. Contato: mateusjunqueira@ufsj.edu.br

**Meire Lelis Leal Martins** é Professora Adjunta do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Contato: meire@uenf.br

**Milton de Jesus Filho** é Engenheiro de Alimentos e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: miltonfilhoea@gmail.com

**Neuza Maria Brunoro Costa** é Professora Titular do Departamento de Farmácia e Nutrição do CCENS da Ufes. Contato: neuzambc@gmail.com

**Nicolý da Silveira Menditi** é Engenheira de Alimentos pelo CCAE da Ufes. Contato: nicoly-menditi@hotmail.com

**Olívia Furlan Cavallini** é Nutricionista e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: lilafurlanc@hotmail.com

**Pamela Lemos Cruz** é Engenheira de Alimentos e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: pamelaceng@gmail.com

**Patrícia Campos Bernardes** é Professora Associada do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCAE da Ufes. Contato: paticbernardes@gmail.com

**Paulo Henrique Alves da Silva** é Professor Titular do Departamento de Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas da UFV. Contato: phasilva@ufv.br

**Paulo Roberto Cecon** é Professor Titular do Departamento de Estatística do Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas da UFV. Contato: cecon@ufv.br

**Pedro Henrique Canal Panno** é Engenheiro de Alimentos pelo CCAE da Ufes. Contato: pppano@hotmail.com

**Pollyanna Ibrahim Silva** é Professora Associada do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCAE da Ufes. Contato: pollyannaibrahim@gmail.com

**Priscila Brigide** é Nutricionista, doutora em Química e Biotecnologia pela Universidade Federal de Alagoas e desenvolve estágio de pós-doutorado no PCTA da Ufes. Contato: pbrigide@hotmail.com

**Rafaela Venâncio Flores** é Engenheira de Alimentos e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: rafavenancio2@gmail.com

**Ramon Ramos de Paula** é mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e professor do Instituto Federal do Norte de Minas. Contato: ramonramos1988@gmail.com

**Raquel Nunes Fernandes** é Engenheira de Alimentos e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: raquel\_nf@hotmail.com

**Raquel Vieira de Carvalho** é Professora Associada do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCAE da Ufes. Contato: raquelvcarvalho@hotmail.com

**Sérgio Henriques Saraiva** é Professor Associado do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCAE da Ufes. Contato: sergiohsaraiva@gmail.com.br

**Suzana Maria Della Lucia** é Professora Associada do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCAE da Ufes. Contato: smdlucia@yahoo.com.br

**Syllas Borburema Silva Oliveira** é Engenheiro de Alimentos pelo CCAE da Ufes. Contato: syllasborbu@hotmail.com

**Talita Miranda Vidon** é Nutricionista e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: talitavidon@hotmail.com

**Tamires dos Santos Vieira** é Nutricionista e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: tamiresvieriaalim@gmail.com

**Tarcísio Lima Filho** é Professor Adjunto do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCAE da Ufes. Contato: tarcisiolimaf@yahoo.com.br

**Valéria Paula Rodrigues Minim** é Professora Titular do Departamento de Tecnologia de Alimentos Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas da UFV. Contato: vprm@ufv.br

**Wallaf Costa Vimercati** é Engenheiro de Alimentos e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: wallafcosta@hotmail.com

**Yanne Boaventura Nobre** é Engenheira de Alimentos e mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo PCTA da Ufes. Contato: nobreyanne@gmail.com

Esta publicação apresenta, aos estudantes de graduação e pós-graduação e aos profissionais envolvidos na cadeia produtiva de alimentos, uma coletânea de assuntos atuais sobre engenharia, ciência e tecnologia de alimentos. Foi escrita por professores, discentes e ex-alunos da Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE/Ufes), com a participação de estudantes do curso de Engenharia de Alimentos do CCAUE, e também por convidados com vasta experiência profissional nos temas abordados nesta obra.

 **EDUFES**

ISBN 978-65-88077-02-3



9 786588 077023 >