Vanessa Tizott Knaut Scremin
(Organizadora)

Tópicos em **Nutrição e Tecnologia de Alimentos**

Atena
Editora
Ano 2019

Vanessa Tizott Knaut Scremin
(Organizadora)

Tópicos em Nutrição e Tecnologia de Alimentos

Atena Editora
2019

2019 *by Atena Editora*
Copyright © da Atena Editora
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação e Edição de Arte: Lorena Prestes e Geraldo Alves
Revisão: Os autores

Conselho Editorial
Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall'Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant'Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

T673 Tópicos em nutrição e tecnologia de alimentos / Organizadora Vanessa Tizott Knaut Scremin. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-85-7247-171-8
DOI 10.22533/at.ed.718191203

1. Nutrição. 2. Tecnologia de alimentos. I. Scremin, Vanessa Tizott Knaut.

CDD 613.2

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

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

2019
Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.
www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Nas últimas décadas, o nosso país tem passado por intensas mudanças sociais, econômicas e políticas, resultando em um novo padrão demográfico, epidemiológico e nutricional da população. Estas transformações determinaram um novo perfil nutricional da população brasileira, marcado pela redução dos casos de desnutrição e a permanência das carências nutricionais, como deficiências de ferro e vitamina A, associados ao crescente aumento do sobrepeso e obesidade e as doenças associadas a este novo perfil, as doenças crônicas não transmissíveis.

Estas mudanças também repercutiram na mudança de padrões de produção e consumo de alimentos, fortalecendo a temática Segurança Alimentar e Nutricional (SAN), que em sua definição inclui a dimensão nutricional, a disponibilidade e a segurança dos alimentos:

> Segurança Alimentar e Nutricional (SAN) é a realização do direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde, que respeitem a diversidade cultural e que sejam social, econômica e ambientalmente sustentáveis. (CONSEA, 2004)

Sendo assim, a SAN está relacionada a fome, a desnutrição, a obesidade, ao sobrepeso, as doenças ligadas à alimentação e à qualidade dos alimentos, ao modelo de produção e consumo de alimentos.

Tendo em vista a importância deste tema e necessidade de reflexões sobre o mesmo, este livro apresenta quatorze artigos relacionados aos diferentes vieses desta temática. Os artigos são resultado de pesquisas realizadas nos mais diversos setores e instituições, com uma riqueza metodológica e de resultados.

Aos pesquisadores, aos editores e aos leitores, a quem se dedica este trabalho, agradeço imensamente a oportunidade de organizá-lo.

Vanessa Tizott Knaut Scremin

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 1

ANÁLISE NUTRICIONAL DO CARDÁPIO DE PRATOS EXECUTIVOS SEGUNDO O PROGRAMA DE ALIMENTAÇÃO DO TRABALHADOR (PAT)

Eliane Costa Souza
Flávio Eli da Silva
Lidiane Mária Bezerra de Alcântara
Giane Meyre de Assis Aquilino
Fabiana Melo Palmeira
Otávya Barros Vieira

DOI 10.22533/at.ed.7181912031

CAPÍTULO 2 8

AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO DE FÁRMACOS ANTIDEPRESSIVOS COM OS NUTRIENTES

Adiene Silva Araújo
Faldrecya de Sousa Queiroz Borges

DOI 10.22533/at.ed.7181912032

CAPÍTULO 3 13

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE BACTERIAS AUTOCTONES COM POTENCIAL APLICAÇÃO EM PRODUTOS LÁCTEOS FERMENTADOS

Marly Sayuri Katsuda
Amanda Giazzi
Priscila Lima Magarotto de Paula
Natara Fávaro Tosoni
Alane Tatiana Pereira Moralez
Luciana Furlaneto-Maia

DOI 10.22533/at.ed.7181912033

CAPÍTULO 4 23

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL NUTRICIONAL E BIOATIVO DE CULTIVARES DE GOIABA PRODUZIDOS NO RIO DE JANEIRO

Mariana Gonçalves Corrêa
Jessica Soldani Couto
Anderson Junger Teodoro

DOI 10.22533/at.ed.7181912034

CAPÍTULO 5 35

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE LICOPENO ISOLADO E NA MATRIZ ALIMENTAR SOB MARCADORES DE LESÃO HEPÁTICA DE RATAS ALIMENTADAS COM DIETA HIPERLIPÍDICA

Monique de Barros Elias Campos
Vanessa Azevedo de Jesuz
Anderson Junger Teodoro
Vilma Blondet de Azeredo

DOI 10.22533/at.ed.7181912035

CAPÍTULO 6 50

ENCAPSULAÇÃO DE VITAMINA D PARA APLICAÇÃO EM ALIMENTOS

Ana Paula Zapelini de Melo
Cleonice Gonçalves da Rosa
Michael Ramos Nunes
Carolina Montanheiro Noronha
Pedro Luiz Manique Barreto

DOI 10.22533/at.ed.7181912036

CAPÍTULO 7 66

Enterococcus SPP. EM SUPERFICIE DE VEGETAIS: FREQUENCIA DE ISOLAMENTO E RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS

Silvia Helena Tormen
Luciana Furlaneto Mais
Márcia Regina Terra
Natara Favari Tosoni
Márcia Cristina Furlaneto

DOI 10.22533/at.ed.7181912037

CAPÍTULO 8 78

FARINHA DE SEMENTE DE MAMA-CADELA: APLICABILIDADE TECNOLOGICA PARA PRODUÇÃO DE PÃO DE MEL

Vânia Maria Alves
Danilo José Machado de Abreu
Katiúcia Alves Amorim
Edson Pablo da Silva
Clarissa Damiani

DOI 10.22533/at.ed.7181912038

CAPÍTULO 9 86

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE GELEIAS COMERCIAIS DE CUPUAÇU (*Theobroma grandiflorum*)

Luzimary de Jesus Ferreira Godinho Rocha
Valdênia Cristina Mendes Mendonça
Rachel Fernandes Torquato
Francisco José da Conceição Lima
Ocilene Maria Correia Ferreira
Javier Telis-Romero
José Francisco Lopes Filho

DOI 10.22533/at.ed.7181912039

CAPÍTULO 10 92

LEVEDURA RESIDUAL CERVEJEIRA: CARACTERÍSTICAS E POTENCIAIS APLICAÇÕES

Darlene Cavalheiro
Angélica Patrícia Bertolo
Aniela Pinto Kempka
Luciana Alberti
Mirieli Valduga
Marana Sandini Borges
Ana Paula Biz
Elisandra Rigo

DOI 10.22533/at.ed.71819120310

CAPÍTULO 11 99

MORTADELA TIPO BOLOGNA ADICIONADA DE FARINHA DE SEMENTE DE ABÓBORA (*Cucurbita maxima*) COMO ANTIOXIDANTE NATURAL

Marcia Alves Chaves
Denise Pastore de Lima
Cristiane Canan
Letícia Kirienco Dondossola
Keila Tissiane Antonio

DOI 10.22533/at.ed.71819120311

CAPÍTULO 12 109

PESQUISA DE COLIFORMES A 45ºC EM QUEIJO TIPO RICOTA COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS

Malena Andrade de Morais
Izabelle Giordana Braga Oliveira Costa
Eliane Costa Souza

DOI 10.22533/at.ed.71819120312

CAPÍTULO 13 115

RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS NOS ALIMENTOS VEGETAIS: AÇÕES DO ESTADO DE SANTA CATARINA NA MITIGAÇÃO, MONITORAMENTO E RASTREABILIDADE

Diego Medeiros Gindri
Paulo Tarcísio Domatos de Borba
Roberta Duarte Ávila Vieira
Matheus Mazon Fraga
Ricardo Miotto Ternus
Greicia Malheiros da Rosa Souza
Nelson Alex Lorenz

DOI 10.22533/at.ed.71819120313

CAPÍTULO 14 127

RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS DE USO VETERINÁRIO EM SOPINHAS DESTINADAS A LACTENTES E CRIANÇAS DE PRIMEIRA INFÂNCIA

Rosana Gomes Ferreira
Jônatas Vieira Grutes
Mararlene Ulberg Pereira
Mychelle Alves Monteiro
Felipe Stanislau Candido
Bernardete Ferraz Spisso

DOI 10.22533/at.ed.71819120314

SOBRE O ORGANIZADOR 132

CAPÍTULO 1

ANÁLISE NUTRICIONAL DO CARDÁPIO DE PRATOS EXECUTIVOS SEGUNDO O PROGRAMA DE ALIMENTAÇÃO DO TRABALHADOR (PAT)

Eliane Costa Souza
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

Flávio Eli da Silva
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

Lidiane Míria Bezerra de Alcântara
Centro Universitário Cesmac
Maceió – Alagoas

Giane Meyre de Assis Aquilino
Centro Universitário Cesmac

Fabiana Melo Palmeira
Maceió – Alagoas
Centro Universitário Cesmac

Otávya Barros Vieira
Maceió – Alagoas
Centro Universitário Cesmac

RESUMO: Este estudo objetivou avaliar a composição nutricional de pratos executivos comercializados em um restaurante *self service* na cidade de Maceió/AL, e verificar sua adequação aos parâmetros nutricionais recomendados pelo Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT). Foram elaboradas fichas técnicas e realizadas as análises da composição nutricional por meio do *per capita* dos cardápios do almoço de seis pratos executivos, estes foram identificados com números naturais 1, 2, 3, 4, 5, e 6. Apenas o prato executivo número 6 apresentou conformidades para macronutrientes, NDPcal%, sódio e fibras. 100% dos pratos executivos não apresenta uma porção de fruta como sobremesa. Concluiu-se que a composição nutricional de todos os pratos executivos não se encontra em conformidade com os parâmetros do PAT. O cardápio deve ser reformulado para que sejam realizadas modificações nutricionais, prevenindo assim o aparecimento de problemas de saúde para os comensais, pois a maioria são trabalhadores, que frequentam o restaurante, utilizando o prato executivo, por serem mais econômicos, como refeição do almoço.

PALAVRAS-CHAVE: Planejamento de cardápio. Serviços de alimentação. Nutrientes.

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the nutritional composition of food executives traded in a self-service restaurant in the city of Maceió/AL, and check your fitness to nutritional parameters recommended by the worker (feeding program PAT). Fact sheets were prepared and carried out the analysis of the nutritional composition through the per capita of lunch menus of six executives, these dishes were identified with natural numbers 1, 2, 3, 4, 5, and 6. Only the plate number 6 Executive presented compliance for macronutrients, NDPcal%, sodium and fiber. 100% of executives does not present a portion of fruit as dessert.

It was concluded that the nutritional composition of every dish executives is not in accordance with the parameters of the PAT. The menu should be reworked to be carried out nutritional modifications, thus preventing the onset of health problems for Diners, since most are workers who frequent the restaurant, using the dish, Executive more economical, as lunch meal.
KEYWORDS: Menu planning. Food service. Nutrients.

1 I INTRODUÇÃO

Atualmente o Brasil passa por diversas mudanças, dentre as mais significativas estão as da economia, com isso, as unidades de alimentação e nutrição (UANs) buscam garantir seu espaço em um mercado cada vez mais competitivo, passando a disputar lugar não somente por meio de seus produtos, como também pela qualidade de seus serviços (SOUZA; MARSI, 2015).

A modificação nos hábitos alimentares da população no Brasil tem como principal motivo a realização das refeições fora das residências, principalmente devido à falta de tempo. Diante desses novos hábitos, o consumo de refeições através da elaboração dos Pratos Feitos, Pratos Comerciais ou Pratos Executivos cresceu consideravelmente, visto que estes são considerados uma refeição básica, tradicional e pouco onerosa (LEAL, 2006).

O Prato Executivo é elaborado com uma entrada, prato principal e acompanhamentos. Devido ao aumento no consumo deste pela população, principalmente trabalhadores de baixa renda, os restaurantes começaram a comercializar com algumas modificações em relação as preparações, porém utilizando o porcionamento em um único prato (FREIXA; CHAVES, 2008). Em serviços de alimentação, é imprescindível fornecer uma alimentação adequada, visto que, a mesma é essencial para a saúde do trabalhador, pois promove o bom desempenho de suas funções, aumentando assim a produtividade e reduzindo os riscos de acidentes de trabalho (MATTOS, 2008).

O Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT) foi instituído pela Lei 6.321, de 14/4/1976, com o objetivo de melhorar as condições nutricionais dos trabalhadores, principalmente os de baixa renda que ganham até 5 salários mínimos por mês. O cardápio deste programa é equilibrado qualitativamente e quantitativamente em nutrientes e o almoço e jantar devem possuir de 600-800 kcal, o desjejum e lanches devem conter 300-400 kcal e o percentual proteico-calórico (NDPCal) deverá ser, no mínimo 6% e máximo 10% (BRASIL, 2006).

Portanto o objetivo do presente estudo foi avaliar a composição nutricional dos pratos executivos comercializados em um restaurante tipo self service localizado em um Shopping Center na cidade de Maceió/AL e comparar aos parâmetros estabelecidos pelo Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT).

2 I METODOLOGIA

Trata-se de um estudo transversal. Após autorização do local, realizou-se a coleta de dados no segundo semestre de 2017. No estabelecimento participante da pesquisa é comercializado diariamente seis pratos executivos. De cada prato executivo foram elaboradas as fichas técnicas. Foram calculados o valor calórico total, macronutrientes, gorduras saturadas, fibras, teor de sódio e o NDPcal%, com o auxílio da tabela de composição química Sonia Tucunduva (PHILIPPI, 2012). Para análise dos cardápios, foram utilizados os parâmetros exigidos pelo PAT, na Portaria Interministerial nº 66/06 (BRASIL, 2006). Os dados coletados foram tabulados e apresentados com o auxílio do software Microsoft Office Excel®, versão 2010.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição do cardápio dos pratos executivos analisados é apresentada na Tabela 1. Estes apresentas uma entrada (salada crua com dois hortifrútis), um prato principal (uma opção de carne ou frango ou peixe ou embutidos) e acompanhamentos (arroz, feijão ou farofa) caracterizando, portanto, como um cardápio popular, porém por ser este tipo de cardápio não deveriam apresentar guarnições, o que não ocorre nos pratos executivos 2 e 5, pois a batata frita acompanha o prato principal, saindo, portanto, da configuração de um cardápio popular (REGGIOLLI, 2010).

Recomenda-se que além dos pratos executivos 2 e 5 seja incluído nos outros, alguma guarnição, para não desconfigurar o tipo de cardápio, visto que a padronização é importante pois facilita a equivalência dos nutrientes, porém vale salientar, que a utilização da batata inglesa que já está inserida como guarnição, facilita a utilização deste ingrediente nos outros pratos executivos caso no dia não saia a batata frita. Quando existe acumulo de ingrediente, pode ocorrer desperdício pelo excesso de dias de armazenamento, sendo essa inserção, um fator principal para obtenção de um cardápio inteligente (TADEU, 2017).

Cardápio	**Pratos executivo**					
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Entrada	Alface Tomate	Alface Tomate	Alface Tomate	Alface Tomate	Alface Tomate	Alface Tomate
Prato Principal	Linguiça de porco assada	Panqueca de carne moída	Bisteca suína Frita	Filé de Peixe Empanado	Filé de Frango Frito	Panqueca de frango
Guarnição	-	Batata Frita	-	-	Batata Frita	Batata Frita
Acompanhamento	Arroz branco Feijão Farofa	Arroz branco	Arroz branco Feijão Farofa	Arroz branco Feijão	Arroz branco Feijão	Arroz branco

TABELA 1. Descrição da composição do cardápio dos pratos executivos. Maceió, AL, 2018.

Fonte: dados da pesquisa

Por meio dos dados contidos na Tabela 2 é possível observar que os pratos executivos 1, 3 e 5 estão com valores aumentados em relação ao valor energético total (600 a 800 Kcal e adicional de 400 Kcal justificáveis) para grandes refeições, portanto em desacordo com o PAT, A elevada ingestão energética, acima das necessidades individuais, passou a ser motivo de preocupação por se tratar de uma das principais causas do aumento da prevalência do sobrepeso, da obesidade e das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) associadas, tais como diabetes mellitus, hipertensão arterial e doenças cardiovasculares (CASTRO; ANJOS; LOURENÇO, 2004). A oferta de energia considerada acima dos padrões para uma única refeição também foi encontrada em estudo realizado em serviços de alimentação de indústrias petroquímicas participantes do PAT localizados no estado da Bahia (COSTA, 2000).

Com relação à oferta de carboidratos, cinco dos seis pratos executivos (1, 2, 3, 4 e 5) estão ofertando valores abaixo dos 60%, onde apenas o prato executivo 6 está de acordo com o padrão. É importante salientar que os pratos executivos 2 e 4 se aproximaram do percentual preconizado pelo PAT, provavelmente porque apresenta a guarnição de batata frita e a preparação de peixe empanado, onde se utiliza a farinha de trigo, neste último, como ingrediente. No estudo de Vanin et al. (2007), a distribuição percentual de carboidratos esteve acima do recomendado, sendo ofertada aos comensais uma média de 63,3%.

Na oferta de proteínas, verificou-se que a mesma estava acima do valor preconizado pelo PAT em quatro dos seis pratos executivos (2, 3, 4 e 5). O prato executivo 1 obteve o menor percentual (13,6%), mas, é justificável pois este apresenta a linguiça toscana como prato principal e está, apresenta outros ingredientes não proteicos (gordura suína e água) na sua composição além da carne de porco, possuindo, portanto, uma quantidade menor de proteína. Refeições de caráter hiperproteico também foram observadas por Amorim, Junqueira e Jokl (2005), que analisaram o cardápio do almoço servido em uma empresa participante do PAT, na cidade de Santa Luzia-MG.

Composição	**Parâmetros PAT**	**Pratos executivos**					
		1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Energia (kcal)	600-1200	1815	861	1765	1.066	1215	781
Carboidratos (%)	60	37,9	54,6	39	56,22	38	60
% Proteínas	15	13,6	16,3	19,4	17,83	19	15
% Gordura total	25	48,5	28,1	41,6	25,93	43	20
% Gordura saturada	<10	18	7,9	23	16,53	16,57	2,9
NDPcal%	6-10	8,7	8,0	12,8	12,23	11,23	10
Fibras (g)	7-10	19,2	5,7	19,2	13,62	15,52	5,6
Sódio (mg)	720-960	2673	406	173	114,4	22,87	331

TABELA 2. Resultados encontrados para valor energético, percentual de macronutrientes, gorduras totais e saturadas, teor de fibras e sódio e o NDPcal% da composição do cardápio dos pratos executivos. Maceió, AL, 2018.

Fonte: dados da pesquisa

O excesso no consumo de proteínas está relacionado à sobrecarga da função renal e ao desenvolvimento de doenças crônicas, por meio da ingestão de gordura saturada e de colesterol presentes nos alimentos de origem animal. Portanto, a fim de evitar possíveis problemas na saúde, seu consumo deveria ser restringido às quantidades recomendadas, suficientes para assegurar o suprimento das necessidades de proteínas diárias de cada indivíduo (OLIVEIRA; ALVES, 2008).

O PAT também preconiza valores para o NDPCal% - Net Dietary Protein Calories (%), que deverá ser de no mínimo 6% e no máximo 10%. O NDPCal% estima a quantidade de proteínas líquidas da refeição, ou seja, as que serão realmente utilizadas pelo organismo. Em relação ao NDPcal% é possível observar que 50% dos pratos executivos não estão de acordo com as recomendações do PAT, no entanto esses valores altos podem ser justificados porque os pratos executivos 3, 4 e 5 possuem além do prato principal proteico com valores per captas de 150g, ainda tem o feijão em sua composição, que segundo o PAT apresenta 0,6 de proteína vegetal. Já os pratos 1, 2 e 6 possuem per capta de 120g, e dois deles (2 e 6) não tem o feijão. No estudo conduzido por Rocha, Paiva e Lipi (2008), foram analisados os cardápios de três empresas na região do grande ABC no estado de São Paulo, e encontraram percentual médio de 14,9% para o NdpCal%.

Com relação a oferta de gorduras totais, 83,3% (n=5) dos pratos executivos apresentarão valores inadequados, bem acima do preconizado pelo PAT, porem os pratos executivos 1 e 3 que eram compostos de carne suína e o 5 que apresentou a fritura como modo de cocção no prato principal e na guarnição, apresentaram os maiores valores. Esses resultados são preocupantes, pois o consumo excessivo de gorduras pode favorecer o surgimento de complicações, como dislipidemia e doenças cardiovasculares. A quantidade de gorduras saturadas que também esteve acima do valor de 10% preconizado pelo PAT (SOUSA; SILVA; FERNANDES, 2009).

Visto a mudança no padrão alimentar da população brasileira, os estudos epidemiológicos têm fornecido evidências sobre a importância da dieta como fator chave para prevenção ou surgimento de doenças cardiovasculares. Vários alimentos e nutrientes têm sido relacionados à ocorrência de doenças crônicas em diferentes populações, onde o consumo excessivo de colesterol e gorduras saturadas ganham destaca entre os nutrientes implicados na gênese das doenças cardiovasculares (AMORIM; JUNQUEIRA; JOKL, 2005).

Com relação à oferta de fibras alimentares, observou-se que esta foi superior ao estabelecido pelo programa de alimentação do trabalhador. Vanin et al. (2007) constataram que os usuários consumiam apenas 26% dos valores de fibras alimentares recomendados pelo PAT.

Uma ingestão de fibras alimentares, em níveis moderados ou adequados, mostra-se eficaz na diminuição dos triglicerídeos, do colesterol e das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), assim como nos níveis de glicose pós-prandial, além de favorecer a saciedade (PASQUALOTTO, 2009).

O sódio esteve adequado em cinco dos seis pratos executivos, porém, no prato 1 o valor foi excessivamente alto, mais que o dobro acima das recomendações do PAT. A ingestão excessiva de sódio vem sendo, há muito tempo, considerada importante fator no desenvolvimento e na intensidade da hipertensão arterial. Sarno, Brandoni e Jaime (2008) encontraram prevalência de hipertensão arterial de aproximadamente 30% em trabalhadores beneficiados pelo PAT na cidade de São Paulo.

O cardápio oferece uma porção de salada crua e não oferece fruta como sobremesa, estando, portanto, em conformidade e não conformidade respectivamente aos parâmetros do PAT que cita no inciso 10, que os cardápios deverão oferecer, pelo menos, uma porção de frutas e uma porção de legumes ou verduras, nas refeições principais (almoço, jantar e ceia) (BRASIL, 2006). Frutas, legumes e verduras (FLV) são importantes componentes de uma alimentação equilibrada e saudável e seu consumo em quantidade adequada pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer. Estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS) indicam que o consumo inadequado de frutas, legumes e verduras estão entre os dez principais fatores de risco para a carga total global de doença em todo o mundo (JAIME et al., 2009).

4 I CONCLUSÃO

Por meio do presente estudo, conclui-se que 83,3% (n=5) dos pratos executivos analisados nessa Unidade de Alimentação e Nutrição encontram-se com inconformidades em alguns ou em todos os parâmetros exigidos pelo Programa de alimentação do Trabalhador, já que os pratos são ofertados quase sempre para consumidores advindo de seus trabalhos em horário de almoço. É fundamental que haja um reajuste nas porções ou até mesmo novas substituições oferecidas nos pratos executivos desse estabelecimento que deve ser baseada nos valores recomendados pelo PAT, tendo em vista que esse programa busca fornecer aos trabalhadores uma refeição mais nutritiva que traga benefícios e uma melhor qualidade de saúde.

REFERÊNCIAS

AMORIM, M. M. A.; JUNQUEIRA, R. G.; JOKL, L. Adequação nutricional do almoço self-service de uma empresa de Santa Luzia, MG. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 145-156, jan-fev, 2005.

BRASIL. Portaria Interministerial n. 66, de 28 de agosto de 2006. Altera os parâmetros nutricionais do Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT). **Diário Oficial da União** de 28 de agosto. 2006. Disponível em:< http://www.mte.gov.br/legislação/portarias/2006/ /p_20060825_66.pdf> Acesso em 14 de agosto 2018.

CASTRO, M. B. T.; ANJOS, L. A.; LOURENÇO, P. M. Padrão dietético e estado nutricional de operários de uma empresa metalúrgica do Rio de Janeiro, Brasil. **Caderno Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 4, p. 926-934, jul-ago. 2004.

COSTA, M. C. Práticas alimentares, sobrepeso e perfil lipídico dos trabalhadores de uma indústria petroquímica, Camaçari – Bahia. **Dissertação**. (Programa de Pós-Graduação da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia) – Nutrição, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2000.

FREIXA, D.; CHAVES, G. **Gastronomia no Brasil e no mundo**. Rio de Janeiro: SENAC, 2008.

JAIME, P. C. et al. Fatores associados ao consumo de frutas e hortaliças no Brasil, 2006. **Revista Saúde Pública**, v. 43, n. 2, p. 57-64, 2009.

LEAL, M. L. M.S. **A história da gastronomia**. Rio de Janeiro: SENAC NACIONAL, 2006.

MATTOS, P. F. Avaliação da Adequação do Almoço de uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) ao Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT). **Cadernos UniFOA**. 7.ed. p. 54-59, ago. 2008.

PASQUALOTTO, A. P. Funcionalidade da fibra alimentar em barras de cereais. **Monografia** – Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

PHILIPPI, S. T. **Tabela de composição química dos alimentos**: suporte para decisão nutricional. 3.ed. Barueri, SP: Manole, 2012.

REGGIOLLI. M. R. Planejamento Estratégico, de Cardápios: Para Gestão de Negócios em Alimentação. 2ª edição. Editora: Atheneu. p. 134. 2010.

ROCHA, R.; PAIVA, C. C.; LIPI, M. Avaliação dos cardápios oferecidos aos trabalhadores de empresas da região do grande ABC em relação às exigências nutricionais do Programa de Alimentação do Trabalhador (PAT). **Revista da Associação Brasileira de Nutrição**: anais do XX Congresso Brasileiro de Nutrição 2008.

SARNO, F.; BANDONI, D. H.; JAIME, P. C. Excesso de peso e hipertensão arterial em trabalhadores de empresas beneficiadas pelo Programa de Alimentação do Trabalhador. **Revista Brasileira Epidemiologia**, v. 11, n. 3, p. 453-462, 2008.

SOUSA, F. A.; SILVA, R. C. O.; FERNANDES, C.E. Avaliação nutricional de cardápios em unidades de alimentação e nutrição: adequação ao Programa de Alimentação do Trabalhador. Veredas Favip **- Revista Eletrônica de Ciências**, v. 2, n. 1 e 2, p. 43-50, jan-dez, 2009.

SOUZA, V. L.; MARSI, T. C. O. Importância da ficha técnica em UANs: produção e custos de preparações/refeições. **Journal Health Science Institute**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 248-253, ago. 2015.

TADEU, M. **Otimização de cardápio**. Disponível em:< https://blog.drivetrue.com.br/qual-a-importancia-da-padronizacao-de-pratos-de-restaurante/> Acesso em: 25 de setembro de 2018.

VANIN, M. et al. Adequação nutricional do almoço de uma Unidade de Alimentação e Nutrição de Guarapuava – PR. **Revista Salus**, Paraná, v. 1, n. 1, p. 31-38, 2007.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO DE FÁRMACOS ANTIDEPRESSIVOS COM OS NUTRIENTES

Adiene Silva Araújo
Faculdades Integradas de Patos-FIP. Patos- PB.

Faldrecya de Sousa Queiroz Borges
Faculdades Integradas de Patos-FIP. Patos- PB.

RESUMO: A depressão é um problema de saúde pública, interferindo de modo intenso na vida pessoal, profissional, social e econômica de seus portadores. Os antidepressivos interagem com o cérebro e o corpo humano de maneiras diferentes, devendo ser usado com cautela por apresentar diversos efeitos colaterais e interações com os alimentos. Partindo desse pressuposto, objetiva-se analisar os principais efeitos ocasionados pela interação de antidepressivos com os nutrientes, bem como suas consequências no organismo. Conforme o objetivo, esta pesquisa se caracteriza em explicativa e bibliográfica, ressaltando a atuação dos profissionais de saúde, inclusive do nutricionista, durante o período de tratamento. A partir dos estudos observou-se que a interação dos fármacos antidepressivos com os alimentos apresenta uma importância relevante, devido haver riscos fatais à saúde do paciente tratado com esses fármacos, concluindo que a relação entre antidepressivos e alguns nutrientes leva a redução do efeito do fármaco, interferindo no estado nutricional do paciente.

PALAVRAS-CHAVE: Depressão. Fármacos Antidepressivos. Nutrientes.

ABSTRACT: Depression is a public health problem, interfering in an intense way in the personal, professional, social and economic life of its patients. Antidepressants interact with the brain and human body in different ways and should be used with caution because it has several side effects and interactions with food. Based on this assumption, the objective is to analyze the main effects caused by the interaction of antidepressants with nutrients, as well as their consequences in the body. According to the objective, this research is characterized in explanatory and bibliographical, highlighting the performance of the health professionals, including the nutritionist, during the treatment period. From the studies it was observed that the interaction of antidepressant drugs with food is of relevant importance, since there are fatal risks to the health of the patients treated with these drugs, concluding that the relationship between antidepressants and some nutrients leads to a reduction of the drug effect , triggering even the nutritional status of the patient.

KEYWORDS: Depression. Antidepressant drugs. Nutrients.

1 I INTRODUÇÃO

A depressão é um problema de saúde pública, interferindo de modo decisivo e intenso na vida pessoal, profissional, social e econômica de seus portadores (SILVA, 2003). Trata-se de uma doença que qualquer pessoa pode sofrer, tendo como consequência uma profunda tristeza, baixa autoestima, perda de interesse pela vida e do seu entorno social (LOPEZ; MATHERS, 2006).

Gomez e Venturini (2009) ressaltam que os antidepressivos interagem com o cérebro e corpo humano de maneiras diferentes, devendo ser usado com cautela por apresentar diversos efeitos colaterais e interações com os alimentos.

Pesquisadores informam que a alimentação contribui para ajustar esse desequilíbrio interno. Uma dieta direcionada oferece ao organismo a oportunidade de fabricar essas substâncias, portanto os alimentos influenciam nos níveis dos neurotransmissores, podendo elevá-los ou diminuí-los. Existem fatores antinutricionais envolvidos na depressão, como excesso de proteínas na dieta; inadequado consumo de carboidratos, diminuição da quantidade de serotonina (MORENO; MORENO; SOARES, 2003).

O alimento é indispensável para vida humana, sendo um fator essencial para saúde e tem como objetivo dar sustento ao corpo humano. Assim, como grande parte dos medicamentos são administrados por via oral, que também é a via de ingestão de alimentos, espera-se que possa haver interações entre os alimentos e substâncias químicas provenientes de medicamentos. Adicionalmente, agravando esse quadro, a interação fármaco-alimento raramente é conhecida e lembrada pelos profissionais da saúde durante a prescrição e dispensação de medicamentos (MOURA e REYES, 2004).

A via oral é a principal via de administração de medicamentos. Por este motivo se torna passível a essas interações fármaco-nutriente e nutriente-fármaco. No trato gastrointestinal ocorre a absorção do fármaco e do alimento, com possibilidade de existir competição e redução de absorção dos fármacos, nutrientes ou ambos (MOURA; REYES, 2004).

A interação de medicamento com alimento pode levar a alterações na farmacocinética e na farmacodinâmica, podendo diminuir ou ampliar os efeitos dos fármacos, interferindo em fenômenos como a absorção, distribuição e biotransformação e excreção dos mesmos. Esse fenômeno também pode intervir na farmacocinética dos fármacos implicando em efeitos adversos ou toxicidade ao paciente. Considera-se também como interação, quando um fármaco altera a utilização de um nutriente pelo organismo, mas como esse fenômeno, na maioria dos casos, não é clinicamente relevante, o mesmo não será abordado (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Desta forma, objetiva-se com o referido trabalho analisar os principais efeitos ocasionados pela interação de antidepressivos com os nutrientes, bem como suas consequências no organismo.

2 I METODOLOGIA

Conforme o objetivo explicitado, esta pesquisa se caracteriza em explicativa e bibliográfica, através de estudos sobre a interação dos antidepressivos na alimentação do paciente com depressão, bem como a atuação dos profissionais de saúde, inclusive do nutricionista, durante o período de tratamento.

A técnica utilizada remete-se a análise de periódicos indexados na base SciElo, LILACS, MEDLINE e da Organização Mundial da Saúde (OMS). Utilizou-se como descritores: Depressão; Fármacos antidepressivos e nutrientes.

Para serem incluídos neste estudo, preconiza-se artigos das bases citadas anteriormente, manuais do Ministério da Saúde e teses publicadas nos últimos 15 anos.

São excluídos do trabalho reportagens de revistas, sites e jornais, além de trabalhos que não correspondam ao intervalo de tempo preconizado.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos estudos observou-se que a interação dos fármacos antidepressivos com os alimentos apresenta uma importância relevante, devido haver riscos fatais a saúde do paciente tratado com esses fármacos, visto que são classificados em 4 grupos: Antidepressivos Tricíclicos, Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina (ISRS), Inibidores da Monoaminooxidase (IMAOs) e Antidepressivos Atípicos (BARROS; BARROS, 2010).

A administração dos antidepressivos tricíclicos (ADTs) deve ser feita longe de refeições ricas em fibra, pois estas diminuem significativamente sua absorção. Estudos mostram que a fluoxetina reduz a absorção de alimentos que contém aminoácidos neutros em até 30%. O óleo de eucalipto apresenta dificuldade de raciocínio e alterações no sistema nervoso, onde esses sintomas poderão ser intensificados quando for administrada conjuntamente com medicamentos que atuam no sistema nervoso central, como alguns antidepressivos (SILVA, 2006).

Porto (2011) salienta que a interação mais importante está relacionada entre os IMAOs e alimentos contendo tiramina onde provoca aumento súbito da pressão arterial, e que estão presentes em vários tipos de alimentos como queijos maturados, frutas, lacticínios, peixes conservados e bebidas alcoólicas.

Antidepressivos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs), também estão relacionados a alterações de peso, como destaca Schweigert (2008): a sertralina está associada a uma discreta perda de peso no início do tratamento; a fluoxetina parece ser mais potente na inibição do apetite, com maior perda de peso no início do tratamento; a paroxetina, ao contrário, foi associada a ganho de peso, o que também foi relatado com o citalopram.

Apesar de os antidepressivos mostrarem-se eficazes e seguros, deve-se ter cautela quanto ao uso destes medicamentos, pois esses fármacos podem causar efeitos colaterais em diversos sistemas orgânicos. Alguns ADTs como amitriptilina, podem causar sonolência e sedação exagerada, e com frequência confusão mental motivada por doses excessivas. O uso dos ISRSs está relacionado a distúrbios gastrointestinais, cefaleia, agitação, pânico, insônia e disfunções sexuais, além de sintomas extrapiramidais como distonia, ansiedade e tremores (FLECK, et al, 2009).

Além dos efeitos adversos a que usuários de antidepressivos estão suscetíveis, estes pacientes geralmente são polimedicados, ou seja, usam vários medicamentos simultaneamente, estando mais sujeitos a interações medicamentosas (MELGACO; CARRERA; NASCIMENTO, 2011). A interação medicamentosa é uma das variáveis que afeta o resultado terapêutico e quanto maior o número de medicamentos que o paciente faz uso, maior a probabilidade de ocorrência de interações. Estima-se que para usuários de 2 a 3 medicamentos o percentual seja de 3 a 5%, nos que utilizam de 10 ou mais medicamentos, eleva-se para 20% (BARROS; BARROS, 2010).

Antunes e Prete (2014) respaldam que a atuação dos diversos profissionais da saúde, inclusive do farmacêutico clínico e do nutricionista permite identificar possíveis interações entre fármacos e nutrientes presentes na farmacoterapia e dieta dos pacientes, realizando, em conjunto aos prescritores, as intervenções necessárias por intermédio do manejo adequado da prescrição médica ou nutricional, visto que cada tipo de paciente utiliza um grupo diferente de medicamentos e uma dieta variada, resultando em muitas possibilidades de interações.

4 I CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados constata-se a necessidade de analisar as principais interações existentes entre os fármacos antidepressivos e os nutrientes, onde pode observar inúmeros efeitos negativos, dentre eles, o aumento do risco de mortalidade, sendo notável a importância de um acompanhamento nutricional adequado. Constatou-se também que a relação entre antidepressivos e alguns nutrientes leva a redução do efeito do fármaco, desencadeando até no estado nutricional do paciente.

REFERÊNCIAS

ANTUNES AO, Lo PRETE AC. O papel da atenção farmacêutica frente às interações fármaco-nutriente. **Infarma Ciênc Farmacêuticas.** 2014; 26(4): 208-14.

BARROS E, BARROS HMT. **Medicamentos na prática clínica**. Porto Alegre: Artmed; 2010.

FLECK MPA, BERLIM, MT, LAFER B, SOUGEY EB, DEL PORTO JA, BRASIL MA, JURUENA MF, HETEM LA. Revisão das diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento da depressão (versão integral). **Rev Bras Psiquiatr**. 2009; 31(1): 7-17.

GOMEZ, R. VENTURINI, C.D. **Interação entre alimentos e medicamentos**. Porto Alegre: Suliani Letra & Vida, 2009.

LOPEZ, A.D. MATHERS, C.D. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. **Lancet.** 2006.

MELGACO TB, CARRERA JS, NASCIMENTO DEB, MAIA CSF. **Polifarmácia e ocorrências de possíveis interações medicamentosas.** Belém, PA: Universidade Federal do Pará; 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). Secretaria de Ciência, tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Formulário terapêutico nacional 2010: Rename 2010.** 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2011.

MORENO, R. A. MORENO, D. H. SOARES, M. B. M. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Rev Bras Psiquiatria**. Depressão - vol. 21, 2003.

MOURA, M. R. L. REYES, F.G. Interação fármaco-nutriente: uma revisão. **Rev. Nutr.** [online]. 2004, vol. 15, nº2, pp.223-238.

SCHWEIGERT ID, PLESTCH MU, DALLEPIANNE LB. Interação medicamento-nutriente na prática clínica. **Rev Bras Nutr Clín**. 2008; 23(1): 72-7.

SILVA, M.C.F. FUREGATO, A.R.F. COSTA JUNIOR, M.L. Depressão: pontos de vista e conhecimento de enfermeiros da rede básica de saúde. **Revista Latino-Am Enfermagem.** 11: 7-13, 2003.

SILVA P. **Farmacologia.** 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara.Koogan; 2006.

PORTO CC. **Interação medicamentosa**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2011.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE BACTERIAS AUTOCTONES COM POTENCIAL APLICAÇÃO EM PRODUTOS LÁCTEOS FERMENTADOS

Marly Sayuri Katsuda
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) Câmpus Londrina
Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos Londrina/Francisco Beltrão
Londrina - Paraná.

Amanda Giazzi
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) Câmpus Londrina
Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos Londrina/Francisco Beltrão
Londrina - Paraná.

Priscila Lima Magarotto de Paula
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) Câmpus Londrina
Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos Londrina/Francisco Beltrão
Londrina - Paraná.

Natara Fávaro Tosoni
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) Câmpus Londrina
Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos Medianeira/Campo Mourão
Londrina - Paraná.

Alane Tatiana Pereira Moralez
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) Câmpus Londrina
Londrina - Paraná.

Luciana Furlaneto-Maia
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) Câmpus Londrina
Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos Medianeira/Campo Mourão
Londrina - Paraná.

RESUMO: As bactérias ácido láticas (BAL) são importantes na produção de queijo e leite fermentados contribuindo com a formação do sabor e textura dos queijos. O presente estudo consistiu no isolamento de BAL a partir de amostras de queijos Minas Frescal produzidos por produtores rurais ou nas agroindústrias na região norte do estado do Paraná-Brasil, bem como de amostras de leite crú utilizado na produção de queijos artesanais. A identificação das BAL´s consistiu na caracterização fenotípica e identificação genotípica. A avaliação fenotípica envolveu o estudo das bactérias produzirem gás a partir da glicose, coloração de gram, atividade da catalase, avaliação do crescimento em: temperaturas de 10 e 45ºC, solução de cloreto de sódio a 18% e em pH 4,4 e 4,5. Entre 41 colônias com características distintas, 14 foram identificadas como BAL. Foram identificados os gêneros *Enterococcus, Lactococcus, Lactobacillus, Streptococcus* e *Pediococcus* através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase. No total, 57,14% dos isolados foram identificados como pertencente ao gênero *Enterococcus*, seguido de 28,57% do gênero *Lactococcus* e *Lactobacillus* e 14,29% de *Streptococcus* e *Pediococcus*. Neste estudo

não foi observado a predominância de *Lactobacillus* provavelmente pela característica não competidora de culturas autóctones como o *Enterococcus*.
PALAVRAS-CHAVE: Queijo Minas frescal. Queijo artesanal. Avaliação fenotípica. Identificação genotípica.

ABSTRACT: Lactic acid bacteria (LAB) are important in the production of fermented cheese and milk, contributing to the formation of flavor and texture of cheeses. The present study consisted in the isolation of LAB from samples of Minas Frescal cheeses produced by farmers or agroindustries in the northern region of the Paraná state in Brazil, as well as samples of raw milk used in the production of artisanal cheeses. The identification of LAB's consisted of phenotypic characterization and genotypic identification. The phenotypic evaluation involved the study of bacteria producing gas from glucose, gram staining, catalase activity, evaluation of growth in: temperature of 10 and 45ºC, 18% sodium chloride solution and at pH 4,4 and 4,5. Among 41 colonies with distinct characteristics, 14 were identified as LAB. The genera *Enterococcus, Lactococcus, Lactobacillus, Streptococcus* and *Pediococcus* were identified by the Polymerase Chain Reaction technique. In total, 57,14% of the isolates were identified as belonging to the genus Enterococcus, followed by 28,57% of the genus *Lactococcus* and *Lactobacillus* and 14,29% of *Streptococcus* and *Pediococcus*. In this study the predominance of *Lactobacillus* probably was not observed by the non-competing characteristic of autochthonous cultures such as *Enterococcus*.
KEYWORDS: Minas frescal cheese. Artisanal cheese. Phenotypic evaluation. Genotypic identification.

1 I INTRODUÇÃO

Queijos frescais são importantes fontes de diversidade de bactérias ácido láticas (BAL) que variam de acordo com cada região de produção (COGAN *et al.*, 1997). Essas BAL's desempenham duas funções principais: a de culturas iniciadoras, fermentando a glicose e produzindo ácido lático, ou como culturas adjuntas que são responsáveis pelo processo de maturação do produto (SETTANI & MOSCHETTI, 2010). Estas bactérias são imprescindíveis, para o desenvolvimento de características peculiares do produto, como sabor e aroma, dando uma característica de regionalidade (CARR *et al.*, 2002). Com isso, diversos estudos, apresentados a seguir, vêm sendo realizados em várias regiões do mundo com o intuito de identificar a microbiota lática presente em queijos artesanais.

Bactérias ácido-láticas (BAL's) constituem um grupo de microrganismos gram-positivos, morfologicamente heterogêneo de cocos e bacilos, que podem estar dispostos em cadeia ou individualmente, Gram positivas, não esporuladas, catalase negativas e anaeróbicas facultativas. São essencialmente mesófilas, porém, são capazes de crescer num intervalo de temperaturas de 5 a 45ºC (JAY, 2005). Produzem ácido láctico

como o principal produto final da fermentação a partir de carboidratos simples, estando envolvidas na acidificação dos produtos alimentares destinados à humanos e animais. Têm a capacidade de crescer em pH de 3,8 e produzem grande número de enzimas glicolíticas, lipolíticas e proteolíticas, que transformam os nutrientes fundamentais do leite e do queijo em compostos com propriedades sensoriais desejáveis (SILVA, 2010).

Pertencem ao grupo de BAL os microrganismos dos gêneros *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacilus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* e *Weissella.* Estes microrganismos podem ser divididos em homofermentativos, se produzirem somente o ácido lático ou em heterofermentativo se produzirem ácido lático e outros compostos, como o dióxido de carbono, o ácido acético e o álcool (SILVA *et al*, 2016). Em diferentes variedades de queijos, lactobacilos homofermentativos como *Lactobacillus casei, L. plantarum* e *L. curvatus* e os heterofermentativos *L. brevis* são classes dominantes de BAL não *starter*, todavia, cepas de *Enterococcus faecalis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* são comumente utilizados como cultura *starter* na indústria de alimentos. Cepas autóctones tem sido usada como cultura iniciadora por produzirem mais enzimas conversoras de aminoácidos que as culturas comerciais e, consequentemente, desenvolvem novos sabores aos queijos (SILVA, 2010).

Muitas das identificações desses microrganismos se dão por testes fenotípicos, contudo técnicas moleculares têm sido utilizadas para maior precisão na caracterização de BALs em alimentos. Segundo Sant'anna (2015), as principais técnicas para identificação de BAL são baseadas em métodos moleculares, que compreendem amplificação e sequenciamento de sequências gênica altamente conservadas (região intergênica espaçadora 16S).

Deste modo o presente trabalho tem a finalidade de caracterizar fenotipicamente e identificar genotipicamente as cepas de bactérias ácido láticas presentes em queijos frescais artesanais e industrializados em agroindústrias na região norte no estado do Paraná.

2 I MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Isolamento de Bactérias Ácido Láticas (BAL)

Amostras de queijos frescais produzidos na região norte do estado do Paraná no Brasil foram obtidas de feiras livres e supermercados. Também foi incluído neste estudo duas amostras de leite cru, de produtores da mesma região. O isolamento de BAL foi realizado conforme o protocolo descrito por Harrigan (1998), com modificações. Colônias com características distintas foram analisadas quanto a características fenotípicas e genotípicas.

2.2. Caracterização fenotípica

Os isolados que apresentaram características coloniais distintas, foram selecionados e submetidos aos testes bioquímicos de identificação, baseado no fluxograma (Figura 1) descrito por Schillinger & Lücke (1989).

A avaliação da produção de gás a partir da glicose foi realizada em caldo MRS suplementado com 5% de glicose e um tubo de Durhan invertido. Os tubos foram incubados a 30 °C por 48 horas. A produção de gás foi confirmada pela presença de bolhas no interior do tubo de Durhan (KALSCHNE *et al.*, 2015). Cada isolado foi avaliado quanto ao seu formato celular e arranjo, cada colônia foi submetida à reação morfotintorial pelo método de gram e atividade da catalase.

A avaliação do crescimento em diferentes temperaturas consistiu em inocular e incubar as bactérias a 10°C por sete dias e a 45°C por 48 horas (KALSCHNE *et al.*, 2015).

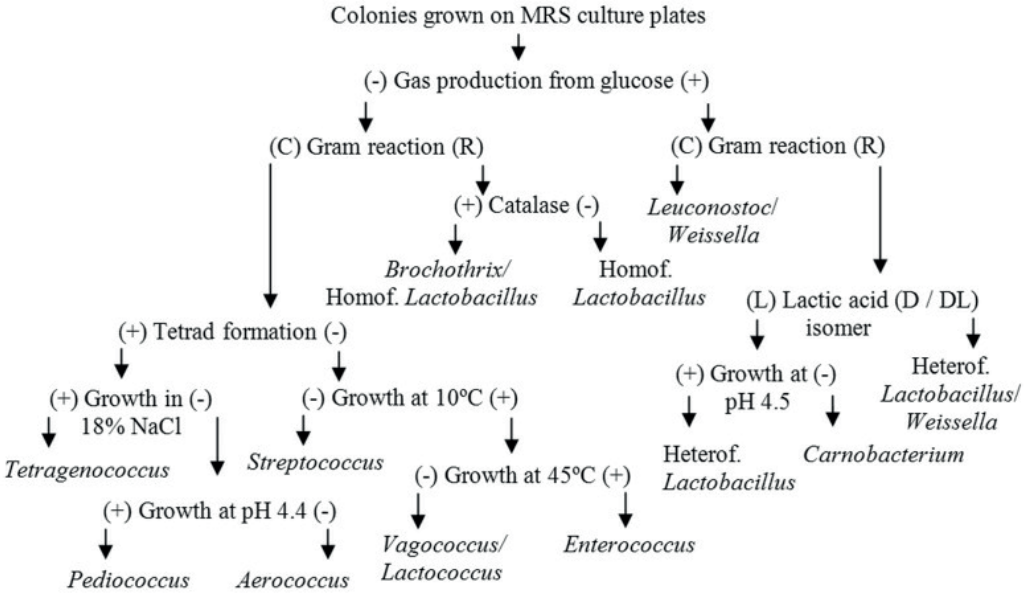

Figura 1. Fluxograma para identificação das características fenotípicas para o gênero de bactérias ácido láticas. C: cocos; R: bacilos; (-) negativo; (+) positivo; L, D e LD: Isômeros óticos (Schillinger ELücke (1989).

O estudo do crescimento das bactérias em 18% de cloreto de sódio foi realizado por 48 horas a 30°C. O crescimento das bactérias em pH 4,4 ocorreu em caldo MRS e incubados por 48 horas a 30°C (KALSCHNE *et al.*, 2015).

2.3. Extração de DNA e Identificação genotípica

Os isolados com características sugestivas de BALs provenientes da identificação bioquímica foram submetidos à identificação molecular. Para tanto, o DNA total dos isolados de BAL foi extraído segundo metodologia descrita por Hoffman & Winston (1987), com modificações. Colônias cultivadas em caldo MRS foram ressuspendidas em 100 μL de tampão Tris-EDTA (TE), seguido de 100μL de fenol:clorofórmio:álcool-

isoamílico (25:24:1) e 0,3g de pérolas de vidro, para lise celular. A suspensão foi agitada em Vortex (KMC-1300V) por três minutos e centrifugada a 10.000 rpm por 7 minutos. O sobrenadante foi removido e transferido para outro tubo e foi adicionado um volume de etanol 96%, para precipitação do DNA, e centrifugado a 10.000 rpm por 5 minutos. A fase líquida foi descartada e o DNA foi eluído em 50μL de tampão TE.

O método de identificação baseou-se na análise da região 16s do DNA ribossomal amplificado por PCR de acordo com Lane (1991) e Kullen et al. (2000). A reação de PCR foi realizada para um volume final de 20 μL, contendo 5 μL de tampão 10X, 1 μL de dNTP 0,05 mM, 3 μL de $MgCl^2$ 1,5 mM, 1 μL de cada oligonucleotideo iniciador (PLB16 5'- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; MLB16 5'- -GGCTGCTGGCACGTAGTTAG-3'), 0,25 μL de taq DNA polimerase 1,25 U (Invitrogen) e 1 μL de DNA total. A reação foi realizada em um termociclador com as seguintes condições: desnaturação inicial a 94 °C por dois minutos e 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 55 °C por 30 segundos, extensão a 72 °C por um minuto, seguidos de extensão final a 72 °C por 10 minutos.

Os produtos de amplificação foram corados com brimeto de etídeo e revelados por eletroforese em gel de agarose a 1 % em tampão Tris-Borato-EDTA (TBE) 0,5 % a 120 V, e o tamanho do produto amplificado foi comparado ao marcador de peso molecular 1Kb plus, observados em um sistema de captação de imagem (UVP). Os amplicons foram purificados em kit Wizard Promega e encaminhados para o sequenciamento (ACTGene Análises Moleculares). As sequências obtidas foram comparadas com os dados armazenados no Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia (NCBI) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast) utilizando a Ferramenta básica de pesquisa de alinhamento local (BLAST).

2.4 Construção do dendrograma de similaridade

As sequências gênicas provenientes do sequenciamento foram comparadas quanto à similaridade pelo coeficiente de Jaccard. Os isolados foram agrupados pelo método UPGMA (averagelinkageclustering) e representados graficamente por um dendrograma (NTSYS-pc, versão 2.1t).

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 41 colônias com características distintas foram isoladas das amostras de queijos e leite. Com base nas características de crescimento (KALSCHNE *et al*, 2015), 14 destas colônias foram agrupadas como pertencente às BAL's (Tabela 1).

Código Isolado	Gram	Catala-se	Glicose 5%	NaCl 18%	pH 4,4	pH 4,5	Cresc. 10ºC	Cresc. 45ºC
Bal1	Estrepto +	-	-	-	-	+	+	+
Bal2	Estrepto +	-	-	-	-	+	+	+
Bal3	Estrepto +	-	-	-	-	+	+	-
Bal4	Estrepto +	-	-	-	-	+	+	+
Bal5	Estrepto +	-	-	-	-	+	+	-
Bal6	Estrepto +	-	-	-	+	+	+	+
Bal7	Bacilo +	-	-	+	-	+	+	+
Bal8	Bacilo +	-	-	-	+	+	+	+
Bal9	Estrepto +	-	-	-	-	+	+	+
Bal10	Estrepto +	-	-	+	+	+	+	+
Bal11	Estrepto +	-	-	-	+	+	+	-
Bal12	Estrepto +	-	-	-	+	+	+	-
Bal13	Tetrade +	-	-	-	+	-	+	-
Bal14	Estrepto +	-	-	-	-	-	+	-

Tabela 1 – Características de crescimento dos isolados provenientes de queijos e leite cru

- : Negativa; + : Positiva

Nenhum dos isolados foi capaz de fermentar a glicose com formação de gás, excluindo a possibilidade de identificar *Lactobacillus* heterofermentativos e não apresentou atividade catalase.

De posse dos dados fenotípicos, a genotipagem confirmou a presença de diversos gêneros de BAL's presentes em queijo frescal e leite cru (Tabela 2).

No total, 42,80% dos isolados foram identificados como pertencente ao gênero *Enterococcus*, seguido de 14% do gênero *Lactococcus* e *Lactobacillus* e 7% de *Streptococcus* e *Pediococcus* (Figura 2 A).

Observamos uma prevalência do gênero *Enterococcus*, corroborando com o trabalho desenvolvido por Dias (2014) e Freitas (2011). Estes autores também revelam que a presença deste gênero está relacionada com o manejo animal, temperatura ambiente, entre outros fatores.

De acordo com Pogačić *et al.* (2013) essas espécies de BAL representam uma pequena parte da população em ambientes com grande diversidade microbiana. Contudo, esses resultados discordaram com os resultados de nosso estudo, mostrando assim que a diversidade dos isolados dependem muito dos fatores de produção e manejo animal.

Código do Isolado	Fonte	Gênero/Espécie	Número de acesso ao Genbank (ID)
Bal1	Queijo	*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*	JF756231.1
Bal2	Queijo	*Enterococcus faecalis*	KM257699.1
Bal3	Queijo	*Enterococcus* sp.	FJ513850.1
Bal4	Queijo	*Lactococcus* lactis	KU568489.1
Bal5	Queijo	*Enterococcus* sp.	JF718432.1
Bal6	Queijo	*Streptococcus macedonicus*	KM264319.1
Bal7	Queijo	*Lactobacillus rhamnosus*	KR054686.1
Bal8	Queijo	*Lactobacillus rhamnosus*	NR_113332.1
Bal9	Queijo	*Enterococcus durans*	NR_113257.1
Bal10	Queijo	*Enterococcus faecium*	KJ396073.1
Bal11	Queijo	*Enterococcus durans*	NR_113257.1
Bal12	Leite	*Enterococcus* sp.	FJ513848.1
Bal13	Queijo	*Pediococcus pentosaceus*	KP189228.1
Bal14	Queijo	*Enterococcus* sp.	AB675122.1

Tabela 2. Identificação genotípica baseada na sequência 16S rDNA de isolados de BAL's provenientes de amostras de queijos e leite.

Neste estudo obtivemos porcentuais distintos dos principais gêneros bacterianos que constituem o grupo das BAL's (Figura 2).

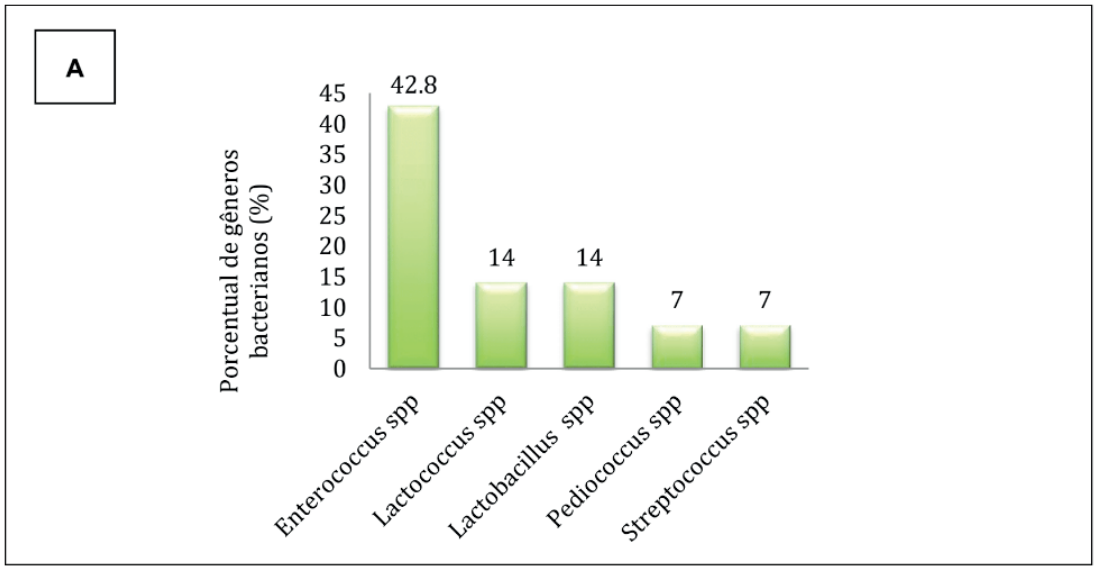

Figura 2 – Distribuição dos gêneros que compreendem o grupo das BAL's nos isolados provenientes de queijo frescal e leite cru (A); dendograma baseado no agrupamento genético das sequências 16S rDNA (B).

Espécies do gênero *Enterococcus* podem produzir compostos aromáticos voláteis, além de apresentar atividade lipolítica e proteolítica que promovem diversas características sensoriais positivas em produtos fermentados (MALLESHA *et al.*, 2010). *Lactobacillus*, e *Pediococcus* atuam em estágios de maturação mais avançados, uma vez que são considerados como BAL não iniciadoras (Non starter LAB – NSLAB).

Ainda, bactérias do gênero *Lactococcus* também produzem importantes bacteriocinas, e, dentre as subespécies de valor tecnológico, o *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* confere melhor sabor ao queijo, enquanto o *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* proporciona sabor e aroma de manteiga, decorrente da produção de diacetil (FOX *et al*., 2000). Alguns autores relataram a presença de *Lactococcus* e *Lactobacillus* em queijos frescais artesanais, porém em predominância menor quando comparado com outros gêneros, corroborando com o presente estudo (BEGOVIC *et al*., 2011, CARVALHO, 2007, DIAS, 2014, FOX *et al*., 2000, SIEZEN & VLIEG, 2011, SILVA *et al*., 2016, RESENDE *et al*., 2011, CÂMARA, 2012 e NIKOLIC *et al*., 2012). *Lactobacillus* spp. são essenciais para o desenvolvimento das características sensoriais típicas em queijos no decorrer da maturação, além de apresentarem propriedades probióticas que conferem benefícios à saúde do consumidor (SILVA, 2016).

Outros gêneros bacterianos, não comuns em queijos, também foram encontrados em nosso estudo, como *S. macedonicus* e *Pediococcus.* Estes microrganismos apresentam características importantes no desenvolvimento do produto, como potencial de acidificação e proteólise (FOULQUIÉ *et al*, 2008) e potencial probiótico (RIBEIRO, 2012), respectivamente. Porém, são poucas as referências que identificaram significativamente estes gêneros em amostras de leites e queijos artesanais.

Os dados filogenéticos nos revelaram diversidade considerável pela quantidade de isolados analisados. Os isolados Bal11 e 9 apresentaram diferenças coloniais bem evidentes, no entanto, trata-se de clones, evidenciado pela análise do agrupamento genético mostrado no dendrograma e confirmado pelo código de acesso no *genebank* do NCBI. Ainda, o isolado Bal 3 que não teve sua identificação determinada no *genebank*, foi agrupado no mesmo *cluster* de de *E. durans*. O dendrograma também mostra que os isolados identificados somente ao nível de gênero (Bal 5 e 12) se agruparam num mesmo *cluster*, mostrando correlação genética entre os isolados.

Esses resultados indicam que o soro fermento endógeno é importante por trazer culturas iniciadoras e de diversidade microbiana característica de cada região. Entretanto, são necessários estudos mais aprofundados envolvendo a dinâmica microbiana desses queijos.

4 I CONCLUSÕES

Embora neste estudo tenhamos avaliado um pequeno número de isolados, identificamos uma diversidade bacteriana bastante interessante, que permitirá ampliar espécies de interesse tecnológico visando aplicações desses microrganismos voltados para o desenvolvimento de produto lácteo com características regionais.

AGRADECIMENTOS

Os nossos agradecimentos à Fundação Araucária pelo suporte financeiro e à UTFPR Campus Londrina pelo financiamento de bolsas de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

BEGOVIC, J., BRANDSMA, J. B., JOVCIC, B., TOLINACKI, M., VELJOVIC, K., MEIJER, W. C., TOPISIROVIC, L. Analysis of dominat lactic acid bacteria from artisanal raw milk cheeses produced on the Mountain Stara Planina, **Archives of Biological Science Belgrade**, v. 63, n. 1, p.11-20, 2011.

CÂMARA, S. P. A. **Estudo do potencial bioactivo e tecnológico de bactérias do ácido láctico isoladas de queijo do pico artesanal.** 2012. 83 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar). Universidade do Açores. Angra do Heroísmo.

CARR, F. J., CHILL, D., MAIDA, N. The acid lactic bacteria: A literature survey. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 28, n. 4, p. 281-370, 2002.

COGAN, T. M., BARBOSA, M., BEUVIER, E. Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy Products. **Journal Dairy Research,** v. 64, n.3, p. 409-421, 1997.

DIAS, G. M. P. **Potencial tecnológico de bactérias ácido láticas isoladas de queijo de Coalho artesanal produzido no município de Venturosa – Pernambuco**. 2014. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pernambuco. Recife.

FOULQUIÉ M. M. R., SARANTINOPOULOS, P., TSAKALIDOU, E., DE VUYST, L. The role and application of enterococci in food and health. **International Journal of Food Microbiology**, v. 106, n. 1, p. 1-24, 2006.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M. **Fundamentals of cheese science**. Maryland: Aspen Publishers, 2000, 544 p.

FREITAS, W. C. **Aspectos higiênico sanitários, físico-químicos e microbiota lática de leite cru, queijo de coalho e soro de leite produzidos no Estado da Paraíba**. 2011. 89 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Tecnologia. Universidade Federal do Paraíba. João Pessoa.

HARRIGAN, W. F. **Laboratory Methods in Food Microbiology**, 3rd edition, San Diego: Academic Press, 1998.

HOFFMAN, C. S., WINSTON, F. A ten-minute DNA preparation from yeast efficiently releases autonomous plasmids for transformation of *Escherichia coli.* **Gene**. v. 57, issue 2-3, p. 267-272, 1987.

JAY, J. M. **Modern Food Microbiology**. 7th edition. New York: Springer, 2005.

KALSCHNE, D. L., WOMER, R., MATTANA, A., SARMENTO, C. M. P., COLLA, L. M. E. Characterization of the spoilage lactic acid bacteria in “sliced vacuum-packed cooked ham. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 173-181, 2015.

MALLESHA · R SHYLAJA · D SELVAKUMAR · J H JAGANNATH. Isolation and identification of lactic acid bacteria from raw and fermented products and their antibacterial activity. **Recent Research in Science and Technology**, v. 2, n. 6, p. 42-46, 2010.

NIKOLIC M, JOVCIC B, KOJIC M, TOPISIROVIC L. Characterization of the exopolysaccharides (EPS)-producing *Lactobacillus paraplantarum* BGCG11 and its non-EPS producing derivative strains

as potential probiotics. **International Journal Food Microbiology**, v. 158, n. 2, p.155–162, 2012.

POGAČIĆ, T., MANCINI, A., SANTARELLI, M., BOTTARI, B.,LAZZI, C., NEVIANI, E.,GATTI, M. Diversity and dynamic of lactic acid bacteria strains during aging of a long ripened hard cheese produced from raw milk and undefined natural starter. ***Food Microbiology***, v. 36, n. 2, p. 207-215, 2013.

PRICHULA, J., PEREIRA, R. I., WACHHOLZ, G. R., CARDOSO, L. A., TOLFO, N. C. C., SANTESTEVAN, N. A. Resistance to antimicrobial agents among enterococci isolated from fecal samples of wild marine species in the southern coast of Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 105, n. 1, p. 51-57, 2016.

PRICHULA, J., CAMPOS, F. S., PEREIRA, R. I., CARDOSO, L. A., WACHHOLZ, G. R., PIETA, L., MARIOT, R. F., DE MOURA, T. M., TAVARES, M., D'AZEVEDO, P. A., FRAZZON, J., FRAZZON, A. P. Complete Genome Sequence of *Enterococcus faecalis* Strain P8-1 isolated from wild magellanic penguin (*spheniscus magellanicus*) feces on the south coast of Brazil. **Genome Announc,** v. 4, n.1, 2016. pii: e01531-15. doi: 10.1128/genomeA.01531-15.

RESENDE, M. F. S., COSTA, H. H. S., ANDRADE, E. H. P., ACURCIO, L. B., DRUMMOND, A. F., CUNHA, A. F., NUNES, A. C., MOREIRA, J. L. S., PENNA, C. F. A. M., SOUZA, M. R. Queijo de minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude das queijarias nas populações de bactérias ácido lácticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v. 63, n. 6, p. 1567-1573, 2011.

SANT'ANNA, F. M. ***Lactobacillus* e *Pediococcus* silagem, água, leite, soro fermento endógeno e queijo Minas artesanal da região de Campo das Vertentes: isolamento, identificação molecular, avaliações *in vitro e in vivo* do potencial probiótico.** 2015. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

SCHILLINGER, U.; LÜCKE, F. K. Identification of lactobacilli from meat and meat products. **Food Microbiology**, v. 4, n. 3, p. 199–208, 1989.

SIEZEN, R. J., VLIEG, J. ET VAN H. (2011). Genomic diversity and versatility of *Lactobacillus plantarum*, a natural metabolic engineer. **Microbiology Cell Fact**, v. 10, Suppl. 1, S3, 2011.

SETTANNI, L.; MOSCHETTI, G. Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. **Food Microbiology**, v. 27, n. 6, p. 691-697, 2010.

SILVA, L. F. **Identificação e caracterização da microbiota lática isolada de queijo Mussarela de búfala.** 2010. 153 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto.

SILVA, J. G. **Identificação molecular de bactérias ácido láticas e propriedades probióticas** *in vitro de Lactobacillus spp.* **isolados de queijo Minas Artesanal de Araxá, Minas Gerais.** 2016. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte-MG.

RIBEIRO, M. C. O. **Caracterização do *Pediococcus acidilactici b14* quanto às propriedades probióticas e sua associação com *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 *com aplicação em sobremesa com soja aerada potencialmente simbiótica*.** 2012. 206 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) – Setor de Tecnologia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL NUTRICIONAL E BIOATIVO DE CULTIVARES DE GOIABA PRODUZIDOS NO RIO DE JANEIRO

Mariana Gonçalves Corrêa
Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ.
Núcleo de Bioquímica da Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Laboratório de Alimentos Funcionais e Biotecnologia, Rio de Janeiro, Brasil.

Jessica Soldani Couto
Núcleo de Bioquímica da Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Laboratório de Alimentos Funcionais e Biotecnologia, Rio de Janeiro, Brasil.

Anderson Junger Teodoro
Núcleo de Bioquímica da Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Laboratório de Alimentos Funcionais e Biotecnologia, Rio de Janeiro, Brasil.

RESUMO: O câncer de mama é a neoplasia mais comum entre as mulheres, sendo a causa mais frequente de morte associada ao câncer em mulheres no mundo. Esta é uma doença complexa causada por um acúmulo progressivo de mutações genéticas múltiplas, combinada a outros fatores, sendo de extrema importância a melhoria nos protocolos de tratamento e prevenção. A utilização de alimentos funcionais e compostos quimiopreventivos, parece contribuir muito neste processo, atuando como mecanismo de ação antioxidante, anti-inflamatória, anti-hormonal e antiangiogênica. A goiaba apresenta elevado potencial funcional relacionado a pigmentos que estão envolvidos em processos de prevenção ao câncer por possuírem atividade antioxidante. O objetivo do trabalho foi a avaliação do efeito dos extratos de cultivares de goiaba (Pedro Sato, Hitígio e Tsumori) sobre a proliferação celular em diferentes linhagens cancerígenas humanas de mama em diferentes tempos de incubação. Na avaliação da ação antioxidante *in vitro*, o cultivar Pedro Sato (PS) apresentou a maior atividade com a solução extratora acetona 70%. Após 48 horas de tratamento, todos os extratos dos cultivares de goiaba promoveram redução da viabilidade celular da linhagem MDA-MB-235. Na linhagem MCF-7 após 24 de tratamento, os cultivares PS e HI foram os extratos mais eficazes..Os dados deste trabalho indicam um efeito-antiproliferativo dos extratos dos cultivares de goiaba sobre células de adenocarcinoma de mama.

PALAVRAS-CHAVE: Goiaba. Câncer de mama. Antioxidante. Compostos bioativos.

ABSTRACT: The breast cancer is the most common neoplastic among women and the most lethal for females, being the most frequent cause of cancer related death in women worldwide.This is a complex disease caused by a progressive accumulation of multiple genetic mutations, associate with other factors, it is extremely important to improve treatment protocols and

prevention. The use of functional foods and chemopreventive compounds, seems to contribute a lot in this process, acting for antioxidant, anti-inflammatory, anti-angiogenic and hormonal mechanism. The guava has a high potential functional related to pigments are involved in processes of cancer prevention by having antioxidant activity.In this sense, the objective is to obtain and evaluate the effect of guava extracts (Pedro Sato, Hitígio e Tsumori) on proliferation cell in different human breast cancer lines at different incubation times. The study ofin vitro antioxidante action demonstrate higher activitie of Pedro Sato (PS) cultivar with the extraction solution of acetone 70%. After 48 hours of treatment, all extracts from guava cultivars promoted reduction of MDA-MB-235 cell viability. Data from this study indicate a antiproliferative effect of extracts of guava cultivars on breast adenocarcinoma cells.
KEYWORDS: Guava. Breast cancer. Antioxidant. Bioactive compounds.

1 I INTRODUÇÃO

A Goiaba é originária da América Tropical, e difundiu-se para todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo. É uma planta da família Mirtáceas, do gênero *Psidium*, sendo a *PsidiumGuajava L.* a espécie mais conhecida no Brasil (Manica *et al.,* 2000). Sua produção em escala mundial no país teve início na década de 70, quando grandes áreas tecnificadas foram implantadas,com produção direcionada para o mercado nacional e internacional, na forma *in natura*, industrializada (doces e sucos) e desidratada (Choudhury *et al*., 2001).

Gonzaga Neto *et al.,* (1994) relatam que apesar de existir vários tipos de goiabeiras com potencial para exploração econômica, a espécie *PsidiumGuajava* tem grande interesse comercial. Existem plantios comerciais de goiabeiras em praticamente todas as regiões brasileiras, com destaque para os estados de São Paulo, Pernambuco e Bahia.

No Rio de Janeiro, a cidade de Cachoeira de Macacu é o maior produtor de doce do Goiaba de Mesa e o segundo maior do Brasil. A mesma região possui 3 tipos de cultivares de Goiaba (Pedro Sato, Hitígio e Tsumori), cerca de seis mil toneladas de goiaba são plantadas anualmente em uma área de 200 hectares (IBQH, *et al.,* 2011).

No Brasil, embora os trabalhos relacionados à seleção de plantas de goiabeira tenham sido realizados (Instituto Agronômico e Embrapa), as principais variedades produtoras de frutos destinados ao consumo com fruta fresca, sugiram de trabalhos desenvolvidos por produtores de origem japonesa, que, pela seleção realizada em seus pomares, obtiveram plantas, cujo frutos apresentavam qualidades adequadas à comercialização. Essa seleção realizada pelos produtores propiciou o surgimento de cultivares importantes como a Kumagai, Ogawa, Pedro Sato e Hitigio.

Dentre as frutas tropicais brasileiras, a goiaba ocupa lugar de destaque, não só pelo seu aroma e sabor, como também pelo seu valor nutricional, o que coloca o Brasil

na posição de maior produtor de goiabas vermelhas. O consumo de goiaba in natura é considerado pequeno no Brasil, entretanto, o fruto constitui-se em matéria-prima para doces, geleias e sucos, com larga aceitação no mercado interno. A goiaba obtida como co-produto da industrialização pode ser considerada uma boa fonte de compostos naturais que tem atividade antioxidante significativa (Martínez *et al.,* 2012).

Do ponto de vista nutricional, a goiaba é excelente fonte de vitaminas, minerais, fibras, carotenoides e flavonoides. Sendo que a composição média para cada 100g de poupa é: proteína (1g), cálcio (15 mg); ferro(1mg); vitamina A (0,06mg); tiamina(0,05mg); e fósforo(26mg), podendo variar de acordo com o cultivar, localização geográfica e condições de cultivo. Segundo a tabela da USDA (2006), a goiaba contém quatro vezes mais vitamina C (200-300mg) do que a laranja, que possui 50 mg de vitamina C.100 g^{-1}, além de ser fonte de licopeno, com teor duas vezes maior do que o presente no tomate.

Aliados aos avanços da ciência e ancorados na divulgação das propriedades nutricionais dos alimentos e suas potenciais ações benéficas à saúde humana, prevenindo e tratando doenças, as frutas tropicais têm sido consideradas promotoras da saúde e peças-chave na promoção da qualidade de vida (Sun *et al.,* 2010).

Muitos estudos têm relatado as propriedades antioxidantes dos sucos de frutas e polpas de frutas comestíveis (Mokbel & Hashinaga *et al.,* 2006). No entanto, existem poucas informações disponíveis sobre o valor medicinal e nutricional dos frutos subtropicais.

Desde 1930, estudos epidemiológicos têm demonstrado a relação entre dieta e risco de câncer, dentre eles o de mama (Hill *et al.,*1997). Diferentes autores afirmam que o controle do peso corporal, a redução do consumo de gordura animal e alta ingestão de frutas, hortaliças e grãos integrais protegem contra o câncer (Hill, *et al.,*1997; Béliveau *et al.*, 2007). Estudos confirmam a associação entre o consumo de nutrientes e compostos bioativos presentes em frutas e hortaliças e a redução do risco de desenvolvimento de diversos tipos de câncer (Mignone *et al.,* 2009; Lewis *et al.,* 2009).

Pedro Sato **Tsumori** **Hitigio**

Figura 1. Cultivares de Goiaba Pedro Sato, Tsumori e Hitigio

2 I METODOLOGIA

2.1 Obtenção das amostras

Amostras de cultivares de goiaba, Pedro Sato(PS), Hitigio (HI) e Tsumori(TS) foram obtidas junto ao Projeto Frutificar da Secretaria de Estado de Agricultura e Pecuária – SEAPEC que possui culturas de goiaba. A caracterização nutricional foi composta das seguintes análises: Acidez total titulável, açúcares redutores, açúcares totais, ºBrix, densidade, Vitamina C e teor de fibras segundo metodologia oficial (Adolf Lutz, 2005). Nas amostras foram avaliados ainda parâmetros físicos de peso, dimensão e coloração, em colorímetro Konica (Minolta CM-5) utilizando escala CIELAB (L*, a*, b*).

2.2 Preparo dos Extratos

Os extratos de semente e polpa da goiaba foram preparados conforme metodologia descrita por Rocha (2007) a partir de frutos obtidos de produtores locais da região de Cachoeira de Macacu.

Em seguida, as amostras sofreram extração com sete soluções extratoras: metanol, metanol 50%, extração sequencial (metanol 50% e acetona 70%), acetona 70%, metanol acidificado, etanol e água para as análises de compostos bioativos e atividade antioxidante.

O extrato para os ensaios celulares foi obtido a partir de 50g de amostra (polpa de goiaba), com a adição de 50 ml de acetona 70%, e avolumada em balão volumétrico de 100 ml com água destilada. Após esta etapa, houve a homogeneização em vórtex por aproximadamente 2 minutos e posteriormente sofreu agitação por meio de banho com agitação durante 60 minutos. A solução foi filtrada à vácuo com papel de filtro quantitativo Whatman n°. 1 e colocada em um balão para a etapa de retirada completa do solvente em rotaevaporador (Marconi®) a 60º C por 2 horas. Após o procedimento, o material foi congelado a 0°C por 24 horas. Posteriormente, seguiu para o liofilizador, no qual permaneceu por 72 horas. Em seguida, foi acondicionado em frasco âmbar e congelado à -20°C, para posteriores análises.

2.3 Determinação de compostos fenólicos totais

A análise de compostos fenólicos totais dos extratos foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteau, utilizando o ácido gálico como padrão. A determinação foi realizada usando alíquotas de 0,1 mL a 1 mL dos extratos obtidos anteriormente, que foram transferidas para tubos de ensaio e adicionado 2,5 mL do reagente FolinCiocalteau, diluído em água 1:10. A mistura permaneceu em repouso de 3 a 8 minutos. Em seguida foi adicionado 2 mL de carbonato de sódio 4% e os tubos deixados em repouso por 2 horas, ao abrigo da luz. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (Turner TM®) a 760nm. Uma amostra em branco foi conduzida nas

mesmas condições e os resultados dos compostos fenólicos totais foram expressos em equivalente de ácido gálico, com base em uma curva de calibração de ácido gálico com concentrações variando de 5 a 20μg/ml.

2.4 Avaliação da atividade sequestrante do radical DPPH

A medida da atividade sequestrante do radical DPPH foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams *et al.,* (1995). O DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil) é um radical livre estável que aceita um elétron ou um radical de hidrogênio para tornar-se uma molécula diamagnética estável e, desta forma, é reduzido na presença de um antioxidante. Para avaliação da atividade antioxidante, os extratos de goiaba foram adicionados para reação com o radical estável DPPH em uma solução de metanol. Na forma de radical, o DPPH possui uma absorção característica a 515 nm, a qual desaparece após a redução pelo hidrogênio arrancado de um composto antioxidante. A redução do radical do DPPH foi medida através da leitura da absorbância a 515 nm em 100 min de reação.

2.5 Análise de atividade antioxidante total pela captura do radical ABTS•+

O método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfônico) foi utilizado como descrito por Rufino *et al.,* (2007), O radical ABTS•+ é formado por uma reação química com persulfato de potássio em uma relação estequiométrica de 1: 0,5. Uma vez formado, o radical ABTS•+ é diluído em etanol até obter uma medida de absorvância de 0,70 (± 0,02) a um comprimento de onda de 734 nm. Alíquotas com três diferentes volumes das amostras de goiaba extraídas foram utilizadas de modo a restar um volume final de 3ml em cada leitura. As leituras foram realizadas em triplicata. Uma curva padrão com soluções de Trolox e outra curva com ácido ascórbico foram produzidas.

2.6 Atividade antioxidante total pelo método de redução do ferro – FRAP (*FerricReducingAntioxidant Power*)

A atividade antioxidante determinada pelo método de FRAP de acordo com Rufino (2006), esta se baseia na medida direta da habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzirem, em meio ácido (pH=3,6), o complexo Fe^{3+}/tripiridiltriazina (TPTZ), para formar Fe^{2+}, de intensa cor azul e absorção máxima a 593nm. O reagente FRAP foi preparado no momento da análise, através da mistura de 20 ml de tampão acetato (300 nM, pH 3,6), 2,0 ml de TPTZ (10mM TPTZ em 40 mM HCl) e 2,0 ml de $FeCl_3$ (20mM) em solução aquosa. Para realização do ensaio, foram adicionados 20 µL de amostra, 20μL do padrão (sulfato ferroso), e 20μL do branco (água Mili-Q) + 180 µL do reagente FRAP que foi injetado automaticamente pelo leitor de microplacas *VICTOR multilabel contador* (Perkin-Elmer, EUA) perfazendo um volume total de 200 µL em cada poço da microplaca. As medidas foram realizadas em triplicata. A curva de

calibração foi feita com sulfato ferroso (50-750μmol/L) e os resultados foram expressos em μmolFe^{2+}/L.

2.7 Cultura de células e protocolo de tratamento

As linhagens de carcinoma de mama (MDA-MB-235 e MCF-7) foram obtidas a partir do Banco de células da Universidade Federal do Rio de Janeiro, foram cultivadas em meio Dulbecco's e meio RPMI suplementado com 10% soro fetal bovino (SFB) e 2 g/L tampão HEPES, pH 7,4, sob atmosfera de 5% de CO2. Para cada experimento, todas as células foram plaqueadas, em 104 células/cm2 em placas de 6 e 96 poços, para análises de ciclo celular e proliferação celular, respectivamente. Após 24 horas, o meio de cultura foi trocado e as células sofreram incubações com diferentes concentrações de extratos de goiaba previamente liofilizados dissolvidos em água a 50ºC ou em água e acetona 70 (1:1). Células não tratadas foram incluídas em cada placa. As células foram então incubadas por 24 e 48 horas, com troca de meio a cada 24 horas.

2.8 Ensaio de viabilidade celular pelo ensaio de MTT

A viabilidade celular foi determinada pelos ensaios de MTT (*brometo* de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazólio), foram plaqueadas 1.0 x 10^4 células/poço em placas de 96 poços que, 24 horas depois, foram incubadas com diferentes concentrações de extrato de cultiaves de goiaba, que variavam de 15 a 5000 mcg/mL. Após 24 h e 48 h de incubação, foram adicionados 10 μL de MTT (5g/L) em cada poço. O meio foi, então, recolhido depois de 4 h de incubação e 100 μL/poço de dimetilsulfóxido (DMSO) foram adicionados, a fim de dissolver o produto gerado. Por fim, a placa foi lida em leitor de microplacas (Bio-Rad 2550, USA) a 570nm. A taxa de inibição da proliferação celular (CPIR) foi calculada com base na fórmula: CPIR = (1 – valor médio do grupo experimental / valor médio do grupo controle) x 100%.

2.9 Análise Estatística

Os dados apresentados serão médias e (±) desvio padrão de dois experimentos independentes feitos em triplicata. Os dados experimentais obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa GraphPadPrism 4.0 e Statistical 6.0.

3 I RESULTADOS

Na tabela 1, encontram-se as análises de peso, dimensão, ° Brix, acidez e vitamina C, das amostras dos três cultivares de goiaba (Pedro Sato, Hitigio e Tsumori). As análises revelaram valores médios de peso de 220,16±40,08g do cultivar Pedro Sato,

158,16±15,43g do cultivar Hitígio e 297,52±79,06g do cultivar Tsumori. As dimensões obtidas foram de 8,34±0,51cm do cultivar Pedro Sato, 7,27±0,40cm do cultivar Hitígio e 8,78±1,01cm do cultivar Tsumori.

Os cultivares Pedro Sato, Hitígio e Tsumori apresentaram os valores de grau brix sem diferença estatística entre eles (p>0,05) com valores respectivos médios de 10,11, 9,47 e 11,08 g% ácido cítrico. A acidez revelou valores de 0,36±0,01g/mol, 0,39±0,01g/mol e 0,47±0,03g/mol para os cultivares Pedro Sato, Hitígio, e Tsumori respectivamente. Os valores observados de ácido ascórbico entre os diferentes cultivares não apresentaram diferença significativa (p>0,05), com valores médios máximo e mínimo de 81,81 e 79,35 mg ácido ascórbico/100g, para o cultivares Pedro Sato e Tsumori, respectivamente.

	PS	HI	TS
Peso (g)	220,16±40,08[a]	158,16±15,43[b]	297,52±79,06[c]
Dimensão(cm)	8,34±0,51[a]	7,27±0,40[b]	8,78±1,01[c]
Sólidos Solúveis (°Brix)	10,11±0,02[a]	9,47±0,01[a]	11,08±0,01[a]
Acidez(g% ácidio cítrico)	0,36±0,01[a]	0,39±0,01[a]	0,47±0,03[b]
Àcido Ascórbico (mg%)	81,81±2,04[a]	79,35±3,30[a]	80,36±1,87 [a]

Tabela 1: Valores de peso, dimensão °Brix, acidez e vitamina C em goiaba cultivar Pedro sato(PS), Hitigio(HI) e Tsumori(TS). Letras diferentes apresentam diferença significativa teste Tukey (p<0,05).

PS – Pedro Sato HI – Hitigio TS –Tsumori

Na tabela 2 encontram-se os resultados referente a análise colorimétrica dos parâmetros L*, a* e b*. Com relação o perfil de cor da casca foi observado que os maiores valores dos parâmetros L* (65,56) e b* (42,30) foram encontrado no cultivar PS.

As amostras apresentaram os seguintes resultados: o cultivar Pedro Sato, na análise da casca, apresentou valor médio de 65,56±1,72 (L*); para os valores de a* o cultivar Hitigio apresentou o menor valor médio com -5,18±2,32 (a*)(P<0,05), indicando a cor verde mais intensa e para a escala b* o cultivar Pedro Sato apresentou o valor médio de 42,3±3,16 (b*) indicando a cor da casca mais clara e amarelada quando comparada com os outros cultivares. Dentre as polpas analisadas o cultivar Pedro Sato apresentou valor médio de 55,21±1,68 (L*), na escala a* o valor 32,25±1,17(a*) indicando uma cor vermelha mais intensa em relação aos outros cultivares analisados. Os cultivares não apresentaram diferença significativa nos valores da escala b*(p>0,05).

Coordenadas de cor	Casca			Polpa		
	HI	PS	TS	HI	PS	TS
L*	59,90±3,71[a,b]	65,56±1,72[a]	55,49±10,06[b]	58,53±1,72[a]	55,21±1,68[a]	61,83±4,59[a]
a*	-5,18±2,32[a]	-0,40±2,22[b]	0,90±4,59[b]	30,99±1,24[a]	32,25±1,17[a]	22,45±1,97[b]
b*	39,59±3,08[a]	42,30±3,16[a]	28,59±9,12[b]	21,81±0,51[a]	21,69±2,02[a]	21,01±1,16[a]

Tabela 2. Coordenadas de cor (L*a* b*) de amostras goiaba cultivar Pedro Sato(PS), Hitigio(HI) e Tsumori(TS). Letras diferentes apresentam diferença significativa teste Tukey (p<0,05).

PS – Pedro Sato HI – Hitigio TS –Tsumori

Na atividade antioxidante, observou-se a maior redução do radical DPPH na amostra de goiaba com 77,73±0,84% e IC_{50} de 292,42mg, utilizando a acetona 70% como solução extratora. A análise de ABTS revelou elevado potencial antioxidante em ambas as frutas, com valores médios de 3,77±0,20μmol de trolox/g nas amostras de goiaba utilizando a solução extratora de acetona 70%. O resultado do teor total de compostos fenólicos apresentou valores de 200,06±11,21, 153,37±16,75 mg ácido gálico/100g nos cultivares de goiaba (Pedro Sato e Hitígio).

Para análise da viabilidade celular, as células de carcinoma de mama (MDA-MB-235 e MCF-7), foram incubadas com concentrações de 15-5000mg/ml de extratos de diferentes cultivares de goiaba, e analisadas, durante intervalos de 24 e 48 horas após o início do tratamento.O ensaio de MTT foi utilizado para monitorar a viabilidade celular. Na linhagem celular MDA-MB-235, foi possível observar que os extratos de goiaba modificaram o perfil de crescimento celular após 24 e 48 horas de tratamento. Após 24 horas, o cutlivar PS foi o que apresentou o maior percentual de redução (45%) na viabilidade celular, seguido do cutlivar HI. As células tratadas com o cultivar TS não apresentaram diferença estatística (p>0,05) no perfil de crescimento celular quando comparadas as células não tratadas (CT). Por outro lado, após 48 horas de tratamento, foi constatado que todos os extratos dos cultivares de goiaba promoveram redução na viabilidade da linhagem MDA-MB235. O extrato do cultivar TS, a partir da concentração de 300mg/mL, obteve a maior capacidade de redução com inibição média de 70%. Os cultivares PS e HI não apresentaram diferença estatística nas concentrações utilizadas (15-5000mg/ml) com reduções máximas de 57% e 44%, respectivamente.

4 I DISCUSSÃO

O efeito protetor exercido pela goiaba tem sido atribuído à presença de compostos antioxidantes, principalmente os carotenóides, destacando o licopeno devido ao seu maior poder antioxidante, e o beta-caroteno, como fonte de vitamina A (Barreiros *et al.,* 2006). Além disso, a goiaba é rica em ácidos taninos, fenóis, triterpenos, flavonóides,

os óleos essenciais, as saponinas, as lectinas, vitaminas e fibras, a fruta contém açúcares, ferro, cálcio, fósforo e vitaminas A, B e C, em concentrações mais elevadas do que a maioria dos outros frutas. A tabela 3 mostra os componentes nutricionais encontrados na polpa da fruta.

	Nutrientes (por 100g)	Sato et al., 2010	Joseph & Priya, 2011
Energia e macronutrientes	Calorias (Kcal)	68	77 - 86
	Proteína (g)	2,55	0,1 - 0,5
	Lipídeo (g)	0,95	0,43 - 0,7
	Carboidrato (g)	14,32	9,1 - 17
	Fibras totais (g)	5,4	0,9 - 1 (Crude fiber)
Minerais	Cálcio - Ca (mg)	18	17,8 - 30
	Ferro - Fe (mg)	0,26	200 - 400 (I.U.)
	Potássio - K(mg)	417	-
	Sódio - Na (mg)	2	-
	Zinco - Zn (mg)	0,23	-
	Selênio - Se (mg)	0,6	-
Vitaminas			
	Vitamina C (mg)	228,3	-
	Tiamina (mg)	0,067	0,03 - 0,04
	Riboflavina (mg)	0,04	0,6 - 1,068
	Niacina (mg)	1,084	40 (I.U.)
	Vitamina B3 (I.U)	-	35
	Vitamina B6 (mg)	0,11	-
	Folato (mcg)	49	-
	Vitamina A (I.U.)	624	0,046 (mg)
	Beta caronteno (mcg)	374	
	Vitamin E alpha-tocoferol (mg)	0,73	-
	Vitamin K filoquinona (mcg)	2,6	-

Tabela 3. Componentes nutricionais encontrados em 100g de polpa de goiaba (*P.Guajava)*

Fonte: adaptado de Sato et al., 2010 e Joseph & Priya, 2011

As primeiras análises realizadas foram físico-químicas com a finalidade de avaliar principalmente o grau de maturação das goiabas de diferentes cultivares. Dentre os critérios mais importantes do processamento mínimo de frutas, o estádio de maturação no momento da colheita é um fator determinante para o sucesso do processamento. De acordo com Cavalini *et al.,* (2006), os índices de maturação permitem expressar a fase do desenvolvimento do fruto, remetendo cada estádio a uma qualidade sensorial. Devido às operações envolvidas no processamento mínimo, os frutos sofrem modificações em suas estruturas. Por isso, para obtenção de um

produto final de ótima qualidade, é essencial que os frutos sejam colhidos em estádio de maturação adequado.

No presente estudo, a acidez variou entre 0,36 e 047 g% ácido cítrico. Em um estudo de Gouveia *et al.,* (2004), os valores de pH variaram de 3,9 a 3,917, estando acima dos valores aqui observados. Em contrapartida, um estudo mais antigo (ITAL *et al.,*1978) no qual o autor caracterizou goiabas vermelhas em três estádios diferentes de maturação achou valores de 0,39; 0,38 e 0,30, estes próximos aos encontrados em nossas análises. Os valores de ºBrix dos diferentes cultivares foram próximos à 10% (10,11 para Pedro Sato, 9,57 para Hitígio e 11,08 para Tsumori). Maia *et al.,*(1998), que avaliou quatro variedades de goiaba encontrou valores que ficavam entre 11,00 e 12,10%, diferentemente do encontrado por Gouveia *et al.*, novamente, onde os valores do ºBrix não foram superiores a 5,8%. O peso do fruto variou de 158,16g a 297,52g, estando dentro da faixa dos valores de peso de goiaba encontrado por Gouveia *et al.,* (2004) os quais foram de 148,2 a 172,3 g.

A atividade antioxidante dos extratos foi analisada por três diferentes métodos (DPPH, FRAP e ABTS). Para os três métodos utilizados, foram observados uma elevada atividade antioxidante nos três cultivares (Pedro Sato, Hitígio e Tsumori), destacando-se o cultivar Pedro Sato, em todas análises com a maior atividade antioxidante, sendo o melhor extrato. As diferenças observadas em relação a atividade antioxidante dos compostos e os diferentes métodos utilizados podem ser atribuídas à estrutura química de cada composto, além das características/especificidades de cada método (Dávalos *et. al.*, 2004).

A aplicação de pigmentos naturais e a sua correlação com a atividade antioxidante em alimentos é de interesse tanto para a indústria como para os consumidores. Estudos recentes relacionam a ingestão de frutas e vegetais com propriedades antioxidantes e a diminuição do risco e desenvolvimento de algumas doenças crônico-degenerativas (Schiavon *et al.,* 2015).

Na avaliação do efeito anti-tumoral dos extratos dos cultivares de goiaba foram utilizadas duas linhagens derivadas de carcinoma de mama. A linhagem celular epitelial MCF-7 apresenta receptores de estrógeno e progesterona e baixo potencial metastático. Esta linhagem tem morfologia fusiforme e são consideradas luminais. Além disso, são células com baixo grau de invasão em matrigel. A linhagem celular epitelial MDA-MB-235 não expressa receptores hormonais, além de apresentar alto potencial metastático e alta tumorogenicidade. Esta linhagem tem morfologia estrelada e é considerada célula epitelial mesenquimal (Lacroix *et al.,* 2004).

De acordo com resultados obtidos pelo ensaio de MTT, na linhagem MCF-7 tratada com os extratos de goiaba, foi observada uma inibição na viabilidade celular desde as menores doses, com 24 horas de tratamento, nos cultivares Hitígio e Pedro Sato. Nas células MDA-MB-235 houve uma redução sobre a viabilidade deste grupo celular com 48 horas de tratamento, mas apenas nas duas maiores concentrações (2500 e 5000 mcg/ml) no cultivar Pedro Sato, e a partir da concentração 1250 mcg/ml

no cultivar Hitígio.

5 I CONCLUSÃO

O presente estudo confirmou a elevada capacidade antioxidante dos extratos dos cultivares de goiaba, com inibição da proliferação celular nas linhagens de câncer de mama humano. O extrato do cultivar Pedro Sato obteve a maior capacidade antioxidante em todas as análises (DPPH, FRAP e ABTS) e os maiores teores de compostos fenólicos totais. Além disso, o extrato PS promoveu redução da proliferação celular nas duas linhagens cancerosas MDA-MB-235 e MCF-7..

Os dados deste trabalho indicam que um efeito antiproliferativo dos extratos dos cultivares de goiaba, com destaque para o cultivar Pedro Sato, o qual é influenciado por diversos fatores que incluem: concentração do composto, tempo de incubação, captação e metabolismo celular.

REFERÊNCIAS

BARREIROS, A.L.B.S et al, **Estresse Oxidativo: relação entre geração e espécie reativas e defesa do organismo**. Quimica Nova, v.29, n.1, p113-123,2006.

BÉLIVEAU, R.; GINGRAS, D. Os alimentos contra o câncer: A prevenção e o tratamento do câncer pela alimentação. Petropólis, **Vozes,** p.214, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, London**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

CAVALINI, F.C. **Fisiologia do amadurecimento,senescência e comportamento respiratório de goiabas'Kumagai' e 'Pedro Sato'**. 2008. 90f. Tese (Doutorado emFisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz', Universidade de São Paulo,Piracicaba, SP.

CAVALINI, F.C. et al. Índices de maturidade para goiabeiras 'Kumagai' e 'Paluma'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p.176-179, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v28n2/a05v28n2.pdf>. Acesso em 28 dez. 2007. doi: 10.1590/S0100-29452006000200005.

CHOUDHURY, M.M. (Ed.) **Goiaba: pós colheita**. Petrolina: Embrapa semi árido, 2001. 45p.

DÄVALOS, A.; CORDOVEÄ, S.C.G; BARTOLOMEÄ, B. Extending Applicability of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC-Fluorescein) Assay. J. **Agric. Food Chem**., v.52, p. 48-54, 2004.

GONZAGA NETO L. et al, **Conservação pós colheita de goiabeira, variedade Paluma.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.34, n.1, p.1-6,1999.

GOUVEIA, J. P. G. et al. Determinação de características físico-químicas da goiaba: goiabeiras adubadas no semiárido da Paraíba. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 6, n. 1, p. 35-38, 2004.

HILL, M. J. Nurition and Human Cancer. **Annals New York Academy of Sciences**, United States, v. 833, p. 68-78, 1997.

ITAL *et al.,*1978, disponível em: http://www.ital.sp.gov.br/

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v.1: **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos** , 4. ed. São Paulo: IMESP, 2008.

LACROIX, M.; LECLERCQ, G. Relevance of breast cancer cells lines as models for breast tumours: an update. **Breast Cancer Res Treat**., v. 83, n. 3, p. 249-89, 2004.

LEWIS, J. E. et al. Intake of Plant Foods and Associated Nutrients in Prostate Cancer Risk. **Nutrition and Cancer**,England, v. 61, n. 2, p. 216-224, 2009.

MANICA, I,;ICUMA,IM., JUNQUEIRA, NTV. et al. Fruticultura tropical 6. Goiaba. Porto Alegre: cinco continentes, 2000. 374p.

MARTÍNEZ, R. et al, Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of manfo, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**dez., 2012.

MIGNONE, L. I. et al. Dietary carotenoids and the risk of invasive breast cancer. **Internacional Journal of Cancer**. United States, v. 124, n. 12, p. 2929-2937, 2009.

MOKBEL, M. S.; HASHINAGA, F. Evaluation of the antioxidant activity of extracts from buntan (*Citrus grandis* Osbeck) fruit tissues. **Food Chem**., v. 94, p. 529–34, 2006.

RUFINO, M. Do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. De; MORAIS, S. M. De; SAMPAIO, C. De G.;

PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). **Comunicado técnico. Embrapa**, Fortaleza, CE. 2006.

RUFINO, M. Do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. De; MORAIS, S. M. De; SAMPAIO, C. De G.;
PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +. **Comunicado técnico. Embrapa**, Fortaleza, CE. 2007.

SATO, Ryan et al. Anticancer Activity of Guava (Psidium guajava) Extracts.**Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 7, n. 1, 2010

SCHIAVON, C. C. et al. Nutrition Education Intervention for Women With Breast Cancer: Effect on Nutritional Factors and Oxidative Stress. **Journal of nutrition education and behavior**, V. 47, n.1, p. 2-9, 2015.

SUN, J. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. **J Agric Food Chem**., v.50, p.7449–7454, 2010

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. Agricultural Research Service: Nutrient Data Laboratory. Washington, 2006. Disponível em: <www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>.

VARGAS, P. N.; HOEZEL, S. C. et al. Determinação do teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em sucos de uva comerciais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n.1, p. 11-15, 2008.

CAPÍTULO 5

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE LICOPENO ISOLADO E NA MATRIZ ALIMENTAR SOB MARCADORES DE LESÃO HEPÁTICA DE RATAS ALIMENTADAS COM DIETA HIPERLIPÍDICA

Monique de Barros Elias Campos
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, UNIRIO – RJ

Vanessa Azevedo de Jesuz
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, UNIRIO – RJ

Anderson Junger Teodoro
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, UNIRIO – RJ

Vilma Blondet de Azeredo
Universidade Federal Fluminense, UFF - RJ

RESUMO: O tecido hepático é essencial não só para controle e homeostase do organismo, mas também para reações metabólicas vitais à saúde que podem ser desreguladas em processos de lesão hepática (Schinoni, 2008). A alta atividade energética do fígado acompanhado de um padrão alimentar de uma dieta rica em gorduras gera um consumo aumentado de oxigênio, o que acarreta em elevada produção de radicais livres envolvidos na fisiopatologia de doenças inflamatórias e danos potenciais a proteínas, lipídios e ao DNA celular (Halliwell & Gutteridgr, 2000; Sies *et al.,* 2005; Jaeschke *et al.,* 2000). Estudos vêm demonstrando a ação de carotenóides na histopatologia do carcinoma hepatocelular e na proteção do fígado devido sua ação contra o estresse oxidativo (Kaklamani et al., 1991; Yu et al, 2000; Silver *et al.,* 2011; Lau *et al.,* 2005; Venturini *et al.,* 2011). Portanto, torna-se relevante estudar o tecido hepático após tratamento com licopeno.

No entanto, como a maioria destes dados em humanos ainda é pouco conclusivo, modelos animais experimentais têm sido utilizados para melhor compreensão dos mecanismos de ação destes produtos. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do licopeno, isolado e na matriz alimentar, sobre a função e integridade do fígado em modelos in vivo, e elucidar os mecanismos de ação desse carotenoide sob marcadores de lesão hepática.

PALAVRAS-CHAVE: licopeno, lesão hepática, estresse oxidativo, antioxidantes

ABSTRACT: Liver tissue is essential not only for the control and homeostasis of the organism, but also for metabolic reactions vital for health that can be unregulated in hepatic injury processes (Schinoni, 2008). The high energetic activity of the liver accompanied by an alimentary pattern of a diet rich in fats generates an increased consumption of oxygen, which causes high production of free radicals involved in the pathophysiology of inflammatory diseases and potential damages to proteins, lipids and cellular DNA (Halliwell & Gutteridgr, 2000; Sies et al., 2005; Jaeschke et al., 2000). Studies have demonstrated the action of carotenoids on the histopathology of hepatocellular carcinoma and on liver protection due to their action against

oxidative stress (Kaklamani et al., 1991, Silver et al., 2011, Lau et al. 2005; Venturini et al., 2011). Therefore, it becomes relevant to study hepatic tissue after treatment with lycopene. However, as most of these data in humans are still inconclusive, experimental animal models have been used to understand better the mechanisms of action of these products. In this sense, the objective of this work was to evaluate the effects of lycopene, isolated and in the matrix food, on function and integrity of the liver in vivo models, and elucidate the mechanisms of action of this carotenoid under markers of liver injury
KEYWORDS: lycopene, liver injury, oxidative stress, antioxidants

1 I INTRODUÇÃO

O fígado é responsável pelo metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos, tem como principal função digestiva a síntese e secreção de bile, responsável pela emulsificação das gorduras dietéticas. Além disso, o fígado atua no armazenamento de vitaminas e minerais, na degradação e excreção de hormônios, na biotransformação e excreção de drogas e no auxílio à resposta imune. O tecido hepático é essencial não só para controle e homeostase do organismo, mas também para reações metabólicas vitais à saúde que podem ser desreguladas em processos de lesão hepática (Schinoni, 2008). A alta atividade energética do fígado acompanhado de um padrão alimentar de uma dieta rica em gorduras gera um consumo aumentado de oxigênio, o que acarreta em elevada produção de radicais livres envolvidos na fisiopatologia de doenças inflamatórias e danos potenciais a proteínas, lipídios e ao DNA celular (Halliwell & Gutteridgr, 2000; Sies *et al.,* 2005; Jaeschke *et al.,* 2000).

A Pesquisa de Orçamento Familiar realizada pelo IBGE nos anos de 2008-2009 (POF 2008-2009) evidenciou o alto consumo de produtos processados e prontos para consumo como pães, biscoitos recheados, sanduíches, salgados, pizzas, refrigerantes, sucos e cerveja pela população brasileira, em especial nas áreas urbanas. Na pesquisa, menos de 10% da população brasileira atingiu as recomendações de consumo de frutas, verduras e legumes. Além disso, a ingestão inadequada de micronutrientes foi observada em todas as Grandes Regiões do País, evidenciando o padrão inadequado da alimentação da população brasileira que pode desencadear déficits de nutrientes e diversas doenças crônicas não transmissíveis, como a obesidade e doenças crônicas.

A ingestão de dietas hiperlipídicas, principalmente de ácidos graxos saturados, afeta diretamente a integridade e função do tecido hepático e pode ser agravada pelo consumo de álcool (Alegría-Ezquerra, 2008). Esses hábitos podem estar associados ao desenvolvimento de estresse oxidativo, estado inflamatório e danos em diversas biomoléculas, dentre elas o DNA, resultando em quebras simples ou duplas e também no surgimento de mutações, favorecendo o surgimento e progressão de diversas doenças crônicas (Braga *et al,* 2002; Geraldo *et al.,* 2008; Oliveira & Schoffen 2010).

O consumo excessivo de gorduras gera fluxo aumentado de lipídeos para o fígado promovendo um estado de lipotoxicidade no órgão, associado a um elevado nível de estresse oxidativo e redução da defesa antioxidante do organismo (Jian-gao & Qiao, 2009). Dietas ricas em gordura saturada estimulam a síntese de citocinas pró-inflamatórias e o aumento das espécies reativas de oxigênio, estresse oxidativo e lesão nas células do tecido (França, 2013; Giehl et al, 2007).

Nos hepatócitos, o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica promovem danos à membrana plasmática, tornando-a vulnerável à apoptose e favorecendo a resposta inflamatória no tecido e no organismo de maneira geral, podendo ocorrer a secreção aumentada de TGF-B1, e ativação de miofibroblastos responsáveis pela formação da cicatriz, onde a lesão crônica pode desencadear a fibrose do fígado (Cave *et al.,* 2007; França, 2013; Bataller, 2005; Kisseleva, 2008).

Estudos epidemiológicos apresentam evidências de que a hepatocarcinogênese é um processo que envolve múltiplos estágios, precedido pelo aparecimento de nódulos hepáticos, sendo a incidência em homens duas vezes maior que em mulheres (Gonçalves & Pereira, 1993). O carcinoma hepatocelular (CHC) é o tumor maligno primário mais comum do fígado. Existem evidências demonstrando que a hepatocarcinogênese, em ratos e em humanos, é um processo de múltiplos estágios precedido pelo aparecimento de focos de hepatócitos alterados e nódulos hepáticos hiperplásicos, sendo estes considerados lesões pré-neoplásicas (LPN) decorrentes de expansão clonal a partir de hepatócitos iniciados (Sherman et al., 1983; Teebor & Becker, 1981; Peres et al, 2003). Estudos vêm demonstrando a ação da vitamina A e de carotenóides na histopatologia do CHC e na proteção do fígado devido sua ação contra o estresse oxidativo (Kaklamani et al., 1991; Yu et al, 2000).

O estresse oxidativo decorre do desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, havendo geração excessiva de radicais livres em detrimento da menor capacidade de sua remoção pelo organismo (Halliwell & Gutteridge, 2007). Em contrapartida, compostos antioxidantes são substâncias capazes de retardar ou inibir as taxas de oxidação, podendo ser produzidos endogenamente ou absorvidos através dos alimentos na dieta (Barreiros *et al.,* 2006; HalliwelL & Gutteridge, 2007). Os mamíferos possuem sistemas de defesa antioxidante, divididos em sistema enzimático e não enzimático (Halliwell & Gutteridge, 2007). Dentre os enzimáticos, destacam-se as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutationa peroxidase (GPx), glutationa redutase (GSR) e glutationa transferase (GST). Já o sistema não enzimático é constituído, por exemplo, pela bilirrubina, glutationa, melatonina, ácido ascórbico (vitamina C), alfa-tocoferol (vitamina E), carotenoides (vitamina A, β-caroteno, licopeno) e polifenóis (flavonóides) (Halliwell & Gutteridge, 2007; Luz *et al.,* 2011; Laires *et al.,* 2001).

Neste âmbito, alguns estudos demonstram relação inversa entre o consumo de alimentos ricos em carotenoides e o risco de doenças induzidas pelo estresse oxidativo (Zern & Fernandez, 2005; Silver *et al.,* 2011; Lau *et al.,* 2005; Venturini *et*

al., 2011). Nos alimentos, diversos tipos de carotenoides podem ser encontrados em fontes vegetais como frutas e hortaliças. (Pereira & Cardoso, 2012; Middleton *et al.,* 2000; Lucile *et al.,* 2007).

Os carotenoides são isoprenóides amplamente distribuídos na natureza, tipicamente vistos como pigmentos em frutas, flores, pássaros e crustáceos, responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha. Como não são sintetizados por células animais, dependem da dieta como fonte (Fraser and Bramley, 2004). Recentemente, tem atraído a atenção de pesquisadores em diversas áreas do conhecimento científico, devido ao seu efeito benéfico sobre a saúde humana, especialmente, diminuindo a incidência de câncer e atuando predominantemente como antioxidantes (Tapiero *et al.*, 2004).

Dentre os carotenoides mais amplamente estudados os que possuem maior atividade antioxidante é o licopeno e o β-caroteno (Hellemans et al, 1999; Shami & Moreira, 2004).

Eles podem atuar na desativação de espécies reativas, evitando assim a iniciação de cadeias de oxidação em nível celular que conduz a danos ao ácido desoxiribonucléico (DNA) e peroxidação lipídica (Silv*a et al.*, 2001).

A ação dos carotenoides sobre células cancerígenas tem sido intensamente estudada nas duas últimas décadas, principalmente seu metabolismo e biotransformação (Teodor*o et al.*, 2009). Em modelos experimentais distintos e na prática clínica, esse dois carotenoides tem sido amplamente estudados, mas a maioria desses estudos foram dedicados ao b-caroteno e apenas uns poucos para licopeno (Hadley *et al.*, 2002). O licopeno tem sido descrito como um produto antitumoral significativo em tipos de células cancerosas diferentes, principalmente regulando eventos celulares, tais como apoptose e ciclo celular (mitose), amplamente envolvidas com progressão do câncer (Teodor*o et al.*, 2012). No entanto, é pouco compreendido como o licopeno regula a biologia dessas células. A hematopoese murina pode ser considerada um excelente modelo experimental para estudar vários eventos e propriedades celulares do adenocarcinoma hepático, incluindo a proliferação, diferenciação e apoptose mediante contato com tal carotenoide.

Podemos encontrar o licopeno no plasma e tecidos humanos com grande variação na sua distribuição. De todos os carotenoides, o licopeno é um dos mais abundantes no corpo humano, sendo sua alta concentração devida, principalmente, ao consumo dos alimentos (Aluko, 2005). Os carotenoides não são sintetizados pelo organismo humano, dessa forma eles são obtidos exclusivamente por meio da dieta alimentar. O licopeno pode ser encontrado em um número limitado de alimentos; o tomate e seus derivados são as melhores contribuições dietéticas. Quanto mais avermelhado for o alimento, maior é sua concentração de licopeno. A absorção do licopeno é maior quando o alimento em questão é cozido, pois o rompimento das paredes celulares facilita o contato deste com a mucosa intestinal (Parker, 1996; Böhm & Bitsch, 2003; Omoni & Aluko, 2005).

Nesse contexto, podemos relacionar a incidência de câncer a fatores ambientais, sobretudo alimentares, predisposição genética e obesidade, entre outros fatores (Olthof *et al*, 2000). Questões relacionadas com o papel da dieta na prevenção do câncer e tratamento são destaques a cada ano, incluindo resultados de estudos envolvendo vários alimentos, fitoquímicos e nutrientes; uso de abordagens complementares e alternativas para a prevenção e para o tratamento, e dietas ideais para aqueles que desejam prevenir o câncer ou a sua repetição. Atualmente, tem sido dada grande atenção de estratégias preventivas e, neste contexto, o uso de compostos bioativos presentes nos alimentos parece contribuir para este processo por diferentes mecanismos de ação, os quais são anticancerígeno, antioxidantes e anti-inflamatório (Upadhyaya *et al,* 2007).

Neste aspecto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do consumo de licopeno, isolado e na matriz alimentar, sobre a função e integridade do tecido hepático de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica, já que os dados expostos na literatura indicam benefícios de seus compostos bioativos na prevenção de doenças e lesões no fígado.

2 I MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal Fluminense (LabNE-UFF), em conjunto com o Laboratório de Alimentos Funcionais (LAAF – UNIRIO) e com o Laboratório de Biotecnologia de Alimentos da UFF (LABIOTEC – UFF).

Foram utilizados 30 *Rattus novergicus Wistar albino,* fêmeas, adultas (90 dias) provenientes do LabNE-UFF. Os animais foram mantidos em experimentação durante 60 dias, em gaiolas individuais de polipropileno, ambiente com temperatura controlada (22ºC +/- 2ºC) e iluminação adequada (ciclo claro e escuro de 12 em 12 horas).

Os animais foram distribuídos em grupos por sorteio aleatorizado. Posteriormente a esta etapa, os animais foram pesados e seu peso corporal analisado em software estatístico, aplicando análise de variância (*ANOVA*) e pós-teste (*Tukey*) para verificação da homogeneidade dos grupos (em relação à massa corporal inicial).

Foram formados seis grupos (n=5/grupo), da seguinte forma:

1- Grupo Controle (GC) - recebeu água filtrada e ração à base de caseína balanceada, em livre demanda. A ração controle foi elaborada de acordo com as recomendações da *American Institute of Nutrition* - AIN 93M que visa à manutenção das necessidades nutricionais dos animais em idade adulta.

2- Grupo Hiperlipídico (GH) - recebeu água filtrada e ração hiperlipídica (20,6%) à base de caseína, em livre demanda.

3- Grupo Molho de Tomate (GT) – recebeu o extrato de tomate - (1,5 g/dia), água filtrada e ração hiperlipídica (20,6%) à base de caseína, em livre demanda.

4- Grupo Licopeno – 2 mg (GL) – recebeu Licopeno *all-trans* WS (water soluble) 10% fornecido pela Roche (Rio de Janeiro, RJ, Brasil) dissolvido em água a 50ºC - (2,0 mg/dia), água filtrada ração hiperlipídica (20,6%) à base de caseína, em livre demanda

5- Grupo Licopeno – 4 mg (GL) – recebeu Licopeno *all-trans* WS (water soluble) 10% fornecido pela Roche (Rio de Janeiro, RJ, Brasil) dissolvido em água a 50ºC - (4,0 mg/dia), água filtrada ração hiperlipídica (20,6%) à base de caseína, em livre demanda

6- Grupo Licopeno – 8 mg (GL) – recebeu Licopeno *all-trans* WS (water soluble) 10% fornecido pela Roche (Rio de Janeiro, RJ, Brasil) dissolvido em água a 50ºC - (8,0 mg/dia), água filtrada ração hiperlipídica (20,6%) à base de caseína, em livre demanda

2.1 RAÇÕES E BEBIDAS OFERTADAS

2.2 Rações: Controle e Hiperlipídica

As rações controle e hiperlipídica que foram ofertadas para o consumo dos animais durante o experimento foram preparadas de 15 em 15 dias no LabNE-UFF por integrantes do grupo de pesquisa.

As Tabelas 1 e 2 apresentam respectivamente os ingredientes para a formulação das rações controle e hiperlipídica e suas composições químicas.

Ingredientes	Ração Controle	Ração Hiperlipídica
Caseína*	14,0	14,0
Amido	62,1	46,07
Óleo de soja	4,0	-
Banha de porco	-	20,0
Celulose	5,0	5,0
[1]Mix vitaminas	1,0	1,0
[2]Mix minerais	3,5	3,5
B-colina	0,25	0,25
L-cistina	0,18	0,18
Açúcar	10,0	10,0
Total	100	100

Tabela 1: Ingredientes utilizados para formulação das rações controle e hiperlipídica ofertadas no experimento (g/100g ração).

Legenda: (*) % de proteína da caseína = 92,5% proteína/100g caseína; [(1)] Mix de vitaminas (mg/Kg dieta): palmitato de retinol 2,4, colecalciferol 0,025, bissulfito sódico de benadiona 0,8, biotina 0,22, cianocobalamina 0,01, riboflavina 6,6, hidrocloreto de tiamina 6,6 e acetato de tocoferol 100; [(2)] Mix de minerais (g/Kg dieta): sulfato de cobre 0,1, molibdato de amônio 0,026, iodato de sódio 0,0003, cromato de potássio 0,028, sulfato de zinco 0,091, hidrogenofosfato de cálcio 0,145, sulfato de ferro amoniacado 2,338, sulfato de magnésio 3,37, sulfato de manganês 1,125, cloreto de sódio 4, carbonato de cálcio 9,89 e diidrogenofosfato de potássio 14,75.

	Ração Controle		Ração Hiperlipídica	
	%/100g ração	kcal/100g ração	%/100g ração	kcal/100g ração
Carboidrato	77,1	288,4	61,07	224,28w
Proteína	12,95	51,8	12,95	51,8
Lipídeo	4	36	20	180
Total	94,05	376,2	94,02	456,08

Tabela 2: Composição química das rações controle e hiperlipídica utilizadas no experimento

Legenda: (kcal) quilocaloricas**.**

2.2.1 Bebidas: água, molho de tomate e licopeno

Das bebidas ofertadas, a água filtrada foi oriunda do próprio laboratório de experimentação. O molho de tomate foi adquirido no comércio local e o β-caroteno e licopeno *all-trans* WS (water soluble) 10% fornecido pela Roche (Rio de Janeiro, RJ, Brasil) foi preparada no LabNE-UFF por membros do grupo de pesquisa dissolvendo o conteúdo em água filtrada a 50ºC e açúcar refinado (para oferecer palatabilidade à solução).

2.2.2 Eutanasia e Coleta de Amostras

Ao final do experimento, todos os animais foram submetidos ao procedimento de esfregaço vaginal para identificação de sua fase no ciclo estral. Esta determinação é necessária para que todos os animais estejam no mesmo momento fisiológico e, assim, não haja interferência hormonal nas análises bioquímicas e determinações teciduais posteriores. Após a verificação do ciclo estral, as ratas na fase “estro” do ciclo, foram separadas e mantidas em jejum (6h).

Após jejum, os animais foram devidamente anestesiados e eutanasiados.

O sangue foi coletado por punção cardíaca e reservadas para determinações bioquímicas. Todos os animais foram submetidos à laparotomia mediana para retirada do fígado. O tecido hepático foi imediatamente pesado e armazenado nas condições específicas de cada determinação bioquímica e histológica necessária.

2.2.3 Análise das transaminases, índice hepatossomático e da apoptose das células hepáticas

A quantificação das concentrações séricas de ALT e AST foi feita através do plasma dos animais e os resultados são expressos em U/L (unidades por litro).

O fígado foi pesado para determinação do índice hepatossomático, o qual é calculado conforme a fórmula:

[(Peso do Fígado(g) ÷ Peso Corporal) X 100]

Para a verificação da ocorrência de apoptose, uma amostragem (3 lâminas de cada grupo) será corada pela técnica descrita por Gavrieli *et al.* (1992), denominada "tunel", que identifica *in situ* a fragmentação do genoma característica das células em apoptose. Para tal, será utilizado um kit comercial TUNEL (Roche®) que identifica a apoptose baseado na incorporação de nucleotídeos marcados nos sítios de fragmentação do genoma pela ação da enzima deoxinucleotidil transferase terminal. Posteriormente, a inserção dos nucleotídeos é revelada pela reação da peroxidase com a diaminobenzidina. Todo o procedimento será realizado de acordo com o manual de instruções do fabricante.

3 I ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os dados serão tratados e apresentados a partir da estatística descritiva como média e desvio padrão. Análises de comparação de médias dentro do próprio grupo (antes *versus* depois) serão realizadas a partir da utilização do teste de hipóteses pareado (*t*-pareado). Para análises de comparação de médias entre os grupos, será utilizado *ANOVA* e *Tukey* como pós-teste.

Para tais análises será utilizado o *software GraphPad inStat* e, o nível de significância utilizado será de 5% ($p<0,05$).

4 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

A alta ingestão de gordura pela população gera um consumo aumentado de oxigênio, o que acarreta em elevada produção de radicais livres envolvidos na fisiopatologia de doenças inflamatórias e danos potenciais a proteínas, lipídios e ao DNA celular. Alterações na atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) são importantes marcadores de doenças ou lesão tecidual, especificamente no fígado. Dietas ricas em colesterol promovem um aumento no estresse oxidativo no fígado, resultando em um aumento na atividade dessas enzimas (Ozaki et al., 1995 e Kanhal et al., 2002).

A enzima ALT é específica para o dano hepático, como, por exemplo, esteatose, hepatites virais crônicas e doenças autoimunes. O aumento da enzima AST é consequente da degradação enzimática de diferentes tecidos, principalmente hepático (De Oliveira et al., 2014 e Colares et al, 2017).

No presente estudo, na avaliação das enzimas de integridade hepáticas realizada no plasma, podemos observar, na Tabela 1, um aumento significativo no GH (AST: 219,8±33,38 e ALT: 32,0 ± 1,38), comparado aos outros grupos GC (AST: 195,6±52,02 e ALT: 32,2±6,41), GMT (AST: 198,2±52,77 e ALT: 29,0±4,79), GL2 (AST: 177,8±41,80 e ALT: 28,0±5,43), GL4 (AST: 176,4±26,54 e ALT: 33,2±5,08), GL8 (AST: 168,6±28,86

e ALT: 27,4±6,06), com destaque na diminuição significativa destes valores quando feita a suplementação de licopeno de 8 e 2 mg, em relação aos GH e GC.

Corroborando com esses achados, Haraguchi e colaboradores (2009) observou que as dietas hipercolesterolemiantes promoveram aumento no peso do fígado, na atividade da alanima aminotransferase (ALT), asparato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina, concentração de proteínas totais e redução na concentração de albumina. Entretanto, o grupo que recebeu a dieta hipercolesterolêmica juntamente com a suplementação com as proteínas do soro, percebeu-se que houve um impedimento de forma significante do aumento da atividade da AST provocada pela dieta hipercolesterolemiante (Haraguchi et al, 2009).

Quando avaliamos o peso do fígado, percebemos que os grupos tratados com 2mg e 4mg de licopeno apresentaram o menor peso do fígado, inclusive quando comparados ao grupo controle. Todos os grupos apresentaram índice hepatossomático (g fígado/100g peso corporal) semelhante - GC (2,71±0,18), GH (2,76±0,13), GL2 (2,82±0,18), GL4 (2,75±0,21), GL8 (2,79±0,22) e GMT (2,74±0,19). Assim, não houve diferença significativa na avaliação do peso do fígado sobre o peso corporal dos animais.

	GC	GH	GT	GL2	GL4	GL8
Peso do Fígado	7,86g ± 1,12[a]	7,1g ± 1,34 [a]	8,5g ± 1,85 [a]	5,78g ± 0,86[b]	5,82g ± 0,95[b]	7,98g ± 1,16[b]
AST	195,6± 52,02[a]	219,8 ±33,38[a]	198,2 ± 52,7[a]	177,8 ± 49,8[a]	176,4 ± 26,5[a]	168,6 ± 28w,8[a]
ALT	32,6± 6,02[a]	38,0± 5,38[a]	29,0± 4,89[a]	28,0± 5,43[a]	33,2± 5,48[a]	27,4± 6,06[a]

Tabela 1. Análise das enzimas hepáticas (AST e ALT) e índice hepatossomático.

Uma sequência programada de acontecimentos leva à eliminação de células sem causar danos adjacentes aos tecidos, sendo o processo de apoptose o responsável por manter as células saudáveis, eliminando o excesso ou células anormais. Quando células anormais não conseguem sofrer apoptose, aumenta-se a probabilidade de ocorrer mutações, podendo tornar-se células carcinogênicas. Recentemente, vários em estudos *in vitro* com células humanas de câncer de próstata e linhagens de célula derivadas de outros tecidos, indicam que o licopeno é capaz de promover apoptose nestas células, apresentando assim potencial como um agente quimioterápico (Teodoro et al, 2009).

Os dados relacionados a avaliação da apoptose, estão mostrados na figura 1. Foi constatado um aumento bem expressivo de células em apoptose no GH (34,98 ± 7,78) quando comparado ao GC (9,18 ± 1,55). Após o tratamento com licopeno isolado (GL2 - 23,92 ± 8,74, GL4 - 13,58 ± 1,43 e GL8 -16,55 ± 3,06) e com molho de tomate (GMT- 19,02 ± 3,1), ocorreu uma diminuição acentuada no percentual de

células em apoptose em relação ao GH, onde o grupo que apresentou menor valor de células em apoptose foi o GL4.

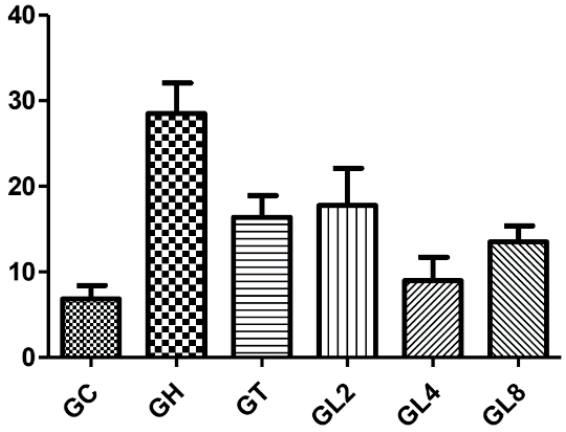

Figura 1. Morte celular por citometria de fluxo de células hepáticas de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica suplementadas com licopeno e molho de tomate.

Esses achados sugerem, que a suplementação com licopeno promoveu uma proteção nas células agredidas pela dieta hiperlipídica, fazendo com que os valores regredissem para próximos ao do grupo controle.

No ponto de vista da forma química, o licopeno isolado utilizado foi o *trans* e no molho de tomate encontramos a forma *trans* e *cis*. O metabolismo e a biotransformação de carotenóides têm sido investigados *in vivo*, mas a maioria dos estudos tem sido dedicada ao beta-caroteno, sendo alguns poucos utilizando o licopeno. Apesar dos isômeros *cis* atingirem mais de 50% do total do licopeno sérico e em tecidos humanos, o licopeno é encontrado na maioria dos alimentos fontes sob a forma *trans* (Stahl *et al.*, 1992; Clinton, 1998; Boileau *et al.*, 2002). Uma isomerização do licopeno no estômago, como resultado do baixo pH, pode ser parcialmente responsável pela produção dos isômeros *cis* (Moraru, *et al.*, 2005). A alta concentração tecidual de isômeros *cis* levanta a questão de saber se eles podem ser mais biodisponíveis e/ou mais bioativos quando comparados a forma *trans*. Isto tem sido apoiado por estudos que mostraram uma captação preferencial de isômeros *cis* em vários tecidos, incluindo enterócitos, seguido da transferência para linfonodos e a posterior liberação para a circulação sistêmica, ampliando seus efeitos (Boileau *et al.*, 2002).

Apesar destes estudos, a participação do licopeno na modulação e proteção contra danos hepáticos ainda permanece obscura. Necessitando de mais estudos para completa compreensão dos seus efeitos nas células hepáticas.

5 I CONCLUSÃO

As evidências apresentadas neste trabalho sugerem que o licopeno promoveu uma melhora da resposta das enzimas transaminases e da resposta celular através da

redução de apoptose, sugerindo efeito hepatoprotetor contra modificações celulares causadas pela dieta hiperlipídica.

REFERÊNCIAS

Alegría-Ezquerra, E.,Vázquez, J. M. C., Barrero, A. A. Obesidad, síndrome metabólico y diabetes: implicaciones cardiovasculares y actuación terapéutica. ***Revista Española de Cardiología,*** v. 61, n. 7, p. 752-764. 2008.

Barreiros, A.L.B.S & David, J.M, David, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. ***Quim Nova,*** v.29, n. 1, p.113-123, 2006.

Bataller R, Brenner Da. Liver fibrosis. **J Clin Invest;**115:209–218; 2005.

Boileau, T.W.M., Boileau, A.C., Erdman, J.W. Jr. Bioavailability of all-trans and cis-isomers of lycopene. ***Biol. Med.*** 227:914–919. 2002.

Bohm, V. & Bitsch, R. Intestinal absorption of lycopene from different matrices and interactions to other carotenoids, the lipid status, and the antioxidant capacity of human plasma. ***Eur. J. Nutr.*** 38:118-125, 1999.

Braga, M., Vignali, A., Gianotti, L., Zuliani, W., Radaelli, G., Gruarin, P., Dellabona, P., and Di Carlo, V. Laparoscopic versus open colorectal surgery: a randomized trial on short-term outcome. **Ann Surg.** 236(6): 759–767, 2002.

Bohm, V., Frohlich, K., Bitsch, R. Rosehip – a “new” source of lycopene?. ***Molecular Aspects of Medicine.*** 24:385-389, 2003.

Bucchieri, F., Pubbicomb, S.M., Lordan, J.L., Richter, A., Buchanan, A., Wilson, S.J., Ward, J., Zummo, G., Howarth, P.H., Djukanoviae, R., Holgate, S.T., Davies, D.E. Asthmatic bronchial epithelium is more susceptible to oxidant-induced apoptosis. ***Am. J. Resp. Cell Mol. Biol***., v.27, n.2, p.179-85, 2002

Carús, J.P.; França, G.V.A.; Barros, A.J.; Place and type of meals consumed by adults in medium sized cities. ***Rev Saúde Publica.*** v. 48, n. 1, p.68-75, 2014

Cave, M., Deaciuc, I., Mendez, C., Song, Z., Joshi-Barve, S., Barve, S., & Mcclain, C., Nonalcoholic fatty liver disease: predisposing factors and the role of nutrition, ***Journal of Nutritional Biochemistry,*** v.18, n. 3, p. 184-195, 2007

Charbonneau, A., Unson, C.G., Lavoie, J.M. High-fat diet-induced hepatic steatosis reduces glucagon receptor content in rat hepatocytes: potential interaction with acute exercise. ***The Journal of physiology***, v. 579, n. 1, p. 255-267, 2007

Chen J, He J, Hamm L, Baterman V, Whelton PK. Serum antioxidant vitamins and blood pressure in the United State population. **Hypertation,** 40(4):810-16, 2002.

Clinton, S.K. Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. ***Nutr. Rev.*** 56:35–51.1998.

Colares. J.R., Fernandes, S.A., Schemitt, e. g., Hartmann, r.m., Marroni, c.a. e Marroni. n.a.p. Ação da melatonina sobre as alterações nutricionais e morfológicas de ratos com cirrose biliar secundária induzida pela ligadura de ducto biliar. **Fundamentos da Nutrição**. Atena Editora, p 24-39; 2017.

De Oliveira, C. R. et al. Efecto de la quercetina sobre la lesión hepática inducida por bifenilos

policlorados en ratas. **Nutrición Hospitalaria**, v. 29, n. 5, p. 1141-1148, 2014.

Diehl, J.A. Cycling to cancer with cyclin D1. ***Cancer Biol Ther.,*** v. 1, n.3, p. 226–231, 2002

França, B. K., Alves, M. R. M., Souto, F. M. S., Tiziane, L., Boaventura, R. F., Guimarães, A., & Alves, A. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. ***J Port Gastrenterol.*** v. 20, n. 5, p. 199-206, 2013.

Fraser P.D. & Bramley, P.M. The biosynthesis and nutritional of carotenoids. ***Progress in Lipid Research***. 43:228-265, 2004.

Gavrieli, Y., Sherman, Y., Ben-Sasson, S.A. Identification of programmed cell death *in situ* via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. ***J. Cell Biol.,*** v.119, n. 3, p. 493-501, 1992

Geraldo, J.M. & Alfenas, R.C.G. Papel da Dieta na Prevenção e no Controle da Inflamação Crônica – Evidências Atuais, ***Arq Bras Endocrinol Metab,*** v. 52, n. 6, p. 951-967, 2008

Ghanim H.; Sia Cl.; Upadhyay M.; Korzeniewski K.; Viswanathan P.; Abuaysheh S.; Mohanty P.; Dandona P. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of high-fat, high- carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and Toll-like receptor expression, ***The American journal of clinical nutrition***, v. 91, n. 4, p. 940-949, 2010

Giehl, M. R., Bosco, S. M. D., Laflor, C. M., & Weber, B. Eficácia dos flavonóides da uva, vinho tinto e suco de uva tinto na prevenção e no tratamento secundário da aterosclerose. ***Sci med,*** v. 17, n. 3, p. 145-155, 2007

Gonçalves CS, Pereira FEL. Tumores do fígado. In: Dani R, Castro LP, editores. **Gastroenterologia clínica**. 3a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 1455-80, 1993.

Hadley, C.W. et al. Tomatoes, lycopene, and prostate cancer: progress and promise. *Exp. Biol. Med.* 227:869-880, 2002.

Halliwell B. & Gutteridge J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine**. New York: Oxford University Press,** v. 3, p. 1-543, 2000

Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine., **New York: Oxford University Press**, v.4, p1-543, 2007.

Hantz, H.L., Young, L.F., Martin, K.R. Physiologically attainable concentrations of lycopene induce mitochondrial apoptosis in LNCaP human prostate cancer cells. ***Exp. Biol. Med***. 230:171–179. 2005.

Haraguchi, F.K., PEdrosa, M.L., de Paula, H. Santos, R.C., Silva, M.E. Influência das proteínas do soro sobre enzimas hepáticas, perfil lipídico e formação óssea de ratos hipercolesterolêmicos**. Rev. Nutr., Campinas**, 22(4):517-525, jul./ago., 2009.

Hellemans, K. et al. All trans and 9-cis retinoic acid alter rat hepatic stellate cell phenotype differentially. ***Gut.*** 45:134-142, 1999.

Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J* ***Gastroenterol Hepatol,*** v.15, n.7, p. 718-724, 2000

Jian-Gao, F. & Qiao, L. Commonly used animal models of non-alcoholic steatohepatitis, **Hepatobiliary Pancreat Dis Int**, v. 8, n. 3, p. 233-240, 2009

Kaklamani E, Trichopoulos A, Tzonou A, Zavitsanos X, Koumantaki Y, Hatzakis A, et al. Hepatitis B and C viruses and their interaction in the origin of hepatocellular carcinoma. **JAMA**; 265:1974-6, 1991.

Kanhal MA, Ahmad F, Othman AA, Arif Z, Orf S, Murshed KS. Effect of pure and oxidized cholesterol-

RICH DIET ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN RATS. **INT J FOOD SCI NUTR.** 2002; 53(5): 381-8.

Kisseleva T, Brenner Da. Mechanisms of fibrogenesis. **Exp Biol Med** (Maywood); 233:109–122; 2008.

Laires, M.J., Monteiro, C.P., Ferreira, A.M. Stress oxidativo: papel dos micronutrientes antioxidantes. ***Rev Port Med Desportiva.*** v.19, p.43-62, 2001

Lau, F. C., Shukitt-Hale, B., & Joseph, J. A. The beneficial effects of fruit polyphenols on brain aging. ***Neurobiol.*** *Aging*, v.26, n.1, p.128–132, 2005

Leifert, W.R. & Abeywardena, M.Y. Cardioprotective actions of grape polyphenols. ***Nutrition Research***, v. 28, n. 11, p. 729-737, 2008

Levy, R. B., Claro, R. M., Mondini, L., *et al.* Distribuição regional e socioeconômica da disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil em 2008-2009. *Rev.* ***Saúde Pública***. v. 46, n. 1, p. 6-15, 2012

Lucile Tiemi, A.B.E., Da Mota, R. V., Lajolo, F. M., & Genovese, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca L.* e *Vitis vinifera L.* ***Ciênc. Tecnol. Aliment,*** v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007

Luz, H. K. M., Wanderley, L. S., Faustino, L. R., Da Silva, C. M. G., De Figueiredo, J. R., & Rodrigues, A. P. R. Papel de agentes antioxidantes nacriopreservação de células germinativas e embriões. ***Acta Sci-entiae Veterinariae***, v. 39, n. 2, p. 1-13, 2011

Machado, D. F., Ferreira, C. L. L. F., Costa, N. M. B., & Oliveira, T. T. Efeito de probiótico na modulação dos níveis de colesterol sérico e no peso do fígado de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido cólico. ***Ciênc Tecnol Alim,*** v. 23, n. 2, p. 270-275, 2003

Mcelroy, D.A. Methyl Green-Pyronin Method For Dna And Rna. In: Prophet, E.B., Mills, B., Arrington, J.B. & Sobin, L.H. **Laboratory methods in histotechnology**, *American Registry of Pathology*, p.143-144, 1992

Mclellan, K. C. P., Barbalho, S. M., Cattalini, M., & Lerario, A. C Diabetes mellitus do tipo 2, síndrome metabólica e modificação no estilo de vida. ***Rev Nutr,*** v. 20, n. 5, p. 515-24, 2007

Middleton, E.; Kandaswami, C.; Theoharides, T.C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. ***Pharmacological reviews***.v.52, n.4, p.673-751, 2000

Monteiro, C.A., Levy, R.B., Claro, R.M., Castro, I.R.R., Cannon, G., A new classification of foods based on the extent and purpose of their processing, ***Cad. Saúde Pública***, v. 26, n. 11, p.2039-2049, 2010

Moraes, S.A., Alves, S.B. Quantificação de inoculo de patógenos de insetos. In: ALVES, S.B. (Coord.) Controle Microbiano de Insetos. **Manole,** São Paulo, cap. 14, p. 278- 288, 1986.

Moraru, C. & Lee, T.C. Kinetic studies of lycopene isomerisation in a tributyrin model system at gastric pH. ***J. Agric. Food.*** *Chem.* 53:8997–9004. 2005.

Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. ***Journal of immunological methods,*** v. 65, n. 1, p. 55-63, 1983.

Oliveira M.C. & Schoffen, J.P.F.S. Oxidative Stress Action in Cellular Aging, ***Braz. Arch. Biol. Technol.*** v.53, n. 6, p. 1333-1342, 2010.

Olthof Mr, Hollman Pch, And Katan Mb: Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. **American Society for Nutritional Sciences** 131, 66–71, 2000.

Omoni, A.O. & Aluko, R. E. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. *Trends in Food Science & Technology.* 1-7, 2005.

Ozaki M, Fuchinoue S, Teraoda S, Ota K. The in vivo cytoprotection of ascorbic acid against ischemia/ reoxygenation injury of rat liver. **Arch Biochem Biophys**. 1995; 318(2):439-45. 29.

Parker, R.S. absorption, metabolism, and transport of carotenoids. ***FASEB J.*** 10:542-551, 1996.

Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009 **/ Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil.** Coordenação de Trabalho e Rendimento. - Rio de Janeiro : IBGE, 2011. 150 p.

Pereira, R.J. & Cardoso M.D.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. ***Journal of Biotechnology and Biodiversity***, v.3, n. 4, p.146-52, 2012.

Peres, W.A.F.P., Paula, T.P., Silva, R.A.R.N.,Coelho, H.S.. A atuação da vitamina A e carotenóides na hepatocarcinogênese **Revista Brasileira de Cancerologia,** 49(2): 113-120, 2003.

Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, E C. Riceevans. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. ***Free Radical Biology & Medicine,*** v. 26, n. 9, p. 1231-1237, 1999

Rodrigues, H. G., Diniz, Y. S. A., Faine, L. A., Almeida, J. A., *et al.* Nutritional supplementation with natural antioxidants: effect of rutin on HDL-cholesterol concentration. ***Revista de Nutrição,*** v.1, n. 3, p. 315-320, 2003

Rufino, M. Do S.M; Alves, R.E; Brito E.De S; Morais, S.M. De; Sampaio, C. De G; Perez-Jimenez, J; Sauura-Calixto, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, p. 128, 2007

Shami, N.J. I. & Moreira, E.A.M. Licopeno como agente antioxidante. ***Rev. Nutr.*** **Campinas**. 17(2):227-236, 2004.

Schinoni, M. I. Fisiologia hepática. ***Gazeta Médica da Bahia,*** v.76, n.2, p.5-9, 2008

Seifert WF, Bosma A, Hendriks HF, van Leeuwen RE, van Thiel-de Ruiter CG, Seifert-Bock I, et al. Beta-carotene (provitamina A) decreases the severity of CCL4-induced hepatic inflammation and fibrosis in rats. **Liver**; 15(1):1-8, 1996.

Sherman M, Campbell JAH, Titmuss AS, Kew MC, Kirsch RE. Glutathione S-transferase in human hepatocellular carcinoma. **Hepatology**; 3:170-6, 1983.

Sies, H., Schewe, T., Heiss, C., Kelm, M. Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. ***Am J Clin Nutr***., v. 81, n. 1, p.304-312, 2005

Silver, H.J., Dietrich, M.S., Niswender, K.D. Effects of grapefruit, grapefruit juice and water preloads on energy balance, weight loss, body composition, and cardiometabolic risk in free-living obese adults. ***Nutr. Metab***., v. 8, n. 8, 11p, 2011

Sun, K., Wang, Q., Huang, X.H. PPAR gamma inhibits growth of rat hepatic stellate cells and TGF beta-induced connective tissue growth factor expression. ***Acta Pharmacol. Sin.*** v. 27, n.6, p. 715-723, 2006.

Stahl, W., Schwarz, W., Sundquist, A.R., Sies, H. Cis-trans isomers of lycopene and beta-carotene in human serum and tissues. ***Arch. Biochem. Biophys***. 294:173–177. 1992.

Tapiero, H., Townsend, D.M., Tew K.D. The role of carotenoids in the prevention of human patologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 58:100-110, 2004.

Teebor GW, Becker FF. Regression and persistance of hyperplastic hepatic nodules induced by N-2fluorenyacetamide and their relationship to hepatocarcinogenesis. **Cancer Res**; 31:1-3, 1981.

Teodoro, A. J. et al. Effect of lycopene on cell viability and cell cycle progression in human cancer cell lines. **Cancer Cell Int,** v. 12, n. 1, p. 36. ISSN 1475-2867, 2012.

Teodoro, A. J. et al. Lycopene isomerisation and storage in an in vitro model of murine hepatic stellate cells. **Eur J Nutr,** v. 48, n. 5, p. 261-8. ISSN 1436-6215, 2009.

Upadhyaya Kr, Radha Ks, And Madhyastha Hk: Cell cycle regulation and induction of apoptosis by beta-carotene in U937 and HL-60 leukemia cells. **J Biochem Mol Biol 40**, 1009–1015, 2007

Venturini, C.D., Merlo, S., Souto, A.A., Fernandes, M.C., Gomez, R.; Rhoden, C.R. Resveratrol and red wine function as antioxidants in the central nervous system without cellular proliferative effects during experimental diabetes. ***Oxid. Med. Cell. Longev.*** v.3, n. 6, p. 434–441, 2011

Yu MC, Yuan JM, Govindarajan S, Ross RK. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. **Can J Gastroenterol**; 14:703-9, 2000.

Zern, T.L. & Fernandez, M.L. Cardioprotective effect of dietary of polyphenols. ***J. Nutr***., v.*135*, n. 10, p. 2291–2294, 2005

CAPÍTULO 6

ENCAPSULAÇÃO DE VITAMINA D PARA APLICAÇÃO EM ALIMENTOS

Ana Paula Zapelini de Melo
Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Florianópolis – Santa Catarina

Cleonice Gonçalves da Rosa
Universidade do Planalto Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ambiente Saúde.
Lages – Santa Catarina

Michael Ramos Nunes
Instituto Federal de Santa Catarina – Câmpus Lages
Lages – Santa Catarina

Carolina Montanheiro Noronha
Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Florianópolis – Santa Catarina

Pedro Luiz Manique Barreto
Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Florianópolis – Santa Catarina

RESUMO: A vitamina D, hormônio esteroide, lipossolúvel, pode ser encontrado sob duas formas distintas, a vitamina D_2 (ergocalciferol) e D_3 (colecalciferol). No organismo humano a vitamina D_3 apresenta potencial biológico superior quando comparada a D_2. A vitamina D_3, é encontrada em peixes gordurosos de água fria e profunda, gema de ovos ou obtida através de suplementos fortificados. No entanto, a principal fonte da vitamina D_3 é através da exposição à luz solar. A hipovitaminose D pode gerar desordens esqueléticas como raquitismo, osteomalácia e doenças como câncer, diabetes, hipertensão, doenças autoimunes e cardiovasculares. Apesar da ingestão diária de vitamina D_3 ainda não ter sido estabelecida consensualmente, seus valores são improváveis de serem obtidos exclusivamente pela alimentação, bem como pela exposição solar. Embora exista um crescente interesse na fortificação de alimentos e bebidas com vitamina D, existe uma série de desafios relacionados com este enriquecimento, incluindo baixa solubilidade em água, degradação química quando exposto a luz, calor e oxigênio, biodisponibilidade oral variável, além de fácil degradação sob condições estomacais quando desprotegida. Diante destes desafios é necessário adotar estratégias de preservação para aplicação em produtos alimentícios fortificados, dentre elas pode-se destacar a tecnologia de nanoencapsulação, uma abordagem promissora, que fornece proteção aos compostos sensíveis, além de controlar a liberação dos mesmos. A presente revisão aborda aspectos relativos **à** vitamina D: seu metabolismo, a hipovitaminose e sua suplementação. A presente revisão também aborda a nanoencapsulação da vitamina D,

visando aumentar sua estabilidade e uma possível aplicação em alimentos fortificados.
PALAVRAS-CHAVE: Vitamina D. Encapsulação. Fortificação.

ABSTRACT: Vitamin D, a steroid, fat-soluble hormone, can be found in two distinct forms, vitamin D_2 (ergocalciferol) and D_3 (cholecalciferol). In the human organism vitamin D_3 presents superior biological potential when compared to D_2. Vitamin D_3, is found in fatty fish from deep and cold water, egg yolk or obtained through fortified supplements. However the main source of vitamin D_3 is through exposure to sunlight. Hypovitaminosis D can cause skeletal disorders such as rickets, osteomalacia and diseases such as cancer, diabetes, hypertension, autoimmune and cardiovascular diseases. Although the daily intake of vitamin D has not yet been established consensually, its unlikely values are obtained exclusively by diet as well as sun exposure. Although there is a growing interest in the fortification of foods and beverages with vitamin D, there are a number of challenges related to this enrichment, including low solubility in water, chemical degradation when exposed to light, heat and oxygen, variable oral bioavailability, and easy degradation under conditions of the stomach when unprotected. In view of these challenges, it is necessary to adopt preservation strategies for application in fortified food products, among them it is possible to highlight nanoencapsulation technology, a promising approach, which provides protection to sensitive compounds, besides controlling the release of them. The present review addresses aspects related to vitamin D: its metabolism, hypovitaminosis and its supplementation. The present review also addresses the nanoencapsulation of vitamin D, aiming to increase its stability and a possible application in fortified foods.
KEYWORDS: Vitamin D. Encapsulation. Fortification.

1 I INTRODUÇÃO

A vitamina D, é uma vitamina lipossolúvel, de natureza esterólica e considerada um precursor hormonal, pode ser encontrado sob duas formas distintas, a vitamina D_2 (ergocalciferol), obtida pelo consumo de plantas, fungos e alguns invertebrados, e a vitamina D_3 (colecalciferol), presente em peixes gordurosos de água fria e profunda, gema de ovos, suplementos fortificados e também pela síntese cutânea, através da exposição a luz solar (KASALOVÁ et al., 2015; CASTRO, 2011).

A carência de vitamina D é evidente em diversas partes do mundo, mesmo em regiões ensolaradas, causadas por diferentes motivos como, por exemplo, falta de exposição à luz solar, dietas inadequadas, estilo de vida, dentre outros (WALIA et al., 2017; STRATULAT et al., 2015). Tal deficiência contribui para o risco de doenças ósseas e crônicas em todas as faixas etárias (CASHMA, 2015).

Desta forma há um grande interesse em fortificar alimentos e bebidas com esta vitamina (CABALLERO; FINGLAS; TOLDRÁ, 2016). Porém alguns desafios estão associados à fortificação de alimentos, visto que a vitamina D é altamente sensível

a estresses ambientais e pode facilmente perder sua funcionalidade e benefícios fisiológicos (PARK et al, 2017; OZTURK et al., 2015).

Para superar condições adversas e preservar as características dos compostos bioativos durante o processamento e armazenamento de alimentos, são adotadas estratégias para minimizar estes efeitos. A técnica de encapsulação utilizando sistemas poliméricos de liberação controlada mostra-se adequada para proteção e entrega de vitaminas, no momento e quantidade desejados (KATOUZIAN; JAFARI, 2016; MOZAFARI et al., 2008).

Esta revisão tem como objetivo descrever importantes aspectos relacionados à vitamina D, incluindo seu metabolismo, deficiência, bem como ferramentas adequadas para fortificação de produtos alimentícios.

2 I VITAMINA D

As vitaminas são um grupo de compostos orgânicos essenciais para o funcionamento e manutenção do organismo (SCHIEFERDECKER; THIEME; HAUSCHILD, 2015).

São agrupadas de acordo com a sua solubilidade, em hidrossolúveis (do complexo B e C) e as lipossolúveis (A, D, E e K) (MCCREATH; DELGODA, 2017). Esta classificação irá refletir na biodisponibilidade destes compostos, incluindo comportamento, absorção, transporte e armazenamento no organismo (SIZER; WHITNEY, 2003).

Em geral, as vitaminas são absorvidas por meio da ingestão de alimentos, com exceção da vitamina D que também pode ser sintetizada de forma endógena (GALANAKIS, 2017).

A vitamina D foi descoberta entre os anos de 1919 - 1924, em 1930 foi constatado que a exposição da pele aos raios ultravioleta formaria o colecalciferol, e que através deste mecanismo os níveis adequados desta vitamina seriam mantidos (PREMAOR; FURLANETTO, 2006). Em meados de 1971, Norman, Kodicek e colaboradores (1971) descobriram a forma ativa desta vitamina e neste mesmo ano Holick e colaboradores (1971), isolaram e identificaram sua estrutura.

Pode ser encontrada sob duas formas distintas, o ergocalciferol chamado de vitamina D_2 e o colecalciferol a vitamina D_3 (Figura 1) (GONNET; LETHUAUT; BOURY 2010).

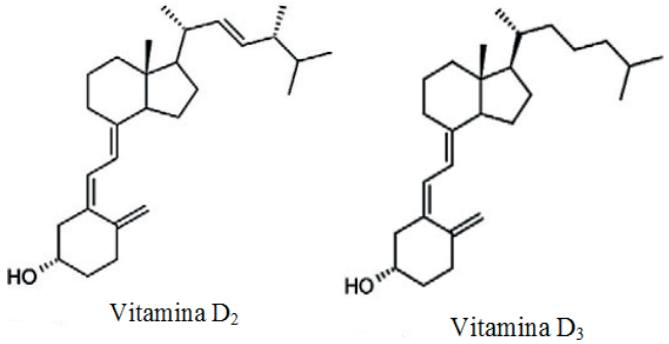

Figura 1 - Estrutura química da vitamina D_2 e vitamina D_3

Fonte: Adaptado de Gonnet, Lethuaut e Boury (2010).

As vitaminas D_2 e D_3 são encontradas em um número limitado de alimentos (Tabela 1) (CABALLERO; FINGLAS; TOLDRÁ, 2016). As principais fontes de vitamina D_2 são as plantas, fungos e alguns invertebrados, esta vitamina é sintetizada pela exposição à radiação ultravioleta do tipo UVB, em comprimento de onda de 290 a 315 nm, sob o esteroide vegetal ergosterol (KASALOVÁ et al., 2015; LEE et al., 2008). Enquanto a vitamina D_3 é encontrada em peixes gordurosos de água fria e profunda, como, salmão, atum, sardinha (CASTRO, 2011), óleo de fígado de bacalhau (STRATULAT et al., 2015), gema de ovos (BOREL; CAILLAUD; CANO, 2013) ou obtida através de suplementos fortificados (DAVID; LIVNEY, 2016; *MCCREATH; DELGODA,* 2017). No entanto, a principal fonte da vitamina D_3 é sua síntese de forma endógena, ou seja, através da exposição à luz solar (ZIANI; FANG; MCCLEMENTS, 2012).

As formas da vitamina D, não diferem somente nas fontes de origem, mas também na suas estruturas químicas. A Vitamina D_2 apresenta 28 carbonos na estrutura (um a mais que a D_3), uma ligação dupla extra entre os carbonos 22 e 23 e um grupamento metil adicional na cadeia lateral, além de apresentar um terço ou metade do potencial biológico quando comparada com a D_3 (OZTURK et al., 2015).

Fonte	Teor de vitamina D aproximado (UI*/g)
Salmão, fresco e selvagem	600 a 1.000 UI/100 g de vitamina D_3
Salmão, fresco, de criadouro	100 a 250 UI/100 g de vitamina D_3 ou D_2
Salmão, enlatado	300 a 600 UI/100 g de vitamina D_3
Sardinhas, enlatadas	300 UI/100 g de vitamina D_3
Atum, enlatado	236 UI/100 g de vitamina D_3
Óleo de fígado de bacalhau	400 a 1.000 UI/100 g de vitamina D_3
Cogumelos shitake frescos	100 UI/100 g de vitamina D_2
Cogumelos shitake desidratados	1.600 UI/100 g de vitamina D_2
Gema de ovo	20 UI/gema de vitamina D_3 ou D_2

Tabela 1 - Fontes de vitamina D.*UI: Unidades Internacionais. 1 UI = 0,025 mg.

Fonte: Adaptado de Holick (2012).

2.1 Metabolismo da Vitamina D

O metabolismo de absorção da vitamina D, ocorre por intermédio de exposição fotolítica. O raio UVB converte o composto 7-dehidrocolesterol (7-DHC) em pré-vitamina D_3 na superfície da epiderme humana, resultando em uma isomerização térmica e assim formando o colecalciferol (vitamina D_3) que possui uma configuração espacial mais estável (STRATULAT et al., 2015).

O ergocalciferol e o colecalciferol são biologicamente inativos, e necessitam que haja duas hidroxilações sequenciais para que sejam convertidos em formas metabólicas ativas. A via metabólica da vitamina D (Figura 2) inicia-se no fígado, onde ocorre a primeira hidroxilação, pela enzima 25-hidroxilase, formando 25-hidroxivitamina D ou 25(OH)D, chamado de calcidiol ou calcifediol, metabólito inativo da vitamina. Posteriormente, no rim haverá a segunda hidroxilação, pela 1-α-hidroxilase, para formar 1α,25-dihidroxivitamina D ou $1,25(OH)_2D$, o calcitriol, a forma biologicamente ativa da vitamina D (KASALOVÁ et al., 2015; CASTRO, 2011; HOLICK, 2007).

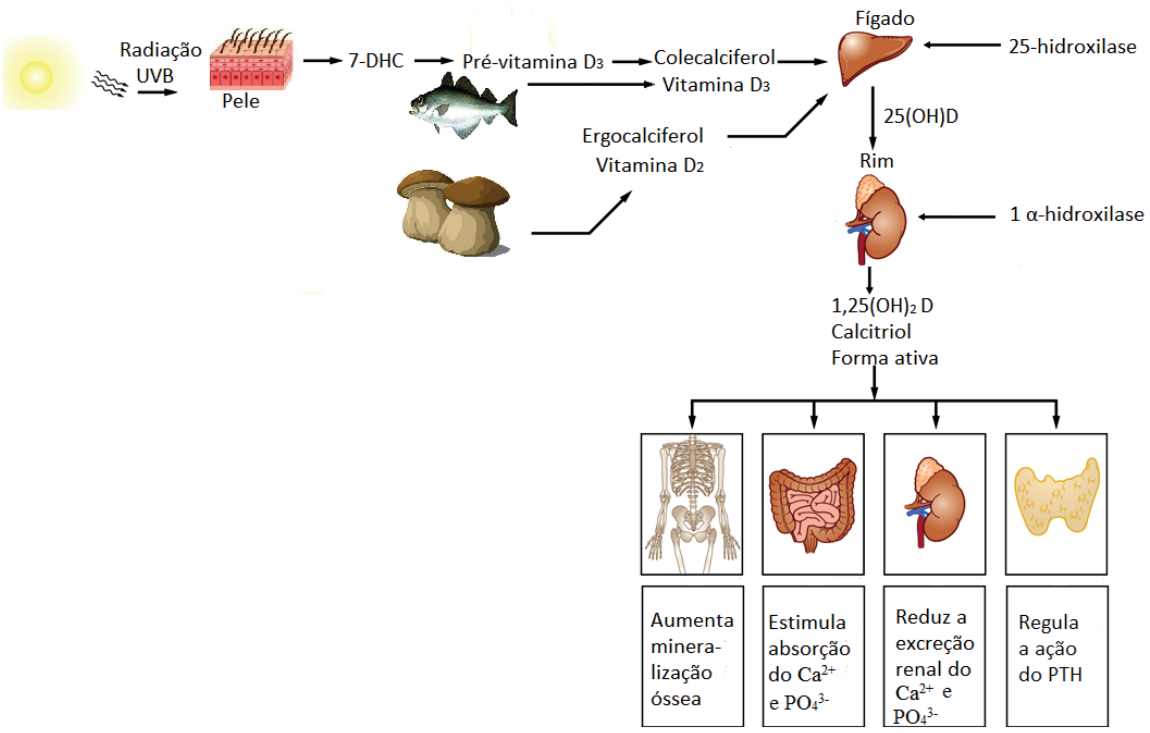

Figura 2 - Metabolismo da vitamina D.

Fonte: Adaptado de Raff e Levitzky (2013).

Através de um receptor de esteroide localizado nos intestinos, ossos, rins e na glândula paratireoide, a $1,25(OH)_2D$ atua na regulação e modificação óssea, na absorção de cálcio e fosfato no intestino (sua principal função), no aumento e reabsorção de cálcio e fosfato nos rins, além de regular a ação do paratormônio (PTH) pelas glândulas paratireoides (RAFF; LEVITZKY, 2013).

Através de proteínas presentes nos enterócitos (células epiteliais intestinais), a forma ativa da vitamina irá atuar no intestino possibilitando a absorção ativa e passiva de Ca^{2+} e PO_4^{3-} no jejuno e duodeno, respectivamente (BLANCO; BLANCO, 2017;

LICHTENSTEIN et al., 2013).

Nos rins, a forma ativa da vitamina reduz a excreção dos íons cálcio e fosfato, devido ao aumento da reabsorção destes nos túbulos distais (CASTRO, 2011).

A síntese da 1,25$(OH)_2$D é estimulada pelo paratormônio e pelos níveis de cálcio e fosfato do sangue, ou seja, um decréscimo de vitamina D irá induzir a ação do PTH, desta forma, regulando a absorção sérica de Ca^{2+} e PO_4^{3-} (BLANCO; BLANCO, 2017).

2.2 Hipovitaminose D

A hipovitaminose consiste na carência de uma ou mais vitaminas essenciais no organismo. A hipovitaminose D teve sua predominância após a Revolução Industrial no norte da Europa, onde a queima de carvão e madeira encobria a atmosfera e criava uma barreira à exposição solar direta na epiderme, desta forma, gerando desordens esqueléticas, como o raquitismo em crianças e a osteomalácia em adultos (WALIA et al., 2017; HOLICK, 2007).

O raquitismo é caracterizado pela redução da mineralização da placa epifisária (ou placa de crescimento), e leva a anormalidades esqueléticas, que variam de acordo com a idade do indivíduo e o estágio da doença (CHIBUZOR et al., 2017). Na osteomalácia, manisfestada apenas em adultos, a placa de crescimento já está fechada e o distúrbio ocorre quando a matriz óssea não é mineralizada e os osteoclastos continuam a reabsorção da matriz óssea, desta forma, a parte mineralizada do osso torna-se mais delgada. Neste caso, as deformidades esqueléticas são mais brandas e só irão aparecer em estágios muito avançados da doença (PREMAOR; FURLANETTO, 2006).

Embora a vitamina D esteja diretamente envolvida com demandas ósseas, sua deficiência também foi relacionada com doenças como, câncer, diabetes, hipertensão, doenças autoimunes e cardiovasculares (PARK et al., 2017; KATOUZIAN; JAFARI, 2016),

A deficiênia de vitamina D no organismo pode ser consequência de diversos fatores, como por exemplo, a localização geográfica, onde quanto mais afastado é o local da linha do Equador, maior é a espessura da camada atmosférica, assim, dificultando a entrada dos raios ultravioleta (WALIA et al., 2017; CABALLERO; FINGLAS; TOLDRÁ, 2016). A variação da quantidade dos raios solares também é modificada de acordo com a sazonalidade, ou seja, inferiores principalmente em meses de inverno (CASTRO, 2011).

Outra variável que pode estar relacionada com esta deficiência é a quantidade de melanina presente na epiderme, indivíduos com pele mais escura, necessitam de uma maior exposição aos raios ultravioleta para sintetizar uma quantidade suficiente da vitamina (GUTTOFF; SABERI; MCCLEMENTS, 2015; LEE et al., 2008).

A faixa etária também é considerada fator determinante para síntese da vitamina, a epiderme e derme tendem a apresentar um afinamento devido aos processos de

envelhecimento e consequentemente as reservas de 7-DHC também são reduzidas (HOLICK, 2004).

A eficácia da síntese cutânea também pode ser determinada por outros fatores como por exemplo, estilo de vida, uso extensivo de protetor solar, dieta inadequada, restrições alimentares, dentre outros (WALIA et al., 2017; STRATULAT et al., 2015).

2.3 Suplementação e Recomendações Diárias de Vitamina D_3

O melhor biomarcador para avaliar o estado de vitamina D nos indivíduos, é através dos níveis séricos de 25(OH)D, pois reflete a quantidade do precursor disponível para ser sintetizada (TANG; EPSTEIN, 2011), além de mensurar a vitamina obtida pela dieta e exposição solar (REBELO-MARQUES et al., 2017).

Por meio desta avaliação é possível diagnosticar insuficiência, deficiência ou uma possível toxicidade (hipercalcemia) da vitamina (HEUREUX, 2017). Casos de intoxicação são extremamente raros, e normalmente causados por ingestão inadequada ou quantidades excessivamente elevadas de vitamina D (PETERS; MARTINI, 2014).

Os níveis séricos ideais de vitamina D ainda não estão em concordância na literatura, a princípio são considerados excelentes aqueles que mantêm os níveis de PTH de forma adequada no organismo (LICHTENSTEIN et al., 2013). Os critérios mais utilizados são da *Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets, Endocrine Society Clinical Practice Guideline* e *American Academy of Pediatrics* (Tabela 2).

Diagnósticos	***Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets***	***Endocrine Society Clinical Practice Guideline***	***American Academy of Pediatrics***
	Níveis séricos de 25(OH)D (ng/mL)		
Suficiência	> 20	30-100	21-100
Insuficiência	12-20	21-29	16-20
Deficiência	< 12	< 20	< 15
Toxicidade	> 100	> 100	> 150

Tabela 2 - Definição de suficiência, insuficiência, deficiência e toxicidade de vitamina D (1 ng/mL = 2,5 nmol/L).

Fonte: Munns e colaboradores (2016), Holick e colaboradores (2011), Misra e colaboradores (2008).

Este tipo de diagnóstico é utilizado para identificar os indivíduos que necessitam de suplementação para alcançar níveis ideais da vitamina, e assim auxiliar no tratamento de doenças relacionadas com a hipovitaminose (HEUREUX, 2017).

As recomendações diárias de ingestão de vitamina D também não são consensuais na literatrura, e podem ser superiores às recomendadas pela ANVISA e FAO. De maneira geral, os indivíduos que não conseguem sintetizar a vitamina em

quantidades suficientes devem adequar o seu nível de acordo com a faixa etária, gestação ou lactação (Tabela 3) (BRASIL, 2005; FAO, 2001).

Faixa Etária	Dose diária recomendada (μg)	Faixa etária	Dose diária recomendada (μg)
Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)		**Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**	
0 - 6 meses	5	0 - 6 meses	5
7 - 12 meses	5	7 - 11 meses	5
1 - 3 anos	5	1 - 3 anos	5
4 - 6 anos	5	4 - 6 anos	5
7 - 9 anos	5	7 - 10 anos	5
10 - 18 anos	5	Adulto	5
19 - 50 anos	5	-	-
51 - 65 anos	10	-	-
65 + anos	15	-	-
Gestante	5	Gestante	5
Lactante	5	Lactante	5

Tabela 3 - Quantidade de vitamina D diária recomendada.

1 IU = 25 ng, 40 UI = 1 μg, 200 UI = 5 μg, 400 UI = 10 μg, 600 UI = 15 μg.

Fonte: FAO (2001) e BRASIL (2005).

Os bebês constituem um grupo de risco de hipovitaminose D, devido às altas taxas de crescimento esquelético apresentadas nesta faixa etária, bem como na adolescência, onde o rápido crescimento do esqueleto na fase da puberdade, aumenta a necessidade de concentrações da vitamina na sua forma ativa. Já em relação aos idosos, o declínio da vitamina irá ocorrer de acordo com o envelhecimento e a taxa de síntese de vitamina D na epiderme. Na gravidez e no aleitamento materno ocorrem alterações hormonais que fazem necessário a presença desta vitamina em níveis adequados no organismo (FAO 2001).

Apesar da concentração diária de vitamina D ainda não ter sido estabelecida consensualmente, a ingestão recomendada atualmente varia de 200 UI a 600 UI (BRASIL, 2005; FAO, 2001), valores improváveis de serem obtidos exclusivamente pela alimentação, bem como exposição solar (CABALLERO; FINGLAS; TOLDRÁ, 2016), visto que mesmo em lugares ensolarados a população também apresentou deficiência da vitamina (TANG; EPSTEIN, 2011).

Moreira e colaboradores (2017) avaliaram os níveis de 25(OH)D em homens entre 20-93 anos na cidade do Rio de Janeiro, os resultados demonstraram que 46,7 % dos indivíduos apresentaram deficiência e 27,6 % insuficiência da vitamina no organismo.

Milagres e colaboradores (2017) demostraram que mais da metade das crianças brasileiras estudadas 56,3 %, apresentaram insuficiência ou deficiência de vitamina D.

Prado e colaboradores (2015) realizaram um estudo no Brasil com 226 mulheres

e seus bebês recém nascidos, os valores demonstrados são ainda maiores, 85 % das mulheres e 80,5 % dos recém nascidos apresentaram deficiência ou insuficiência da vitamina.

Devido a valores tão expressivos encontrados em diversos estudos, a suplementação é frequentemente prescrita, e para minimizar a deficiência da vitamina D em uma grande parcela da população, foram adotadas medidas públicas para fortificação de alimentos. Os principais alimentos fortificados atualmente são, produtos lácteos, margarina e cereais (CABALLERO; FINGLAS; TOLDRÁ, 2016).

3 I FORTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS

A portaria nº 31 de janeiro de 1998 do Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância Sanitária aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais. Nele é definido alimento fortificado, enriquecido ou simplesmente adicionado de nutrientes como “todo alimento ao qual for adicionado um ou mais nutrientes essenciais contidos naturalmente ou não no alimento, com o objetivo de reforçar o seu valor nutritivo e ou prevenir ou corrigir deficiência(s) demonstrada(s) em um ou mais nutrientes, na alimentação da população ou em grupos específicos da mesma” (BRASIL, 1998).

Ainda na mesma portaria estão definidos os valores para adição de vitaminas e minerais, onde é permitida a adição desde que 100 mL ou 100 g do produto pronto para consumo forneçam no máximo 7,5 % da ingestão diária recomendada de referência, no caso de líquidos, e 15 % da ingestão diária recomendada de referência no caso de sólidos. Esta adição poderá ser declarada na lista de ingredientes e ou na tabela de informação nutricional desde que o alimento forneça no mínimo 5 % da ingestão diária recomendada por 100 g ou 100 mL do produto pronto para consumo (BRASIL, 1998).

Embora exista um crescente interesse na fortificação de alimentos e bebidas com a vitamina D, existe uma série de desafios relacionados com este enriquecimento (PARK et al., 2017), incluindo baixa solubilidade em água, degradação química quando exposto à luz, calor e oxigênio, biodisponibilidade oral variável (WALIA et al., 2017; GUTTOFF; SABERI; MCCLEMENTS, 2015), além de fácil degradação sob condições digestivas quando desprotegida (DAVID; LIVNEY, 2016).

Diante destes desafios, faz-se necessária a utilização de tecnolgias apropriadas para uma possível aplicação em produtos fortificados. Uma alternativa para melhorar a estabilidade e disponibilidade da vitamina D nos alimentos é através da técnica de encapsulação, que fornece proteção aos compostos sensíveis, além de controlar a liberação dos mesmos.

4 I NANOENCAPSULAÇÃO DA VITAMINA D

A encapsulação pode ser definida como um processo de aprisionamento de uma substância. A substância encapsulada pode ser chamada de recheio, núcleo, agente ativo, fase interna ou carga útil. Já a substância que está encapsulando pode ser chamada de revestimento, membrana, concha, material de suporte, material de parede, fase externa ou matriz (ZUIDAM; NEDOVIĆ, 2010). A metodologia tem como objetivo preservar os compostos bioativos frente às condições adversas de processamento, bem como administrar de forma adequada a liberação destes compostos (ESFANJANI; JAFARI, 2016).

Esta tecnologia pode ser identificada de acordo com o diâmetro médio das partículas, valores inferiores a 1000 nm são denominadas nanopartículas (SANGUANSRI; AUGUSTIN, 2006), e valores entre 0,1 a 1,0 μm são micropartículas (ENJETI; LINCZ; SELDON, 2007).

Partículas nanométricas apresentam vantagens quando comparadas a escalas micrométricas, à medida que o tamanho das partículas é reduzido há uma maior área superficial e maior potencial de solubilidade devido à grande absorção interfacial do composto com o núcleo, assim, aumentando a biodisponibilidade e melhorando a liberação de compostos bioativos na concentração e taxa desejadas (MOZAFARI et al., 2008).

As principais vantagens da nanoencapsulação de vitaminas incluem, a rápida dissociação, elevada área superficial em relação à proporção em massa, alta absorção intracelular, redução das reações entre vitaminas e outras moléculas no meio circundante, redução da quantidade de material (núcleo-material de parede), longa estabilidade das vitaminas revestidas, além de estabilidade física reforçada contra coalescência e separações gravitacionais (KATOUZIAN; JAFARI, 2016).

Abbasi e colaboradores (2014) verificaram a estabilidade da vitamina D_3 encapsulada em nanopartículas de proteína de soro de leite, os resultados demonstraram que as nanopartículas podem aprisionar a vitamina D_3 e atrasar sua liberação na presença de oxigênio.

David e Livney (2016) utilizaram proteína de batata como base para fabricação de nanopartículas carregadas com vitamina D_3, os nanocomplexos apresentaram proteção significativa, redução das perdas da vitamina durante o processo de pasteurização e testes simulados de vida útil.

A escolha do sistema de entrega e da metodologia utilizada para nanoencapsulação, influencia rigorosamente nas características físico-químicas das vitaminas. Portanto, para a escolha de uma técnica apropriada de nanoencapsulação deve-se considerar a natureza da vitamina a ser encapsulada, as propriedades físico-químicas, o tamanho requerido e o material de parede utilizado (KATOUZIAN; JAFARI, 2016).

São descritos na literatura diferentes sistemas poliméricos desenvolvidos para encapsulação de compostos bioativos em escala nanométrica, dentre eles

destacam-se a nanoprecipitação, emulsão-difusão, dupla emulsificação, emulsão de coacervação, polímero de revestimento e camada por camada (MORA-HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010).

A técnica de nanoprecipitação (Figura 3), proposta por Fessi e colaboradores (1989), apresenta diversas vantagens quando comparada com outras metodologias de nanoencapsulação, tais como, rapidez, simplicidade, fácil utilização, além de permitir a formação de partículas com diâmetro médio em torno de 100 a 300 nm (FANG; BHANDARI, 2010).

A metodologia consiste basicamente em três etapas: primeiramente os compostos ativos e um polímero são misturados em uma solução orgânica, posteriormente é vertida em uma solução aquosa contendo tensoativo, e por fim a dispersão resultante de nanopartículas é evaporada para eliminar o solvente orgânico e, em seguida, caso necessário, a solução é centrifugada ou filtrada para se obter as partículas (FANG; BHANDARI, 2010).

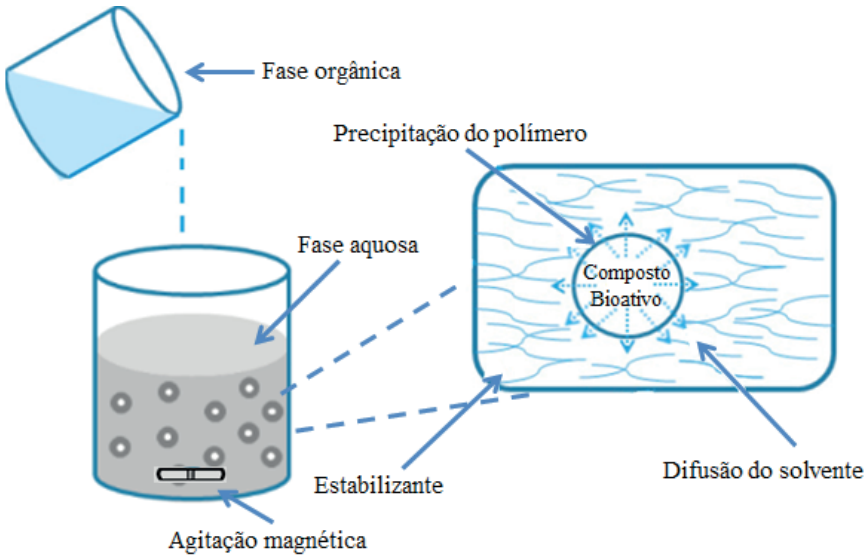

Figura 3 - Representação esquemática da preparação de nanopartículas poliméricas pela técnica de nanoprecipitação.

Fonte: Adaptado Tyagi e Pandey (2016).

Estudos publicados demonstram bons resultados ao enriquecer diversos produtos com vitamina D_3. Stratulat e colaboradores (2015) fortificaram queijo com vitamina D_3 e ômega-3 vegetal na forma de partículas emulsionadas, os resultados demonstraram que a fortificação de queijos com estes compostos bioativos geram um impacto positivo na composição, rendimento e estabilidade química do produto resultante. Tipchuwong e colaboradores (2017) enriqueceram sorvete com emulsionante de proteína do leite carregado com vitamina D_3, os resultados indicaram que a forma emulsionada de vitamina D_3 melhorou a estabilidade da mesma nas diversas formulações de sorvete testada. Peres (2010) desenvolveu e caracterizou um biscoito tipo *cookie* enriquecido com cálcio e vitamina D_3 obtendo resultados sensoriais, microbiológicos e físico-químicos satisfatórios.

5 I CONSIDERAÇÕES FINAIS

A deficiência de vitamina D é observada em diversas partes do mundo, mesmo em regiões ensolaradas, causadas por diferentes motivos. A fortificação de alimentos com vitamina D, pode ser uma abordagem promissora para reduzir a incidência de doenças relacionadas a sua carência. Porém, alguns desafios estão associados à fortificação de alimentos, visto que a vitamina D é altamente sensível a estresses ambientais e pode facilmente perder sua funcionalidade e benefícios fisiológicos. A técnica de encapsulação, utilizando sistemas poliméricos de liberação controlada mostra-se adequada para proteção e liberação de vitamina D no organismo.

REFERÊNCIAS

ABBASI, A.; EMAM-DJOMEH, Z.; MOUSAVI, M. A. E.; DAVOODI, D. **Stability of vitamin D_3 encapsulated in nanoparticles of whey protein isolate.** Food Chemistry, v. 143, n. 1, p. 379–383, 2014.

BLANCO, A.; BLANCO G. **Medical Biochemistry**, Elsevier Inc., 2017.

BOREL, P; CAILLAUD D; CANO, N. J. **Vitamin D bioavailability : State of the art.** Food Science and Nutrition, v. 55, n. 9, p. 1193–1205, 2013.

BRASIL. Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o **"Regulamento Técnico referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais". Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em:** http://www.anvisa.gov.br/anvisalegis/portarias/31_98.htm. Acesso: 09 set. 2017.

BRASIL. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o **"Regulamento técnico sobre ingestão diária recomendada (IDR) para proteína, vitaminas e minerais"** constante do anexo desta Resolução. Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_269_2005_COMP.pdf/25aaf9f3-32bc-4e80-aa6c-0520332533a6. Acesso: 04 ago. 2017.

CABALLERO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. **Enclyclopedia of food and health,** p. 42–46, Elsevier Inc., 2016.

CASTRO, L. C. G. **O sistema endocrinológico da vitamina D.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, v. 55, n. 8, p. 566–575 2011.

CASHMAN, K. D. **Vitamin D: Dietary requirements and food fortification as a means of helping achieve.** Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology, v.148, p. 19-26, 2015.

CHIBUZOR, M. T.; GRAHAM-KALIO, D.; MEREMIKWU, M. M.; ADUKWU, J. O. **Vitamin D, calcium or a combination of vitamin D and calcium for the treatment of nutritional rickets in children. (Protocol).** Cochrane Database of Systematic Reviews, v. 1, n. 3, p. 1–15, 2017.

DAVID, S.; LIVNEY, Y. D. **Potato protein based nanovehicles for health promoting hydrophobic bioactives in clear beverages.** Food Hydrocolloids, v. 57, p. 229–235, 2016.

ENJETI, A. K.; LINCZ, L. F.; SELDON, M. **Detection and measurement of microparticles: An evolving research tool for vascular biology.** Seminars in Thrombosis and Hemostasis, v. 33, n. 8,

p. 771–779, 2007.

ESFANJANI, A. F.; JAFARI, S. M. **Biopolymer nano-particles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds,** Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 146, n. 6, p. 532–543, 2016.

FANG, Z.; BHANDARI, B. **Encapsulation of polyphenols e a review.** Trends in Food Science & Technology, v. 21, n.10, p. 510–523, 2010.

FAO. **Human vitamin and mineral requirements**, Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, 2001.agriculture, food production and distribution, and health. It will also form the basis for a new edition of the FAO/WHO Handbook on Human Nutritional Requirements. It provides recommended nutrient intakes for: vitamins A, C, D, E, and K; the B vitamins; calcium; iron; magnesium; zinc; selenium; and iodine(FAO & WHO, 2001

FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J. P.; AMOOURY, H.; BEJITA, S. **Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement.** International Journal of Pharmaceutics, v. 55, n. 1, p. R1–R4, 1989.

GALANAKIS, C. M. **Nutraceutical and Functional Food Components Effects of Innovative Processing Techniques,** p. 160 -201, Elsevier Inc., 2017.

GONNET, M.; LETHUAUT, L.; BOURY, F. **New trends in encapsulation of liposoluble vitamins.** Journal of Controlled Release, v. 146, n. 3, p. 276–290, 2010.D, E, and K

GUTTOFF, M.; SABERI, A. H.; MCCLEMENTS, D. J. **Formation of vitamin D nanoemulsion-based delivery systems by spontaneous emulsification: factors affecting particle size and stability.** Food Chemistry, v. 171, n. 3, p. 117–122, 2015.

HEUREUX, N. **Vitamin D testing - where are we and what is on the horizon?** Advances in Clinical Chemistry, Elsevier Inc., 2017.

HOLICK, M. F. **Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease.** American Journal of Clinical Nutrition, v. 80, n. 6, p. 1678–1688, 2004a.leading to its transformation to previtamin D 3 , which is rapidly converted to vitamin D 3 . Season, latitude, time of day, skin pigmentation, aging, sunscreen use, and glass all influence the cutaneous production of vitamin D 3 . Once formed, vitamin D 3 is metabolized in the liver to 25-hydroxyvitamin D 3 and then in the kidney to its biologically active form, 1,25-dihydroxyvitamin D 3 . Vitamin D deficiency is an unrecognized ep-idemic among both children and adults in the United States. Vitamin D deficiency not only causes rickets among children but also pre-cipitates and exacerbates osteoporosis among adults and causes the painful bone disease osteomalacia. Vitamin D deficiency has been associated with increased risks of deadly cancers, cardiovascular disease, multiple sclerosis, rheumatoid arthritis, and type 1 diabetes mellitus. Maintaining blood concentrations of 25-hydroxyvitamin D above 80 nmol/L (\u020130 ng/mL

HOLICK, M. F. **Vitamina D Como Um Tratamento Tão Simples Pode Reverter Doenças Tão Importantes,** Editora Fundamento Educacional Ltda., p. 324, 2012.

HOLICK, M. F.; BINKLEY, N. C.; BISCHOFF-FERRARI, H. A.; GORDON, C. M.; HANLEY, D. A.; HEANEY, R. P.; MURAD, M. H.; WEAVER, C. M. **Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline**. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, v. 96, n. 7, p. 1911–1930, 2011.

HOLICK, M. F.; SCHNOES, H. K.; DELUCA, H. F.; SUDA, T.; COUSINS, R. J. **Isolation and identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol a metabolite of vitamin D active in intestine.** Biochemistry, v. 10, n. 14, p. 2799–2804, 1971.

HOLICK, MF, **Vitamin D deficiency.** The New England Journal of Medicine, v. 357, n. 3, p. 266–281, 2007.

KASALOVÁ, E.; AUFARTOVÁ, J.; KRČMOVÁ, L. K.; SOLICHOVÁ, D.; SOLICH, P. **Recent trends in the analysis of vitamin D and its metabolites in milk - a review.** Food Chemistry, v. 171, n. 3, p. 177–190, 2015.

KATOUZIAN, I.; JAFARI, S. M. **Nano-encapsulation as a promising approach for targeted delivery and controlled release of vitamins.** Trends in Food Science and Technology, v. 53, n. 6, p. 34–48, 2016.

LEE, J. H.; O'KEEFE, J. H; BELL, D. H.; HENSRUD D. D.; HOLICK, M. F. **Vitamin D deficiency. An important, common, and easily treatable cardiovascular risk factor?** Journal of the American College of Cardiology, v. 52, n. 24, p. 1949–1956, 2008.

LICHTENSTEIN, A.; FERREIRA-JÚNIOR M.; SALES M.; AGUIAR F.; FONSECA L.; SUMITA N.; DUARTE A. **Vitamina D: ações extraósseas e uso racional.** Revista da Associação Médica Brasileira, v. 59, n. 5, p. 495–506, 2013.

MCCREATH, S. B.; DELGODA, R. **Pharmacognosy, Fundamentals, Applications and Strategies,** p. 281- 288, Elsevier Inc., 2017.

MILAGRES, L.C.; ROCHA, N. P.; ALBUQUERQUE, F. M.; CASTRO, A. P.P.; FILGUEIRAS, M.S.; PESSOA, M.C.; PELUZIO, M. C. G.; NOVAES, J. F. **Sedentary behavior is associated with lower serum concentrations of vitamin D in Brazilian children.** Public Health, v. 152, n.11 p. 75–78, 2017.

MISRA, M.; PACAUD, D.; PETRYK, A. COLLETT-SOLBERG, P. F.; KAPPY, M. **Vitamin D deficiency in children and its management: review of current knowledge and recommendations**. Pediatrics, v. 122, n. 2, p. 398–417, 2008.

MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. **Polymer-based nanocapsules for drug delivery.** International Journal of Pharmaceutics, v. 385, n. 1-2, p. 113–142, 2010.

MOREIRA, M. L.; MACEIRA, M.; LOPES, F. R.; FARIAS, F. M. L. **Vitamin D deficiency and its influence on bone metabolism and density in a brazilian population of healthy men.** Journal of Clinical Densitometry, v. 21 , n. 1 , p. 91–97, 2017.

MOZAFARI, M. R.; KHOSRAVI-DARANI, K.; BORAZAN, G. G.; CUI, J.; PARDAKHTY, A.; YURDUGUL, S. **Encapsulation of food ingredientes using nanoliposome technology.** International Journal of Food Properties, v. 11, n. 4, p. 833–844, 2008.

MUNNS, C. F.; SHAW, N.; KIELY M.; SPECKER, B. L.; THACHER, T. D.; OZONO, K.; MICHIGAMI, T.; TIOSANO, D.; MUGHAL, M. Z.; MÄKITIE, O.; RAMOS-ABAD, L.; WARD, L.; DIMEGLIO, L. A.; ATAPATTU, N.; CASSINELLI, H.; BRAEGGER, C.; PETTIFOR, J. M.; SETH, A.; IDRIS, H. W.; BHATIA, V.; FU, J.; GOLDBERG, G.; SÄVENDAHL, L.; KHADGAWAT, R.; PLUDOWSKI, P.; MADDOCK, J.; HYPPÖNEN, E.; ODUWOLE, A.; FREW, E.; AGUIAR, M.; TULCHINSKY, T.; BUTLER, G.; HÖGLER, W. **Consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets** Hormone Research in Paediatrics, n. 85, n. 2 p 83–106, 2016.

NORMAN A. W.; MYRTLE, J. F.; MIDGETT, R. J.; NOWICKI, H. G.; WILLIAMS, V.; POPJAK, G. **1,25-Dihydroxycholecalciferol: identification of the proposed active form of vitamin D_3 in the intestine.** American Association for the Advancement of Science, v. 306, n. 800, p. 702–704, 1971.

OZTURK, B.; ARGIN, S.; OZILGEN, M.; MCCLEMENTS, D. J. **Nanoemulsion delivery systems for oil-soluble vitamins: influence of carrier oil type on lipid digestion and vitamin D_3 bioaccessibility.** Food Chemistry, v. 187, n. 11, p. 499–506, 2015.

PARK, S. J.; GARCIA, C. V.; SHIN, G. H.; KIM, J. T. **Development of nanostructured lipid carriers for the encapsulation and controlled release of vitamin D_3.** Food Chemistry**,** v. 225, n. 6, p. 213–219, 2017.

PERES, A. P. **Desenvolvimento de um biscoito tipo cookie enriquecido com cálcio e vitamina D.** Dissertação de mestrado em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, p. 73–74, 2010.

PETERS, B. S. E.; MARTINI, L. A. **Vitamina D.** International Life Sciences Institute do Brasil, v. 2, n. 2, p. 1–64, 2014.

PRADO, M. R. M. C.; CÁSSIA E.; OLIVEIRA, C.; ASSIS, K.F.; RIBEIRO, S. A. V.; PRADO JUNIOR, P. P.; SANT'ANA, L. F. R.; PRIORE, S. E.; FRANCESCHINI, C. C. **Prevalence of vitamin D deficiency and associated factors in women and newborns in the immediate postpartum period.** Revista Paulista de Pediatria, v. 33, n. 3, p. 286–293, 2015.

PREMAOR, M. O.; FURLANETTO, T. W. **Hipovitaminose D em adultos: entendendo melhor a apresentação de uma velha doença.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, v. 50, n. 1, p. 25–37, 2006.a Vitamina D foi considerada um micronutriente, pois a administra\u00e7\u00e3o oral de uma colher de sopa de \u00f3leo de f\u00edgado de baca-lhau por dia curava as crian\u00e7as com raquitismo e se acreditava que a mesma atuaria como um co-fator en-zim\u00e1tico (2

RAFF, H.; LEVITZKY, M. G. **Fisiología Médica: Un enfoque por aparatos y sistemas.** McGraw-Hill Interamericana, p. 649–654, 2013.

REBELO-MARQUES, A.; MOREIRA, R.T.; NUNES, C.; GOMES, J.; AIRES, C.; RITA, P.; PEREIRA, R.;PINTO, F. P. **A vitamina D nos cuidados de saúde primários , a importância do seu doseamento e a sua suplementação.** Patient Care, n. 2, p. 30–41 2017.

SANGUANSRI, P.; AUGUSTIN, M. A. **Nanoscale materials development – a food industry perspective.** Trends in Food Science & Technology, v. 17, n. 10, p. 547–556, 2006.

SCHIEFERDECKER, M. E. M.; THIEME, R. D.; HAUSCHILD, D. B. **Vitaminas, Minerais e Eletrólitos: Aspectos Fisiológicos, Nutricionais e Dietéticos**, Editora Rubio, p. 133–148, 2015.

SIZER, F. S.; WHITNEY, E. **Nutrição**. Editora Manole Ltda., p. 190–193, 2003.

STRATULAT, I.; BRITTEN, M.; SALMIERI, S.; FUSTIER, P.; ST-GELAIS, D.; CHAMPAGNE, C. P.; LACROIX, M. **Enrichment of cheese with vitamin D_3 and vegetable omega-3.** Journal of Functional Foods, v. 13, n. 3 p. 300–307, 2015.

TANG, J. Y.; EPSTEIN, E. H. **Vitamin D and skin cancer**, Elsevier, p. 1751-1762, 2011.

TIPCHUWONG, N.; CHATRAPORN, C.; NGAMCHUACHIT, P.; TANSAWAT, R. **Increasing retention of vitamin D_3 in vitamin D_3 fortified ice cream with milk protein emulsifier.** International Dairy Journal, v. 74, n.11, p. 74–79, 2017.

TYAGI, S.; PANDEY, V. K. **Nanoparticles: An Overview Of Preparation.** Journal of Pharmaceutics and Nanotechnology, V. 4, n. 2, p. 1-12, 2016.

WALIA, N.; DASGUPTA, N.; RANJAN, S.; CHEN, L. R. C. **Fish oil based vitamin D nanoencapsulation by ultrasonication and bioaccessibility analysis in simulated gastro-intestinal tract.** Ultrasonics Sonochemistry, v. 39, n. 5, p. 623–635, 2017.

ZIANI, K.; FANG, Y.; MCCLEMENTS, D. J. **Encapsulation of functional lipophylic components in surfactant-based colloidal delivery systems: Vitamin E, vitamin D, and lemon oil.** Food Chemistry, v. 134, n. 2, p. 1106–1112, 2012.

ZUIDAM, N. J.; NEDOVIĆ, V. A. **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing,** Springer, p. 3–100, 2010.

CAPÍTULO 7

Enterococcus SPP. EM SUPERFICIE DE VEGETAIS: FREQUENCIA DE ISOLAMENTO E RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS

Silvia Helena Tormen
Luciana Furlaneto Mais
Márcia Regina Terra
Natara Favari Tosoni
Márcia Cristina Furlaneto

RESUMO: Enterococos pertencem ao grupo das bactérias ácido láticas (BAL) e podem ser isolados de plantas, solo, água, alimentos e do trato digestório de humanos e outros mamíferos. Alguns isolados são potencialmente patogênicos, com capacidade de formação de biofilme e resistencia a antimicrobianos, principalmente à vancomicina e demais antimicrobianos clinicamente importantes. Devido a este cenário, alimentos estão sendo sugeridos como reservatórios de enterococos resistentes a antimicrobianos. Contudo, são escassos os estudos que analisam a presença deste microrganismo em vegetais. Portanto, este estudo teve como objetivo isolar e identificar *Enterococcus* spp a partir de amostras vegetais folhosos, legumes e raízes, e verificar sua suscetibilidade a antimicrobianos. Os isolados foram identificados ao nível de gênero/espécie pela reação da polimerase em cadeia (PCR). A sensibilidade a antimicrobianos foi determinada pelo método de disco-difusão e Foram obtidos 85 isolados de *Enterococcus* distribuidos em 62% das amostras analisadas. As espécies identificadas foram: *Enterococcus casseliflavus/flavescens, Enterococcus columbae, Enterococcus faecium, Enterococcus mundtii* e *Enterococcus avium*. Apresentaram resistência fenotípica a todos os antimicrobianos testados 64% dos isolados, principalmente à vancomicina, eritromicina, teicoplanina, ampicilina e penicilina. A maioria das espécies apresentou pelo menos um isolado resistente à vancomicina. A multirresistência foi detectada em 65% dos isolados resistentes. De acordo com estes resultados, os vegetais podem atuar como reservatório de enterococos resistentes a diversos antimicrobianos de importância clínica, principalmente à vancomicina. Isso representa um risco para a saúde pública uma vez que a vancomicina é o último recurso terapêutico para o tratamento de infecções enterocócicas graves.

PALAVRAS-CHAVE: Alimentos. Vancomicina. Biofilme.

ABSTRACT: Enterococci belong to the group of lactic acid bacteria (BAL) and can be isolated from plants, soil, water, food and from the digestive tract of humans and other mammals. Some isolates are potentially pathogenic, with biofilm formation and antimicrobial resistance, mainly to vancomycin and other clinically important antimicrobials. Because of this scenario, foods are being suggested as

reservoirs of antimicrobial resistant enterococci. However, there are few studies that analyze the presence of this microorganism in vegetables. Therefore, this study aimed to isolate and identify Enterococcus spp from leafy vegetable samples, vegetables and roots, and verify its susceptibility to antimicrobials. Isolates were identified at the genus / species level by polymerase chain reaction (PCR). Antimicrobial susceptibility was determined by the disc-diffusion method and 85 Enterococcus isolates were obtained in 62% of the samples analyzed. The species identified were: Enterococcus casseliflavus / flavescens, Enterococcus columbae, Enterococcus faecium, Enterococcus mundtii and Enterococcus avium. Phenotypic resistance to all antimicrobials tested showed 64% of the isolates, mainly vancomycin, erythromycin, teicoplanin, ampicillin and penicillin. Most species had at least one vancomycin-resistant isolate. Multidrug resistance was detected in 65% of resistant isolates. According to these results, the plants can act as reservoirs of enterococci resistant to several antimicrobials of clinical importance, mainly vancomycin. This represents a risk to public health since vancomycin is the last therapeutic resource for the treatment of severe enterococcal infections.
KEYWORDS: Food. Vancomicyn. Biofilm.

1 I INTRODUÇÃO

As bactérias do gênero *Enterococcus* são capazes de sobreviver a uma série de condições hostis, na qual permite sua ampla distribuição na natureza, sendo comensais do trato digestório de mamíferos e aves (FISCHER; PHILLIPS, 2009; HIDANO et al., 2015). Apesar de ter aplicações úteis em alimentos, a entidade Europeia de Segurança de Alimentos, *European Food Safety Authority*-EFSA (2013), não considera isolados de enterococos seguros para uso como aditivo alimentar. A insegurança é atribuída ao fato de que essas bactérias são apontadas como responsáveis por graves infecções hospitalares (FOULQUIE-MORENO et al., 2006; EFSA, 2013). Essa patogenicidade, ocorre porque os enterococos possuem a capacidade de adquirir resistência à diversos antimicrobianos, incluindo vancomicina, que é a última opção terapêutica para tratar infecções enterocócicas graves (TALEBI et al., 2015).

Em consequência da elevada resistência e capacidade de multiplicação dos enterococos nos alimentos, estes estão presentes em carnes e produtos cárneos, leite e derivados, vegetais e derivados (KOLUMAN; AKANB; ÇAKIROGLU, 2009; CAMARGO et al., 2014; PESAVENTO et al., 2014). A frequência de isolamento varia dependendo do tipo de alimento, das condições de processamento e da sazonalidade (CAMARGO et al., 2014). Estudos mostram que os alimentos de origem animal são mais contaminados por enterococos que alimentos de origem vegetal (MCGOWAN et al., 2006; CAMARGO et al., 2014).

Frutas e vegetais são alimentos essenciais em uma dieta alimentar saudável. Por essa razão há um estímulo para o consumo e uma maior procura por esses produtos (CAMPOS et al., 2013). Porém estes são consumidos crus, submetidos a tratamentos

térmicos brandos ou somente sanitizados tornando-os potenciais veiculadores de microrganismos patogênicos (SCHWAIGER et al., 2011).

Alguns trabalhos tem relatado a presença de enterococos em diversos vegetais (Tabela 1). Contudo, ainda é escasso o estudo do perfil de resistência dessas bactérias veiculadas por vegetais.

ALIMENTO	BACTÉRIA	LOCALIZAÇÃO	REFERENCIA
legumes, vegetais amiláceos, legumes minimamente processados, cogumelos, azeitonas e ervas frescas	*E. casseliflavus*		Gomes et al. (2008),
vegetais folhosos, cenoura, mistura de folhosos e cenoura e na mistura folhosos, cenoura e milho	*E. casseliflavus*	Portugal	Campos et al. (2013)
tomates e rabanetes	*E. casseliflavus*	EUA	McGowan et al. (2006) e Micallef et al. (2013)
cenoura, espinafre e pepino	*E. casseliflavus*	Japão	Izumi, et al. (2004)
cereja, pimentão verde, azeitona preta	*E. casseliflavus*	Espanha	Abriouel et al. (2008)
guacamole e farinha integral de trigo vermelho	*E. casseliflavus*	Espanha	Fernandez-Fuentes et al., 2012
beterraba, batata e salsa	*E. faecium*	Brasil	Riboldi et al., 2009
azeitonas fermentadas verdes e pretas, beterraba, alcachofra, broto de alfafa, brócolis, endívias, morango, alface, cereja, batata, produtos a base de soja e tomate	*E. faecium*	Espanha	Pesavento et al., 2014
saladas, cereais, legumes, raízes, vegetais bulbosos, e frutas (tomate, pimenta, abobrinha e pepino)	*E. faecalis*	Alemanha	Schwaiger et al., 2011
tomate orgânico	*E. durans*	Espanha	Fernandez-Fuentes et al., 2012
saladas prontas para consumo	*E. durans*	Itália	Pesavento et al., 2014
saladas prontas para consumo	*E. gallinarum*	Portugal e Itália	Campos et al., 2013; Pesavento et al., 2014
saladas prontas para consumo	*E. hirae*	Portugal	Campos et al., 2013
vegetais diversos	*E. hirae*	Tunísia	Said et al., 2015
alface	*E. haemoperoxidus*	Brasil	Camargo et al., 2014
vegetais diversos	*E. collumbae/raffinosus*	Brasil	Camargo et al., 2014
cereja	*E. mundtii*	Espanha	Abriouel et al., 2008
tomates	*E. avium*	EUA	Micallef et al., 2013

Tabela 1 – Isolamento de espécies do gênero *Enterococcus* em amostras vegetais e países envolvidos nos estudos

O aumento do número de isolados resistentes a antibióticos pode ser devido a pressão seletiva, em parte causada pelo uso indiscriminado de antimicrobianos na agricultura e na clínica humana (CHANG et al., 2015). A resistência dos enterococos a antimicrobianos se deve, em parte, a eficientes mecanismos de transferência de genes de resistência interespécies e gêneros (FISCHER; PHILLIPS, 2009; HIDANO et al., 2015).

E. faecium e *E. faecalis* resistentes a antimicrobianos tem sido a principal causa de endocardite e infecções urinárias em pacientes imunocomprometidos, idosos ou com comorbidades internados em hospitais (MALANY et al., 2002). Como consequência da resistência desse microrganismo a antimicrobianos, ocorre o aumento do tempo de internação, que tem um grande impacto negativo sobre os custos hospitalares, além de exigir esquemas terapêuticos adicionais (WENZEL; EDMOND, 2001).

Pelo fato de enterococos resistentes à antimicrobianos, poderem ser encontrados em alimentos, e pela possibilidade desses colonizarem o trato digestório humano, sustentaria a hipótese de que os alimentos poderiam ser um dos veículos de contaminação (MICALLEF, et al., 2011). No Brasil, há poucos estudos envolvendo uma possível contribuição dos alimentos de origem vegetal como reservatórios de enterococos resistentes a antimicrobianos. Dessa forma, este estudo se propôs ampliar o conhecimento sobre a presença deste gênero, em alimentos de origem vegetal, quanto a sua característica de sensibilidade a antimicrobianos.

2 I FUNDAMENTAÇÃO METODOLÓGICA

2.1 Amostragem, Preparo Da Amostra, Isolamento E Identificação Fenotípica De *Enterococcus* sp

Sessenta e seis amostras de vegetais folhosos, legumes e tubérculos, *in natura* e minimamente processados foram adquiridos de supermercados, feiras-livres e direto do produtor em cidades das regiões Centro-sul e Norte do Paraná. Posteriormente, 25 g de cada produto foi pesado assepticamente e transferido para 225 mL de água peptonada 1% (m/v). O frasco foi agitado vigorosamente por 30 segundos quando a amostra era proveniente de vegetais folhosos e por 2 min para os demais vegetais. Foi aguardada a decantação da amostra para o procedimento das diluições seriadas.

A partir das diluições seriadas das amostras, uma alíquota de 100 μL foi depositada e espalhada por *spread plate* em Ágar KEA (Isofar). As placas foram incubadas em estufa bacteriológica (Ethiktechnology, 410 SNDRE) a 37°C por 24 h. Colônias de coloração negra, características de enterococos, foram contadas e três delas foram inoculadas em ágar BHI (Himedia) seguida de incubação a 37°C por 24 h.

Paralelamente, a diluição 10^{-1} foi incubada a 37°C por 18 h. Não havendo colônias típicas no ágar KEA, previamente incubados, uma alíquota desta solução foi semeada

por esgotamento em superfície de KEA e em Ágar M17, incubadas a 37°C por 24 h. Um total de três colônias típicas de ambos os meios foram isoladas, conforme descrito acima.

As colônias provenientes do crescimento em ágar BHI foram submetidas aos testes fenotípicos: reação morfotintorial, teste de catalase e crescimento em meio hipersalínico em diferentes temperaturas.

A reação morfotintorial seguiu o protocolo da coloração de Gram (New Prov), com auxilio do microscópio óptico (Olympus, CX21FS1). Os isolados que se apresentaram como cocos Gram-positivos, aos pares, isolados ou em pequenas cadeias foram submetidos ao teste de atividade da enzima catalase. Para tanto, foi depositada uma suspensão bacteriana sobre lâmina de vidro e acrescentada uma gota de peróxido de hidrogênio 3% (v/v). Isolados sem formação de bolhas, indicativo de reação negativa, foram submetidos a teste de crescimento em caldo BHI acrescido de 6,5% (m/v) de cloreto de sódio, incubados a 10°C e a 45°C por 24 h (FACKLAM et al., 1999). Tubos que apresentaram turvação foram considerados positivos para crescimento.

2.2 Extração De Dna E Identificação Genotípica Gênero-Espécie

A extração de DNA genômico foi feita pelo método de fervura. Os isolados foram cultivados em 3 mL de meio BHI, e incubados a 37ºC sob agitação constante (120 rpm) por 18 h. Após este período, foram centrifugados por 10 min a 10.000 rpm, e o *pellet* foi resuspendido em 500 μL de água ultrapura estéril. Esta suspensão foi submetida ao aquecimento, em temperatura de 90 a 100°C, por 30 min. Em seguida, foi resfriada em banho de gelo e feita novamente centrifugação, nas mesmas condições citadas acima. Por fim, foi retirado 150 μL do sobrenadante contendo DNA total e armazenado em freezer a -20ºC. A pureza do DNA e quantificação foi realizada em gel de agarose 0,8%.

Os isolados de *Enterococcus* spp. foram identificados ao nível de gênero/espécie pela PCR, utilizando os oligonucleotídeos iniciadores descritos na Tabela 2.

Gênero/Espécie	Tamanho do produto amplificado	Oligonucleotídeos iniciadores Sequência (5'-3')	Fonte
Enterococcus spp.	122	TACTGACAAACCATTCATGAG ACTTCGTCACCAACGCGAAC	Dutka-Malen; Evers; Courvalin (1995)
E. avium	368	GCTGCGATTGAAAAATATCCG AAGCCAATGATCGGTGTTTTT	Silva, et al. (2012)
E.casseliflavus/ E. flavencens	439	CTCCTACGATTCTCTTG CGAGCAAGACCTTTAAG	Dutka-Malen; Evers; Courvalin (1995)
E. columbae	284	GAATTTGGTACCAAGACAGTT GCTAATTTACCGTTATCGACT	Silva, et al. (2012)
E. faecalis	941	ATCAAGTACAGTTAGTCT ACGATTCAAAGCTAACTG	Dutka-Malen; Evers; Courvalin (1995)

E. faecium	550	TAGAGACATTGAATATGCC TCGAATGTGCTACAATC	Dutka-Malen; Evers; Courvalin (1995)
E. gallinarum	822	GGTATCAAGGAAACCTC CTTCCGCCATCATAGCT	Dutka-Malen; Evers; Courvalin (1995)
E. hirae	186	TAAATTCTTCCTTAAATGTTG CTTTCTGATATGGATGCTGT	Jackson; Fedorka-Cray; Barrett (2004)
E. mundtii	301	CAGACATGGATGCTATTCCATCT AGGTTTCTTGCCTTCCATCAAT	Jackson; Fedorka-Cray; Barrett (2004)
E. seriolicida	100	ACACAATGTTCTGGGAATGGC AAGTCGTCAAATGAACCAAAA	Silva, et al. (2012)
E. solitarius	371	AAACACCATAACACTTATGTGACG AATGGAGAATCTTGGTTTGGCGTC	Silva, et al. (2012)

Tabela 2 - Oligonucleotídeos iniciadores genero/espécie-específico utilizados para identificação de *Enterococcus* spp.

A amplificação do DNA extraído de cada isolado foi realizada em termociclador (Techne-TC3000), em um volume final de 20 µL, contendo 10 ng de DNA, 1,0 U Taq DNA polimerase (Invitrogen), 10X Tampão da Taq, 2,5 mM de $MgCl_2$, 0,17 mM de cada desoxidonucleotídeo trifosfato (dNTP), 1 ρmol de cada oligonucleotídeo iniciador. O termociclador foi programado para operar nas seguintes condições: desnaturação inicial de 94ºC por 2 min, seguido por 30 ciclos de 94ºC à 1 min, anelamento na temperatura de 50 a 55 ºC, por 1 min, extensão a 72ºC por 1 min, e extensão final a 72ºC por 10 min. Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese, em gel de agarose 1,0 % (m/v). Após a corrida, os géis foram corados com solução de brometo de etídio 0,005% (m/v) durante 15 min, visualizados em transiluminador ultravioleta e fotodocumentados com sistema computadorizado (Loccus). O tamanho do produto amplificado foi comparado com o marcador de peso molecular Lambda DNA ladder de 1Kb plus (Amersham Pharmacia Biotech).

2.3 Teste De Suscetibilidade A Antimicrobianos

Os padrões de suscetibilidade a antimicrobianos foram determinados pelo método disco-difusão, de acordo com as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* - CLSI (CLSI, 2011). Os ensaios foram realizados a partir de cultivos dos isolados confirmados como *Enterococcus* sp pela PCR, em caldo BHI, obtidos após incubação a 37ºC por 24 h. Posteriormente, foram preparadas suspensões bacterianas em solução salina a 0,85% (m/v), com turbidez semelhante à da solução padrão 0,5 de McFarland (aproximadamente 1 x 10^8 UFC/mL). As suspensões foram semeadas sobre a superfície de placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton – MHA (Himedia). Sobre a superfície dos meios inoculados foram depositados discos de papel impregnados com os seguintes antimicrobianos: Ampicilina-AMP (10µg), Ciprofloxacina-CIP (5 µg), Cloranfenicol-CLO (30 µg), Eritromicina-ERI (15 µg), Imipenem-IMP (10

µg), Norfloxacina-NOR (10 µg), Penicilina-PEN (10 µg), Tetraciclina-TET (30 µg), Teicoplanina- TEC (30 µg) e Vancomicina-VAN (30 µg) (Laborclin). As placas foram incubadas por 18-24 h a 37ºC, sendo que os halos de inibição foram mensurados e posteriormente interpretados segundo a tabela de sensibilidade a antimicrobianos. Para o controle de qualidade foi utilizada a cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4 Distribuição Das Espécies De *Enterococcus* Spp. Em Vegetais

Foram processadas 66 amostras de 21 diferentes espécies de vegetais, sendo constituídas de: abobrinha, acelga, agrião hidropônico, alface, almeirão, brócolis, broto de bambu, broto de feijão, cenoura, cheiro-verde, couve-flor, couve manteiga fatiada, couve manteiga em maço, mandioca descascada, milho verde, pepino, pimentão verde, pimentão vermelho, rúcula de plantio comum, rúcula hidropônica, repolho, tomate e vagem. A partir destas amostras, foram selecionados aleatoriamente 202 isolados bacterianos com características presuntivas nos ágares KEA e M17. Destes, 85 isolados foram confirmados para o gênero *Enterococcus*, pela técnica da PCR. Estes resultados estão de acordo com estudos realizados por Campos *et al*. (2013) e Camargo et al. (2014) que detectaram enterococos em 70% e 73,3% de enterococos em amostras de vegetais, respectivamente.

Contudo, estudos apontam que alimentos de origem vegetal são menos contaminados por enterococos em comparação aos de origem animal (GOMES, et al., 2008; PESAVENTO et al., 2014). Alguns autores relataram contaminação por enterococos em 100% de amostras de queijo (FURLANETO-MAIA et al., 2014) e amostras de queijo e aves de criação (CAMARGO et al. 2004). No entanto, a frequência detectada nos resultados apresentados neste trabalho é elevada, ao ponto de servir de alerta, uma vez que esse microrganismo foi apontado como responsável por infecções nosocomiais (FISHER; PHILLIPS, 2009) e por atuar como deteriorante em alimentos (ALCANTARA et al., 2012).

Foram identificadas cinco espécie*s* (Tabela 3), sendo: 19% como *E. casseliflavus/flavescens*, 6% como *E. columbae*, 4% como *E. faecium*, 4% como *E. mundtii*, 2% como *E. avium* e 84% como *Enterococcus* sp. Onze diferentes espécies de vegetais apresentaram duas espécies diferentes na mesma amostra. Ao observar a distribuição das espécies de acordo com os tipos de vegetais, a maior diversidade de espécies foi encontrada em vegetais folhosos e legumes, sendo detectadas 4 diferentes espécies, porém a diferença foi pequena comparada com o grupo das raízes onde foram encontradas 3 espécies diferentes.

Tipo de vegetal	Quantidade de amostras	*Enterococcus.* sp.	*E. casseliflavus/ flavescens*	*E. columbae*	*E. faecium*	*E. mundtii*	*E. avium*
Abobrinha	6	7	1			1	
Acelga	1	2	1				
Agrião hidropônico	3	4					
Alface	7	4	2				
Almeirão	3	3					
Brócolis	5	2		2			
Broto de bambu	1	1					
Broto de feijão	1	-					
Cenoura	4	2					
Cheiro-verde	6	2	3				2
Couve-flor	1	2					
Couve manteiga maço	2	1	1				
Couve manteiga fatiada	3	1	1				
Mandioca descascada	5	5			2		
Milho verde	3	2	2		1		
Pepino	1	-					
Pimentão verde	2	4					
Pimentão vermelho	1	4					
Rúcula comum	1	2				1	
Rúcula hidropônica	6	5	5			1	
Repolho	1			2			
Tomate	3	3		1			
Vagem	1	-					
Total de isolados por espécie		56	16	5	3	3	2

Tabela 3 - Espécies de Enterococcus sp. em alimentos de origem vegetal.

3.5 Suscetibilidade Fenotípica A Antimicrobianos

Com a finalidade de aprofundar o conhecimento sobre o perfil de resistência a antimicrobianos, todos os isolados confirmados como *Enterococcus* foram submetidos ao antibiograma. Um total de 64% (54/85) dos isolados apresentaram resistência fenotípica aos antimicrobianos testados neste estudo, a maioria destes clinicamente relevantes. Destes, 58% (30/54) foram provenientes de vegetais folhosos, 33% (19/54)

de legumes e 9% (5/54) de raízes. Todos os grupos de vegetais testados apresentaram uma alta incidência de isolados resistentes, com 70% (30/43) dos isolados de folhosos, 58% (19/33) dos legumes e 56% (5/9) das raízes (Tabela 4). Cabe ressaltar ainda, que os isolados provenientes de vegetais folhosos apresentaram resistência a todos os antimicrobianos testados, enquanto que os provenientes de legumes foram sensíveis apenas ao cloranfenicol e os isolados de raízes foram sensíveis ao cloranfenicol, imipenem, penicilina e a tetraciclina.

Tipo de vegetal	Porcentagem de isolados resistentes	Resistência	Sensibilidade
Folhosos	70%	AMP, CIP, CLO, ERI, IPM, NOR, PEN, TEC, TET, VAN	
Legumes	58%	AMP, CIP, ERI, IPM, NOR, PEN, TEC, TET, VAN	CLO
Raízes	56%	AMP, CIP, ERI, NOR, TEC, VAN	CLO, IPM, PEN, TET

Tabela 4 - Suscetibilidade a antimicrobianos apresentada por enterococos, provenientes de diferentes tipos de vegetais, pelo método disco-difusão.

AMP: ampicilina, CIP: ciprofloxacina, CLO: cloranfenicol, ERI: eritromicina, IMP: imipenem, NOR: norfloxacina, PEN: penicilina, TEC: teicoplanina; VAN: vancomicina.

Conforme pode ser observado no Gráfico 1, os isolados apresentaram resistência aos antimicrobianos testados. sendo que alguns isolados apresentaram-se como multirresistentes (tabela 6).

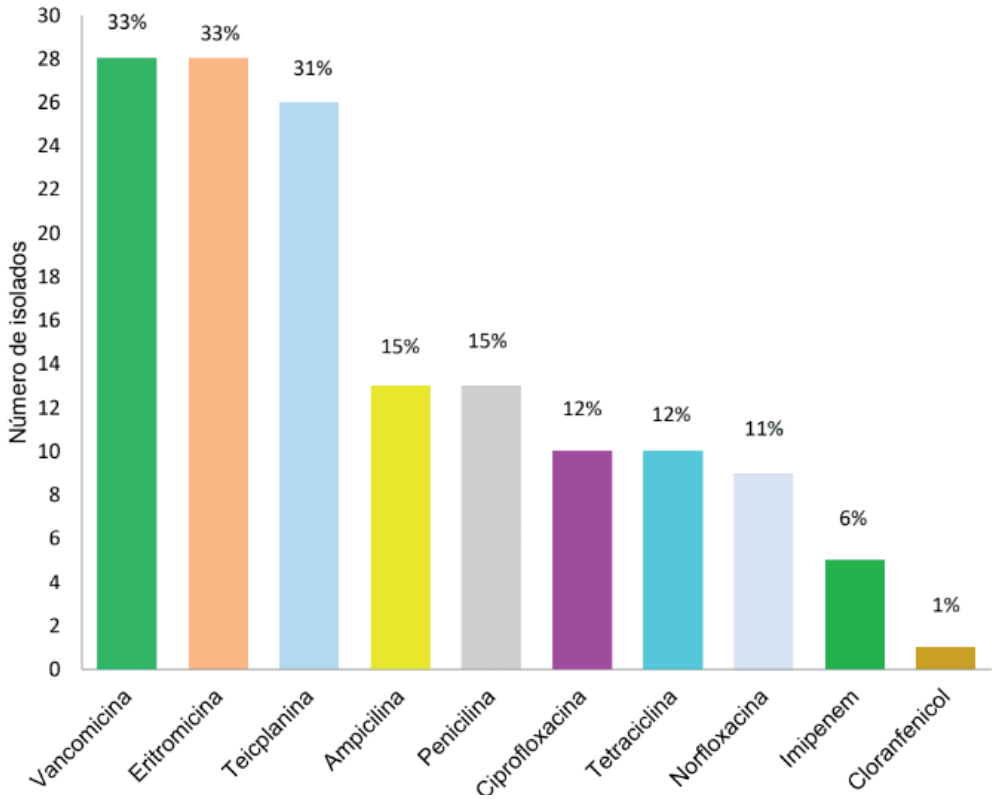

Gráfico 1 - Perfil de resistência fenotípico de enterococos, provenientes de vegetais, contra antimicrobianos testados pelo método disco-difusão.

	CIP	NOR	CLO	ERI	AMP	IMP	PEN	TET	TEC	VAN
E. casseliflavus/flavescens	4	2	1	3	2		2		1	1
E. columbae	1	1		1				3	1	1
E. faecium	2	1								
E. mundtii				3					2	2
E. avium				2	2				2	2

Tabela 5 - Número de isolados resistentes aos antimicrobianos testados pelo método disco-difusão, de acordo com as espécies de *Enterococcus* spp., identificadas a partir de vegetais.

AMP: ampicilina, CIP: ciprofloxacina, CLO: cloranfenicol, ERI: eritromicina, IMP: imipenem, NOR: norfloxacina, PEN: penicilina, TEC: teicoplanina; VAN: vancomicina.

A presença de enterococos em alimentos de origem vegetal e o fato de muitos deles serem consumidos crus ou minimamente processados, aumenta a preocupação de que isolados patogênicos possam contribuir para a disseminação de resistência e fatores de virulência para a flora intestinal humana, bem como, no ambiente clínico (ABRIOUEL et al., 2008).

Apesar das evidências mostrando a contribuição do uso dos antimicrobianos na agricultura para o aparecimento e disseminação da resistência nos alimentos, este não deve ser o único motivo, uma vez que as razões são complexas e multifatoriais, requerendo mais investigação (GOUSIA et al., 2011).

CONCLUSÕES

Neste estudo foi detectada a presença de *E. casseliflavus/flavescens, E. columbae, E. faecium, E. mundtii e E. avium* em alimentos de origem vegetal no Paraná, Brasil. A resistência fenotípica foi expressa para todos os antimicrobianos testados, sendo a resistência à vancomicina, eritromicina e teicoplanina mais expressiva. De acordo com estes resultados, alimentos de origem vegetal podem atuar como reservatório de enterococos resistentes a antimicrobianos.

REFERÊNCIAS

ABRIOUEL, H.; OMAR, N.B.; MOLINOS, A.C.; LÓPEZ, R. L.; GRANDE,M. J.; MARTINEZ-VIEDMA, P., ORTEGA, E.; CAÑAMERO, M.M.; GALVEZ, A. Comparative analysis of genetic diversity and incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococcal populations from raw fruit and vegetable foods, water and soil, and clinical samples. **International Journal of Food Microbiology**, v. 123, p. 38–49, 2008.

ALCÂNTARA, M.; MORAIS, I.C.L.; SOUZA, . C.M.O.C.C.Principais Microrganismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos, Revista **Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 6, p. 1-20, 2012.

CAMARGO, C.H.; BRUDER-NASCIMENTO, A.; LEE,S.H.; FERNANDES Jr, A.; KANENO, R.; RALL, V.L.M. Prevalence and phenotypic characterization of *Enterococcus* spp. isolated from food in Brazil, **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, p. 111-115, 2014.

CAMPOS, J.; MOURÃO,J.; PESTANA, N.; PEIXE, L.; NOVAIS, C.; ANTUNES, P. Microbiological quality of ready-to-eat salads: An underestimated vehicle of bacteria and clinically relevant antibiotic resistance genes, **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, p. 464–470, 2013.

CHANG, Q.; WANG, W.; REGEV-YOCHAY, G.; LIPSITCH, M.; HANAGE , W.P. Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be?, **Evolutionary Applications**, v.8, p. 240–245, 2015.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement**. CLSI/NCCLS document M100-S21, 2011.

DUTKA-MALEN. S.; EVERS, S.; COURVALIN, P. Detection of glycopeptides resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant Enterococci by PCR. **Journal Clinical Microbiology**, v. 33, n. 1, p. 24-27, 1995.

EFSA (European Food Safety Authority). **Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents inten- tionally added to food and feed (2010): FSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ)**. Disponível em: http://www.efsa.europa. eu/fr/scdocs/doc/1944.pdf . Acessado em 11/08/2014.

FERNANDEZ-FUENTES, M.A.; ABRIOUL, H.; MORENTE, E.O.; PULIDO,R.P.; GÁLVEZ, A. Genetic determinants of antimicrobial resistance in Gram positive bacteria from organic foods, **International Journal of Food Microbiology**, v. 172, p. 49–56, 2014.

FISCHER, K.; PHILLIPS, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. **Microbiology**, v. 155, p. 1749–1757, 2009.

FOUQUIÉ-MORENO; M. R.; SARANTINOPOULOS, P.; TSAKALIDOU, E.; DE VUYST, L. The role and application of enterococci in food and healt. I**nternational Journal of Food Microbiology**, v. 106, p. 1-24, 2006.

FURLANETO-MAIA, L.; ROCHA, K.R.; HENRIQUE, F.C.; GIAZZI, A.; FURLANETO, M.C. Antimicrobial resistance in *Enterococcus sp* isolated from soft chesse in Southern Brazil, **Advances in Microbiology**, v. 4, p.175-181, 2014.

GOMES, B.C.; ESTEVES, C.T.; PALAZZO, I.C.V.; DARINI, A.L.C.; FELIS, G.E.; SECHI, L.A.; FRANCO, B.D.G.M.; DE MARTINIS, E.C.P. Prevalence and characterization of *Enterococcus* spp isolated from Brazilian foods. **Food Microbiology**, v. 25, 668-675, 2008.

GOUSIA, P.; ECONOMOU, V.; SAKKAS, H.; LEVEIDIOTOU, S.; PAPADOPOLOU, C. Antimicrobial resistance of major foodborne pathogens from major meat products. **Foodborne Phatogens and Disease**, v. 8, p. 27-38, 2011.

HIDANO, A. YAMAMOTO, T, HAYAMA, Y, MUROGA, N, KOBAYASHI, S.; NISHIDA, T.; TSUTSUI, T. Unraveling Antimicrobial Resistance Genes and Phenotype Patterns among *Enterococcus faecalis* Isolated from Retail Chicken Products in Japan, **PLOS ONE**, 2015.

IZUMI, H.; NAGANO, M; OSAKI, Y. Microbial evaluation of fresch marketed vegetables, **Mem. School. B.O.S.T. Kinki University**, v. 13, p. 15-22, 2004.

JACKSON, C.R.; FEDORKA-CRAY, P.J.; BARRET, J.B. Use of genus- and species-specific multiplex PCR for identification of enterococci, **J. Clin.Microbiol**, v. 42, p. 3558-3565, 2004.

KOLUMAN, A.; AKANB, L.S.; ÇAKIROGLUB, F.P. Occurrence and antimicrobial resistance of Enterococci in retail foods. **Food Control**, v. 20, p. 281, 283, 2009.

MALANI, P.N.; KAUFFMAN, C.A.; ZERVOS, M.J. Enterococcal disease, epidemiology, and treatment. In: Gilmore, M.S., Clewell, D.B., Courvalin, P., Dunny, G.M., Murray, B.E., Rice, L.B. (Eds.), The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic resistance. ASM,Washington, D.C., pp. 385–408, 2002.

MCGOWAN, L.; JACKSON, C.R.; BARRET, J.B.; et al. Prevalence and antimicrobial resistance of enterococci isolated from retail fruits, vegetables, and meats, **Journal of Food Protection**, v. 69, p. 2976-2982, 2006.

MICALLEF, S.A.; GOLDSTEIN, R.E.R.; GEORGE, A.; EWING, L. TALL, B.D.; BOYER, M.S.; JOSEPH, S.W.; SPKOTA, A.R. Diversity, distribution and antibiotic resistance of *Enterococcus* spp. recovered from tomatoes, leaves, water and soil on U.S Mid-Atlhantic farms, **Food Microbiology**, v. 36, p. 465-474, 2013.

PESAVENTO, G.; CALONICO, C.; DUCCI, B.; MAGNANINI, A.; LO NOSTRO, A. Prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus* spp. isolated from retail cheese, ready-to-eat salads, ham, and raw meat, **Food Microbiology**, v. 41, p. 1-7, 2014.

RIBOLDI, G.P.; FRAZZON, J.; AZEVEDO, P.A.; FRAZZON, A.P.G. Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* spp. isolated from food in Southern Brazil, **Brazilian Journal of Microbiology**, v.40, 125-128, 2009.

SAID, L.B.; KLIBI, N.; DZIRI, R.; BORGO, F.; BOUDABOUS, A.; SLAMA, K.B.; TORRES, C. Prevalence, antimicrobial resistance and genetic lineages of *Enterococcus* spp. from vegetable food, soil and irrigation water in farm environments in Tunisia, **Science of Food Agriculture**, Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25988398, 2015.

SCHWAIGER, K.; HELMKE, K.; HOLZEL, C.S.; BAUER, J. Antibiotic resistance in bacteria isolated from vegetables with regards to the marketing stage (farms vs. supermarket**), International Journal of Food Microbiology**, v. 148, p. 191-196, 2011.

SILVA, V.L.; CAÇADOR, N.C.; SILVA, C.S.F.; FONTES, C.O.; GARCIA, G.D.; NICOLI, J.R.; DINIZ, C.G. Occurrence of Multidrug-Resistant and Toxic-Metal Tolerant Enterococci in Fresh Feces from Urban Pigeons in Brazil, **Microbes Environ**., v. 27, p. 179–185, 2012.

WENZEL, R.P.; EDMOND, M.B.. The impact of hospital-acquired bloodstream infections. **Emerging Infectious Diseases,** v. 7, p. 174–177, 2001.

CAPÍTULO 8

FARINHA DE SEMENTE DE MAMA-CADELA: APLICABILIDADE TECNOLOGICA PARA PRODUÇÃO DE PÃO DE MEL

Vânia Maria Alves
Universidade Federal do Tocantins, mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
Palmas - Tocantins

Danilo José Machado de Abreu
Universidade Federal de Goiás, mestrando em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Goiânia- Goiás

Katiúcia Alves Amorim
Universidade Federal de Goiás, mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Goiânia- Goiás

Edson Pablo da Silva
Mestre e Doutor em Ciência dos Alimentos pela UFLA/Lavras-Brasil e IATA/CSIC - Valencia - Espanha.

Clarissa Damiani
Universidade Federal de Goiás, Mestre e Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFLA/ Lavras, professora da Universidade Federal de Goiás, Membro do corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Goiás.
Goiânia- Goiás e da Universidade Federal do Tocantins. Palmas-TO

RESUMO: O cerrado é um bioma rico em frutos nutritivos, quer seja eles advindos da polpa, casca ou sementes. Na industrialização dos frutos do cerrado, assim como qualquer outro, a geração de resíduos ou co-produtos é inevitável, e a incorporação destes na fabricação de alimentos torna-se promissor, uma vez que disponibilizará os nutrientes para consumo humano, além de ajudar na redução do lixo orgânico. O objetivo desde trabalho foi à incorporação de farinha de semente de mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii* Trecúl), em substituição parcial a farinha de trigo (controle, 15% e 25%), em pão de mel, verificando o comportamento das características físicas nesta substituição. A casca do fruto mama-cadela foi obtida em empresa privada e a farinha foi processada por meio da secagem e da moagem da semente. Foram realizadas analises de cor (L, a*, b*), textura e microscopia eletrônica de varredura nos pães desenvolvidos. Os resultados foram positivos para a cor e textura, tendo em vista que a adição de farinha de semente de mama-cadela não afetou a cor do pão de mel, e reduziu a firmeza o que contribuiu para maciez. Portanto, a farinha de semente de mama-cadela agregou características positivas ao pão de mel, sendo recomendado acrescentar ate 25%, sem afetar fisicamente o produto final.
PALAVRA-CHAVE: novos produtos, textura, aproveitamento.

ABSTRACT: The cerrado is a biome rich in nutritious fruits such as pulp, bark or seeds. In the industrialization of the fruits of the cerrado, as well as any other, the generation of residues or byproducts is inevitable, and the incorporation

of these in the manufacture of foods becomes promising, since it will make available the nutrients for human consumption, besides helping in the reduction of organic waste. The objective of this work was to incorporate seed flour of mama-cadela (Brosimum gaudichaudii Trecúl), in partial substitution of wheat flour (control, 15% and 25%), in honey bread, verifying the behavior of the physical characteristics in this replacement. The bark of the mama-cadela fruit was obtained in a private company and the flour was processed by drying and milling the seed. Color analysis (L, a *, b *), texture and scanning electron microscopy were performed in the developed loaves. The results were positive for color and texture, since the addition of mama-cadela seed flour did not affect the color of the honey bread, and reduced firmness, which contributed to softness. Therefore, mama-cadela seed flour added positive characteristics to honey bread, and it is recommended to add up to 25%, without affecting the final product.
KEYWORDS: new products, texture, exploitation.

1 I NTRODUÇÃO

A flora do cerrado possui diversas espécies frutíferas com grande potencial de utilização agrícola, que são tradicionalmente utilizadas pela população local. Os frutos, em geral, são consumidos *in natura* ou na forma de sucos, licores, sorvetes, geléias e doces diversos (ALMEIDA, 1998a; SILVA et al., 2001). As espécies de plantas nativas do cerrado têm-se destacado por apresentar potencial nutritivo com forte apelo sensorial e econômico, constituindo matéria-prima disponível par formulação de novos produtos alimentícios (HIANE et al. 1992).

A *Brosimum gaudichaudii* Trécul pertence à família Moraceae que apresenta, aproximadamente, 61 gêneros e com mais de 1.000 espécies (JOLY 1993). A espécie *B. gaudichaudii* Trécul possui folhas alternadas, simples, pecioladas, cujas flores masculinas apresentam um só estame e as femininas com um a dois ovários inferiores. Os frutos são de cor amareladas, com cerca de 2 cm de diâmetro, duas sementes e superfície rugosa, com sabor adociacado (Almeida et al., 1998). Essa espécie apresenta vários nomes populares com Algodãozinho. Algodão do campo, Apê do sertão e Mamica de cadela e mama-cadela (Almeida et al. 1998).

Informações a respeito das características químicas e do valor nutricional dos frutos do cerrado são ferramentas básicas para avaliação do consumo e formulação de novos produtos. No entanto, poucos dados estão disponíveis na literatura especializada com relação à composição química destes frutos e sua aplicação tecnológica, ressaltando a necessidade de pesquisas científicas sobre o assunto (SILVA et al, 2011).

O uso de subprodutos agroindustriais para o incremento de produtos alimentícios garante o enriquecimento nutricional com baixo custo, além da importante tarefa do reaproveitamento destes subprodutos (BOWLES, 2005).

As partes não aproveitáveis dos alimentos poderiam ser utilizadas, enfatizando o enriquecimento alimentar, diminuindo o desperdício e aumentando o valor nutricional

das refeições, pois talos e folhas podem ser mais nutritivos do que a parte nobre do vegetal como é o caso das folhas verdes da couve-flor que, mesmo sendo mais duras, contêm mais ferro que a couve manteiga e são mais nutritivas que a própria couve-flor (SOUZA et al., 2007). De acordo com Rocha et al. (2008), cascas, talos e folhas são boas fontes de fibras e lipídios, tendo-se como exemplos as sementes de abóbora; talos de brócolis, de couve, de espinafre; cascas de banana, de laranja, de limão, de rabanete e folhas de brócolis.

A elaboração e a caracterização de farinhas, a partir de subprodutos de frutas, têm sido objeto de inúmeros estudos, que apontam boas características nutricionais e potencial para sua aplicação como ingredientes em alimentos, como observado por López-Vargas et al. (2013).

Pós alimentícios são largamente utilizados nos processos de transformação das matérias-primas agrícolas em alimentos e como produtos intermediários no processo de elaboração de alimentos, o que se justifica pelas suas características, comuns a todos os produtos secos e, ainda, pela facilidade de utilização, já que, geralmente, requer uma etapa de reidratação simples ou a incorporação direta aos outros elementos das receitas (CUQ et al., 2011). Wolfe e Liu (2003) afirmaram que ingredientes valiosos podem ser originados a partir da secagem e moagem de cascas de vegetais, sem que haja perdas significativas de fitoquímicos.

Logo, o objetivo desde trabalho foi à incorporação de farinha de semente de mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii* Trecúl), em substituição parcial a farinha de trigo no pão de mel, verificando o efeito deste nas características físicas do produto desenvolvido.

2 I MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes de mama-cadela foram obtidas em empresa privada, situada em Goiânia-Goiás, que processa frutos do cerrado. As sementes foram recebidas, separadas de sujidades e higienizadas em solução de hipoclorito de sódio a 200ppm. Depois de higienizadas, essas foram secas com auxilio de papel toalha e levadas a estufa de circulação forçada de ar á uma temperatura de 60°C, por 24hrs, aproximadamente, ate atingir 15% de umidade, preconizado pela legislação.

Os pães de mel foram elaborados, primeiramente, com quantidades diversificadas de farinha de semente de mama-cadela para ver as melhores concentrações. As duas escolhidas para uso foram às concentrações de 15% e 25% de farinha de semente de mama-cadela em substituição a farinha de trigo. Cabe ressaltar que os pães de mel formulados não foram banhados no chocolate.

Para o pão de mel, utilizaram-se ovos, margarina sem sal, açúcar, cravo da índia, canela, farinha de trigo, bicarbonato de sódio e leite, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Ingredientes para elaboração do pão de mel, com aplicação de FSMC

em substituição parcial de farinha de trigo.

Ingredientes	Tratamentos		
	Controle	15% FSMC	25% FSMC
Farinha de Trigo (g)	264	224	200
FSMC* (g)	-	40	64
Açúcar (g)	132	132	132
Leite (mL)	160	160	160
Margarina sem sal (g)	40	40	40
Mel (mL)	70	70	70
Canela em pó (g)	2	2	2
Cravo em pó (g)	1	1	1
Bicarbonato de sódio (g)	10	10	10

*FSMC= farinha de semente de mama-cadela.

Os ingredientes foram adicionados e homogeneizados com auxílio de um liquidificador, até que a massa apresentasse aspecto uniforme. A massa foi levada ao forno, há uma temperatura de 180°C por, aproximadamente, 30 mim. Após assada e resfriada, á temperatura ambiente, os pães de mel foram armazenados fechado, sob o abrigo de luz, até a realização das analises.

Foram realizadas analise de cor na superfície e miolo do pão de mel, usando o colorimetro (Color Quest, XE, Reston, EUA), de acordo com o sistema CIELab. Os resultados foram expressos em valores L*, a*, b*, sendo L* quão claro ou escuro está o produto, variando do preto (0) ao branco (100); a* variando do verde (-60) ao vermelho (+60) e b* variando do azul (-60) ao amarelo (+60). A partir dos resultados de a* e b* foram calculados os parâmetros de C*(croma) para indicar a saturação da amostra, ou seja, para descrever o brilho da cor (HUNTERLAB, 1998).

A análise de perfil de textura foi determinada mediante o uso de texturômetro (TextureAnalyser, TA-XT Plus, Surrey, Inglaterra), por meio de leitura direta nas amostras. Avaliaram-se os parâmetros de dureza, a adesividade, a elasticidade, a coesividade, a gomosidade, a mastigabilidade e a resiliência, no Laboratório multiusuário de análises de textura, UFG.

Para a realização da microscopia eletrônica de varredura (MEV), as amostras de pão de mel foram desengorduras, por meio da extração de lipídios e secas a uma temperatura de 60°C, em seguida, foram encaminhadas para o laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) no Instituto de Física, da Universidade Federal de Goiás. As capturas de imagens foram feitas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), Jeol, JSM – 6610, equipado com EDS, Thermo scientific NSS Spectral Imaging.

Todas as analises foram realizadas em cinco repetições, e as medias, foram submetidas a analise de ANOVA, utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2000). Se diferentes, foi aplicado teste de Tukey com nível de significância de 5% de probabilidade.

3 I RESULTADOS E DISCUSÃO

Na tabela 2, estão apresentados os dados obtidos para pão de mel, formulados com farinha de semente de mama-cadela, em substituição a farinha de trigo. A cor dos produtos de panificação é de extrema importância, tendo em vista que é a primeira impressão que o cliente tem acesso. Segundo Esteller e Lannes (2005), a avaliação da cor é um parâmetro crítico em produtos forneados. Pães com crosta muito clara ou muito escura estão associados a falhas no processamento. A presença de açúcares na formulação acelera reações de caramelização e Maillard, levando ao escurecimento progressivo da crosta e miolo, que podem ser desejados ou não (ESTELLER et al. 2005b). No produto aqui desenvolvido, houve a adição de açucares e mel. Pelos valores de L*, a* e b*, ficou claro observar que não houveram diferenças de cor entre os pães, quer seja entre os tratamentos ou entre casca e miolo.

Pão de mel	Local Avaliado	L*	a*	b*	C*
C*	Superfície	13,63^{a} ±4,39	7,74^{a}± 1,14	6,25^{a}± 1,49	9,97^{a}± 1,67
	Miolo	11,44^{a} ±1,86	7,11^{a} ±1,55	9,67^{a} ± 2,10	12,05^{a}±2,35
15%**	Superfície	13,82^{a}± 4,77	7,41^{a}± 1,23	6,64^{a}± 2,20	8,70^{a}± 2,31
	Miolo	12,71^{a}± 4,94	7,41^{a}± 2,09	11,29^{a}±3,81	13,54^{a}±4,18
25%**	Superfície	16,67^{a} ±3,77	6,48^{a} ±3,77	5,73^{a} ± 3,77	9,99^{a} ± 3,77
	Miolo	12,70^{a} ±1,96	6,91^{a} ±1,96	9,10^{a} ± 1,96	11,44^{a}±1,96

Tabela 2. Valores médios e desvios padrões correspondentes à determinação da cor em pão de mel com adição de farinha de semente de mama-cadela em substituição de farinha de trigo.

*C= controle, **FSMC = farinha de semente de mama cadela. *Medias ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si estatisticamente no teste de Tukey a 5%. L* – luminosidade (branco puro ao preto puro). a* – intensidade de verde (-) e vermelho (+). b* – intensidade de azul (-) e amarelo (+). C* – cromaticidade.

O perfil de textura dos pães de mel formulados com diferentes concentrações de farinha de semente de mama-cadela em substituição a farinha de trigo, pode ser visualizado na tabela 3.

A textura para produtos panificados é dependente da formulação, ou seja, qualidade da farinha, quantidade de açúcares, gorduras, emulsificantes, enzimas e mesmo a adição de glúten e melhoradores de farinha; umidade da massa e conservação (ESTELLER; LANNES, 2005a).

	Tratamentos		
Parâmetros	Controle	15% FSMC*	25% FSMC*
Dureza	2746,22^{c}±14,7	1604,42^{a} ± 7,9	2067,16^{b} ±3,25
Adesividade	181,05^{a} ± 21,66	187,52^{a}±14,7	220,56^{a} ±16,3
Elasticidade	0,72^{a} ± 0,019	0,7^{a} ±0,081	0,67^{a} ±0,044

Coesividade	0,68[a] ±0,06	0,63[a] ±0,07	0,59[a] ±0,02
Gomosidade	1869,88[b] ±19,76	1015,17[a] ± 14,7	1217,041[a] ± 16,3
Mastigabilidade	1352,87[b] ±17,5	703,76[a] ±7,4	812,47[a] ±13,34
Resiliência	0,23[a] ± 0,01	0,25[a,b] ± 0,02	0,24[a] ±0,009
Cisalhamento (N)	25,92[b]± 3,13	15,74[a] ± 3,21	16,6[a] ± 2,35

Tabela 3. Valores médios de perfil de textura em pão de mel com adição de farinha de semente de mama-cadela em substituição de farinha de trigo.

*FSMC = farinha de semente de mama-cadela. *Medias ±desvio padrão. Letras iguais na mesma linha e letras iguais na mesma coluna não diferem entre si estatisticamente no teste de Turkey a 5%.

Por meio dos dados obtidos, observou-se que a dureza teve redução no tratamento 15%, ou seja, a farinha de mama-cadela trouxe maciez ao pão de mel. Quanto a mastigabilidade, o pão de mel, com farinha de semente de mama-cadela, necessitará de menos mastigação e salivação para desintegrar-se, que o pão de mel controle. O estudo de Lee, Inglett e Carriere (2004) avaliou os efeitos da substituição parcial da margarina por farelo de aveia (Nutrim OB) e linhaça sobre as propriedades físicas e reológicas de bolos. Os autores observaram que a coesividade diminuiu e a maciez aumentou gradualmente com o aumento da substituição, demonstrando que a quantidade de farinha de bagaço de maçã utilizado, que foi de 24%, também reduziu coesividade e aumentou maciez, ou seja, a fibra advinda do bagaço de maça, assim como da farinha de semente de mama-cadela, influenciou, positivamente, na maciez do produto.

Neste trabalho, a coesividade não sofreu alteração com a adição de farinha de semente de mama-cadela, diferente da gomosidade que reduziu. Logo, a força para desintegrar o alimento é menor com a adição de FSMC. Quanto a resiliência, o tratamento 15% diferiu em relação aos demais, possuindo maior capacidade de retomar a sua estrutura original. Tais dados são comprovados pelo cisalhamento que sofreu redução significativa com a adição de FSMC, sendo assim, a incorporação de fibras pode auxiliar na maciez do produto final.

Nas imagens da Figura 1, é possível notar que em B e C, nota-se certa porosidade, provavelmente conferida pela farinha de semente de mama-cadela. Tal fato reforça e idéia de maciez, obtido na analise de textura. Os grânulos apresentaram estrutura mais achatada e menos aglomerado, o que possivelmente está ligado a capacidade da FSMC de se ligar aos demais ingredientes.

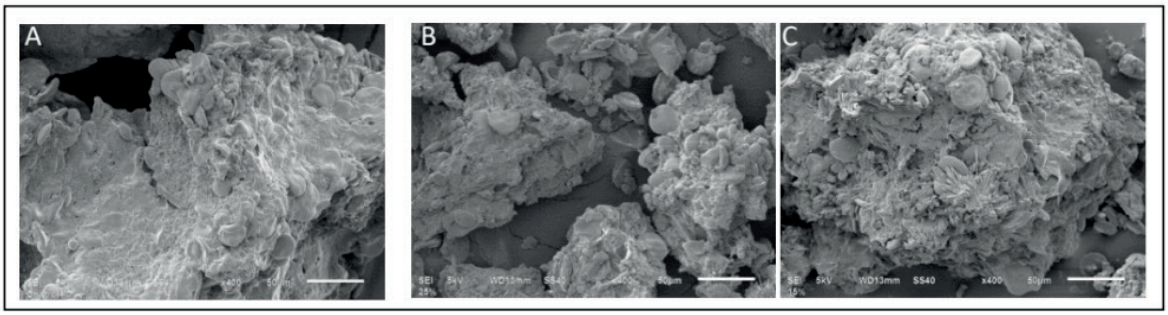

Figura 1: Microscopia eletrônica de varredura dos Paes de mel, controle (A), 15% de FSMC, 25% de FSMC respectivamente, (aumento de 400x).

4 I CONCLUSÃO

A partir das analises físicas realizadas, é possível inferir que a farinha de semente de mama-cadela é viável para substituir a farinha de trigo em até 25% para fabricação de pães de mel, pois não houve alteração na cor, conferindo maior maciez em relação ao tratamento controle.

REFERÊNCIAS

Almeida SP, Proença CEB, Sano SM, Ribeiro JF. **Cerrado – espécies vegetais úteis**. Planaltina, DF: Embrapa; p.81-4 1998.

ALMEIDA, S.P. **Cerrado:** aproveitamento alimentar. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998a. 188p.

BOWLES, S. **Utilização do subproduto da obtenção de extrato aquoso de soja okara em pães do tipo francês**. Ponta Grossa, 2005. 87 p. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG.

CUQ, B.; RONDET, E.; ABECASSIS, J. **Food powders engineering, between knowhow and science: Constraints, stakes and opportunities**. Powder Technology, v. 208, p. 244–251, 2011.

ESTELLER, M. S.; LANNES, S. C. da S. **Identidade e qualidade de produtos panificados.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 25(4): 802-806, out.-dez. 2005a

ESTELLER, M. S.; LIMA, A. C. O.; LANNES, S. C. S. **Color measurement in hamburger buns with fat and sugar replacers**. LWT, 2005b.

FERREIRA, D. F. **Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0**. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45,2000, São Carlos. Anais... São Carlos, SP: UFSCar, p-235, 2000.

HIANE, A. P. **Composição centesimal e perfil de ácidos graxos de alguns frutos nativos do Estado de Mato Grosso do sul**. Boletim do Centro de Pesquisas e Processamento de Alimentos, v. 10, n. 1, p. 35-42, 1992.

HUNTERLAB. **User´s manual with universal software versions 3.5**.Reston: Hunterlab, 1998.

JOLY, A. B**. Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 11a ed. São Paulo:

Editora Nacional, p777. 1993

LEE, S.; INGLETT, G. E.; CARRIERE, C. J. **Effect of Nutrim oat bran and flaxseed on rheological properties of cakes**. Cereal Chemistry, v. 81, n. 5, p. 637-642, 2004.

LÓPEZ-VARGAS, J. H., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A. VIUDAMARTOS, M. **Chemical, physico-chemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of dietary fiber powder obtained from yellow passion fruit (Passiflora edulis var. flavicarpa) co-products**, Food Research International, v. 51, p. 756–763, 2013.

ROCHA, S. A.; LIMA, G. P. P. Lopes, A. M.; Borguini, M. G.; Ciccone, V. R.; Beluta, I. **Fibras e lipídios em alimentos vegetais oriundos do cultivo orgânico e convencional**. Revista Simbiologias, v.1, n.2, p.1-9, 2008. Disponível em: Acesso em: 8 fev. 2012.

SILVA, D. B. da; SILVA, J. A. da; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. de. **Frutas do cerrado**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 179p.

SILVA, M. R.; LACERDA, D. B. C. L; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. de O. **Caracterização química de frutos nativos do cerrado.** *Cienc. Rural* [online]. 2008, vol.38, n.6, pp.1790-1793. ISSN 0103-8478.

SOUZA, P.D.J.; NOVELLO, D.; ALMEIDA, J. M.; QUINTILIANO, D. A. **Analise sensorial e nutricional de torta salgada elaborada através do aproveitamento alternativo de talos e cascas de hortaliças.** Alimentação e Nutrição, v.18, n.1, p.55- 60, 2007. Disponível em: Acesso em: 24 jan. 2012.

WOLFE, K. L., LIU, R. H. **Apple peels as a value-added food ingredient.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, n. 6, p. 1676-1683, 2003.

CAPÍTULO 9

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE GELEIAS COMERCIAIS DE CUPUAÇU (*Theobroma grandiflorum*)

Luzimary de Jesus Ferreira Godinho Rocha
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Campus São Luís- Monte Castelo (IFMA), Brasil.

Valdênia Cristina Mendes Mendonça
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Campus São Luís-Maracanã (IFMA), Brasil.

Rachel Fernandes Torquato
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Campus São Luís-Maracanã (IFMA), Brasil.

Francisco José da Conceição Lima
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Campus São Luís-Maracanã (IFMA), Brasil.

Ocilene Maria Correia Ferreira
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Campus São Luís-Maracanã (IFMA), Brasil.

Javier Telis-Romero
Universidade Estadual Paulista, Campus de São José do Rio Preto (UNESP), Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Brasil.

José Francisco Lopes Filho
Universidade Estadual Paulista, Campus de São José do Rio Preto (UNESP), Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Brasil.

RESUMO: A Reologia é a ciência que estuda as propriedades mecânicas dos materiais que determinam seu escoamento quando solicitadas por forças externas. O objetivo de se determinar o comportamento reológico de uma geleia comercial de cupuaçu nas temperaturas de 20ºC, 30ºC, 40ºC, 50ºC e 60ºC é identificar o modelo mais adequado para descrever o comportamento reológico desse tipo de geleia, a fim de se obter parâmetros para a produção deste tipo de produto. As análises reológicas foram determinadas por um reômetro rotacional do tipo cone e placa, localizado no DETA/UNESP. Os dados experimentais foram ajustados aos modelos de Newton, Ostwald-de-Waelle e Bingham, sendo que o modelo mais adequado para descrever o comportamento reológico do produto estudado foi o de Ostwald-de-Waelle, pois apresentou coeficientes de determinação (R^2) superiores a 0,99 e menores valores de erro em todas as temperaturas estudadas. As amostras apresentaram comportamento não-newtoniano e caráter pseudoplástico.

PALAVRAS–CHAVE: cupuaçu, modelos, reogramas.

ABSTRACT: The Rheology is the science that studies the mechanical properties of materials that determine its flow when requested by external forces. The aim of determining the rheological behavior of a commercial jelly cupuaçu in 20ºC temperatures, 30ºC, 40ºC, 50ºC and 60ºC, and identifying the best model to describe the rheological behavior of cupuaçu jelly in order to obtain parameters for the production of this type of product. The rheological analyzes were determined by a cone

rheometer plate type and located on DETA/UNESP. The experimental data were fit to the models Newton, Ostwald-de-Waelle and Bingham, and the most adequate model to describe the rheological behavior of the studied product was Ostwald-de-Waelle as presented coefficients of determination (R^2) higher 0,99 and smaller error values at all temperatures studied. The samples showed non-Newtonian shear thinning behavior and character.
KEYWORDS: fruit, models, rheogram.

1 I INTRODUÇÃO

As frutas representam quase 60% da dieta mundial. Ao usá-las, muitas vezes, ocorrem desperdícios de várias partes das mesmas que poderiam consideravelmente reduzir desperdícios e agregar valor. De acordo com Zubem (2008), o resíduo sólido urbano brasileiro ainda possui concentração muito elevada de matéria orgânica constituída em maior proporção por resíduos de alimentos.

As medidas ou predições das propriedades reológicas de alimentos são muito importantes em cálculos de engenharia de processos, controle de qualidade e determinação das propriedades de ingredientes, entre outros (CASTRO, 2004).

A Reologia é definida como a ciência do escoamento e da deformação dos materiais, é fundamental e interdisciplinar, pois vem ganhando importância dentro da engenharia de processos, na qual inclui o estudo das deformações e do escoamento das matérias-primas, dos produtos intermediários e finais das indústrias alimentícias (GABAS *et al.*, 2012). O conhecimento dos parâmetros reológicos obtidos com o ajuste das equações matemáticas às propriedades de fluxo é fundamental nos cálculos para dimensionamento de equipamentos e processos, além de ser de grande interesse no controle de qualidade (CAPELLI, 2012).

A maioria dos alimentos fluidos requer modelos complexos para sua caracterização (TABILO-MUNIZAGA e BARBOSA-CÁNOVAS, 2005). Para caracterizar um fluido, existem vários modelos e os mais comumente utilizados são: Ostwald-de-Waelle de Waele, Plástico de Bingham, Hershel-Bulkley, Casson e Newton (STEFFE, 1996). A função de viscosidade de Ostwald-de-Waelle – Lei da Potência é uma das utilizadas para adequar os dados de viscosidade dos materiais viscoplásticos (GUEDES, *et al.*, 2010).

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum) é uma fruta típica da Amazônia. No gênero Theobroma, o cupuaçu é o que apresenta maior tamanho. Sua polpa é utilizada na elaboração de sucos, sorvetes, picolés, geleias, iogurtes, doces e compotas.

Análises da polpa dessa fruta revelam excelentes características e teores médios de P (fósforo), K (potássio), Ca (cálcio) e 33 mg de vitamina C em100 g de polpa (SOUZA et al., 2007). As geleias são doces simples e rápidos que podem ser elaborados com diversas partes das frutas, até aquelas que normalmente são desperdiçadas, como

cascas, talos, etc.

Neste trabalho as geleias de cupuaçu utilizadas foram adquiridas no comércio local em São Luís do Maranhão que serviram de teste para elaboração da tabela 1, onde se encontram os modelos reológicos de Newton, Ostwald-de-Waelle (Os-W) e Bingham.

2 I MATERIAL E MÉTODOS

A matéria-prima utilizada para este estudo foi geleia de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum)*, adquirida no comércio local em São Luís - MA.

O comportamento reológico da geleia de cupuaçu foi determinado por meio de um reômetro rotacional AR-G2, (marca TA Instruments, New Castel, DE) e estudado nas temperaturas de 20ºC, 30ºC, 40ºC, 50ºC e 60ºC, de forma a identificar o modelo reológico mais adequado para descrever o comportamento reológico deste produto, a fim de se obter parâmetros para a produção de geleia.

Para identificação de modelos reológicos é importante conhecer os parâmetros relacionados ao fluxo do fluido: a tensão de cisalhamento (τ) e a taxa de deformação ( ), que depende de uma correlação entre si. O primeiro a descrever uma lei que representasse a relação entre esses dois parâmetros para fluidos ideais foi Isaac Newton (Equação 1): onde η representa a viscosidade dinâmica, constante, se mantidas as condições de temperatura e pressão.

O Modelo de Ostwald-de-Waelle (Equação 2), na qual: K é o índice de consistência do fluido, $\boldsymbol{\gamma}$ é a inclinação da curva.

Para o Modelo de Bingham (Equação 3), na qual: τ_0 é a tensão de cisalhamento inicial, η_B é uma constante análoga à viscosidade de fluidos newtonianos. Nesse caso, os modelos de Ostwald-de-Waelle (Equação 2) e de Bingham (Equação 3), tornam-se análogos aos modelos de Newton (Equação 1).

Se o parâmetro η assume valor entre 0 e 1, o fluido apresenta comportamento pseudoplástico e se o parâmetro é maior que 1, o comportamento reológico é dilatante (CAPELLI, 2012).

Modelo	Tensão de cisalhamento	Equação
Newton	$\tau = \eta \cdot \gamma$	(1)
Os-W	$\tau = \kappa \cdot \gamma^{\eta}$	(2)
Bingham	$\tau = \tau_0 + \eta_B \cdot \gamma$	(3)

Tabela 1 - Modelos reológicos utilizados nos ajustes das análises

Onde $\boldsymbol{\tau}$ é a tensão de cisalhamento (Pa); $\boldsymbol{\gamma}$ é a taxa de deformação (s^{-1}); (mPa·s), e o índice de consistência; dos modelos e e (adimensionais) são os índices de comportamento reológico.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores experimentais obtidos em relação a tensão de cisalhamento e taxa de deformação foram ajustados, através de regressão não linear, aos modelos de reológicos de Bingham (Equação 1), Herschel-Bulkley (Equação 2) e Ostwald-de-Waelle (Equação 3). Os ajustes foram realizados com o auxílio do software Statistica 8.0 (StatSoft®). A tabela 2 apresenta os dados obtidos: tensão de cisalhamento, taxa de deformação e viscosidades.

Temperatura	Modelo Newton	Modelo Os-W	Modelo Bingham
20°C	=0,34611 γ^2=0,72703	K=4,22468 γ^2=0,99991 =0,50549	=0,27079 τ_0=10,57708 γ^2=0,93301
30°C	=0,27833 γ^2=0,67205	K=3,83871 γ^2=0,99966 =0,48091	=0,21264 τ_0=9,22479 γ^2=0,92404
40°C	=0,23113 γ^2=0,96718	K=0,78017 γ^2=0,99960 =0,76150	=0,21330 τ_0=2,50492 γ^2=0,98653
50°C	=0,10455 γ^2=0,88540	K=0,71980 γ^2=0,99990 =0,62015	=0,08946 τ_0=2,11935 γ^2=0,96302
60°C	=0,09305 γ^2=0,90620	K=0,56562 γ^2=0,99993 =0,64492	=0,08083 τ_0=1,71578 γ^2=0,96882

Tabela 2 - Parâmetros reológicos para os ajustes ao modelo de Newton, Ostwald-de-Waelle (Os-W) e Bingham para a geleia de Cupuaçu, nas temperaturas de 20ºC a 60ºC

Observando os resultados apresentados na Tabela 2 percebe-se que o modelo de Ostwald-de-Waelle foi o que representou de forma mais satisfatória os dados experimentais, por ter apresentado os maiores valores de γ^2 em todas as temperaturas analisadas, resultado também encontrado por Rodrigues et. al. (2014), pesquisando a caracterização reológica da polpa de araticum (*Annona crassiflora Mart*), identificou que os modelos que melhor representaram o seu comportamento reológico foram os modelos de Herschel-Bulckey e Ostwald-de-Waelle.

A maioria dos fluidos alimentícios, por exemplo, apresenta comportamento pseudoplástico, em que a viscosidade, que independe do tempo, diminui com o aumento da taxa de deformação Polpas e sucos concentrados de frutas (RAO e RIZVI, 1995, TELIS ROMERO *et al.*, 1999), gema de ovo (TELIS-ROMERO *et al.*, 2005). Pode-se observar que este modelo empírico do comportamento reológico apresentou um excelente ajuste aos dados experimentais nas temperaturas entre 20°C a 60°C. Os valores do índice de fluxo () foram inferiores a 1 (0 < < 1), o fluido é considerado não-newtoniano e pseudoplástico. O modelo Lei da Potência deu uma boa descrição

dos dados reológicos em todas as temperaturas.

4 I CONCLUSÕES

O modelo que melhor representa o comportamento reológico foi o de Ostwald-de-Waelle, pois apresentou maiores valores de γ^2 e superiores a 0,99 em todas as temperaturas estudadas. Indica desta forma, que a geleia de cupuaçu apresenta um comportamento não newtoniano, característica pseudoplástica.

5 I AGRADECIMENTOS

À UNESP-Campus de São José do Rio Preto-SP nas pessoas dos Professores Doutores José Francisco Lopes Filho e Javier Telis Romero pelos conhecimentos adquiridos durante o Doutorado Interinstitucional em Engenharia e Ciência de Alimentos.

REFERÊNCIAS

CASTRO, A. G. **A Química e a Reologia no Processamento dos Alimentos**. Porto Alegre: Instituto Piaget. p.32-57. 2004.

CAPELLI, A. Influência da faixa de taxas de deformação na precisão de caracterizações reológicas de fluidos. **Dissertação**. Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, área de Engenharia de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto. 2012, 89 p.

GABAS, A. L; MENEZES, R. S; TELIS-ROMERO, J. **Reologia de Biocombustíveis.** Lavras: INDI, 2012. 156p.

GUEDES, D. B.; RAMOS, A. M.; DINIZ, M. D. M. S. **Efeito da temperatura e da concentração nas propriedades físicas da polpa de melancia. Brazilian Journal of Food Technology,** v. 13, n. 4. Campinas – São Paulo, p.279-285. 2010.

RAO, M. A.; RIZVI, S.S.H., **Engineering Properties of Foods**. 2a ed., Marcel Dekker Inc., 1995, 531p.

RODRIGUES, C. G., DOMINGUES, R. C. C., SILVA, W. A., REIS. M. H. M., CARLOS, L. A. e CALLEGARI, F. C. **Caracterização Reológica da Polpa de Araticum (*Annona crassiflora* Mart).** vol. 1 n. 2. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis – SC, fevereiro 2015.

SOUZA, J. M. L. de., REIS, F. S., SOUZA, J. M. L de., LEITE, F.M. N., GONZAGA, D.S. DE O. **Geleia de cupuaçu**. **Coleção Agroindústria Familiar.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. 47 p. EMBRAPA. Disponível em: <www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/84219/1/00081290.pdf>. Acessado em: 12 jun. 2015.

STEFFE, J.F. **Rheological methods in food process engineering.** Michigan : Freeman Press, 2.ed. 1996. 418p.

TABILO-MUNIZAGA, G., BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. **Rheology for the food industry. Journal of Food Engineering.** v. 67. Berkeley. p.147-156. 2005.

TELIS-ROMERO, J., POLIZELLI, M. A., GABAS, A. L. and TELIS, V. R. N., **Friction losses in valves and fittings for viscoplastics fluids, Can. J. Chem. Eng.**, v.83. P.181-187. 2005.

TELIS-ROMERO, J., TELIS, V. R. N. and YAMASHITA, F. **Friction factors and rheological properties of orange juice. Journal of Food Engineering.** v.40, p. 101-106. 1999.

ZUBEM, F. V**. Sustentabilidade é não Desperdiçar Alimentos e Incentivar a Coleta Seletiva. Planeta Sustentável**. São Paulo: Editora Abril S.A. 2008.

CAPÍTULO 10

LEVEDURA RESIDUAL CERVEJEIRA: CARACTERÍSTICAS E POTENCIAIS APLICAÇÕES

Darlene Cavalheiro
Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química, Universidade do Estado de Santa Catarina, Pinhalzinho, Santa Catarina, Brasil.

Angélica Patrícia Bertolo
Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química, Universidade do Estado de Santa Catarina, Pinhalzinho, Santa Catarina, Brasil.

Aniela Pinto Kempka
Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química, Universidade do Estado de Santa Catarina, Pinhalzinho, Santa Catarina, Brasil.

Luciana Alberti
Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química, Universidade do Estado de Santa Catarina, Pinhalzinho, Santa Catarina, Brasil.

Mirieli Valduga
Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química, Universidade do Estado de Santa Catarina, Pinhalzinho, Santa Catarina, Brasil.

Marana Sandini Borges
Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química, Universidade do Estado de Santa Catarina, Pinhalzinho, Santa Catarina, Brasil.

Ana Paula Biz
Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química, Universidade do Estado de Santa Catarina, Pinhalzinho, Santa Catarina, Brasil.

Elisandra Rigo
Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química, Universidade do Estado de Santa Catarina, Pinhalzinho, Santa Catarina, Brasil.

RESUMO: A cerveja é uma bebida consumida mundialmente, sendo uma das mais apreciadas. Trata-se de um produto obtido a partir da fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com a adição de lúpulo. Durante seu processamento, vários resíduos e subprodutos são gerados, sendo mais comuns os grãos de malte, o lúpulo e a levedura excedente da fermentação. Entre estes, a biomassa da levedura *Saccharomyces* sp. ganha ênfase devido à quantidade na qual é produzida e seu descarte, muitas vezes inadequado. Parte dessa levedura é destinada à ração animal, entretanto, pesquisas demostram que sua aplicação na alimentação humana surge como uma alternativa viável, proporcionando um amplo aproveitamento desta. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica desse subproduto cervejeiro, enfatizando suas características e potenciais aplicações. Essa

pesquisa foi realizada por meio de consulta a livros e artigos científicos, os quais foram selecionados em bases de dados reconhecidas. Os trabalhos encontrados sobre as características e possíveis aplicações desse subproduto aparecem como uma importante linha de pesquisa. A aplicação da levedura cervejeira seja na alimentação humana, animal ou processos biotecnológicos podem contribuir positivamente no contexto ambiental e econômico.
PALAVRAS-CHAVE: subproduto, *Saccharomyces* sp., características, aproveitamento, aplicação.

ABSTRACT: Beer is a drink consumed worldwide, being one of the most appreciated. It is a product obtained from the alcoholic fermentation of brewer's wort from barley malt and drinking water by yeast, with the addition of hops. During its processing, various wastes and by-products are generated, with malt grains, hops and yeast being the most common in fermentation. Among these, the yeast biomass *Saccharomyces* sp. gains emphasis because of the quantity in which it is produced and its often inappropriate disposal. Part of this yeast is intended for animal feed, however, research shows that its application in human food appears as a viable alternative, providing a wide use of it. In this context, the present work aims to carry out a bibliographic review of this brewery byproduct, emphasizing its characteristics and potential applications. This research was carried out by consulting books and scientific articles, which were selected in recognized databases. The works found on the characteristics and possible applications of this by-product appear as an important line of research. The application of brewer's yeast in human food, animal or biotechnological processes can contribute positively in the environmental and economic context.
KEYWORDS: by-product, *Saccharomyces* sp., characteristics, exploitation, application.

1 I INTRODUÇÃO

A cerveja é a quinta bebida mais consumida no mundo, perdendo apenas para chás, bebidas carbonatadas, leite e café. Na indústria de alimentos e bebidas, o setor cervejeiro detém importante posição na economia, com uma estimativa de consumo mundial anual superior 188 milhões de quilolitros no ano de 2013 (KIRIN BEER UNIVERSITY, 2014). De acordo com a Associação Brasileira da Indústria da Cerveja (2016) o Brasil ocupa o terceiro lugar no ranking mundial de produção de cerveja, com 14 bilhões de litros por ano, representando 1,6% do PIB Nacional.

A cerveja é considerada uma bebida nutritiva, pois apresenta em sua composição proteínas, carboidratos (glicose, maltose, frutose, etc.), sais minerais (cálcio, fósforo, potássio, magnésio, etc.) e vitaminas do complexo B (BRIGGS et al., 2004; ALIYU; BALA et al., 2011). É uma bebida obtida a partir da fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com a adição de lúpulo (BRASIL, 2009). No entanto, durante sua fabricação, vários resíduos e subprodutos são gerados, sendo os mais comuns grãos de malte, lúpulo e levedura

excedente da fermentação (MUSSATTO et al., 2009).

Em indústrias cervejeiras, a produção da cerveja inicia-se com o processo de brasagem, o qual compreende as etapas de moagem do malte, mosturação, clarificação e fervura (FILLAUDEAU; BLANPAIN-AVET; DAUFIN, 2006). Na sequência realiza-se o resfriamento do mosto e a aeração do mesmo, seguida de fermentação, maturação e filtração. Na etapa de fermentação a levedura é adicionada ao mosto, convertendo os açúcares presentes no malte em etanol e dióxido de carbono. Na etapa de maturação, observa-se a separação da biomassa de levedura do restante do sobrenadante. Após a filtração, a cerveja segue para envaze e pasteurização, enquanto parte da levedura é novamente adicionada ao processo de fermentação e a parte excedente é descartada (MUSSATTO et al., 2006).

A biomassa da levedura *Saccharomyces* sp. representa para o Brasil um subproduto de interesse, pois além de ser gerada durante a fabricação de bebidas fermentadas, como cerveja, cachaça e vinho, também é originada durante a produção de etanol. Tipicamente, a quantidade total de biomassa da levedura *Saccharomyces* produzida na fermentação por cerveja lager, por exemplo, é de cerca de 1,7 kg/m^3 a 2,3 kg/m^3 de produto final (HELLBORG; PISKUR, 2009; HUIGE, 2006). Assim, por exemplo, em 2016, foram produzidos no Brasil mais de 14 bilhões de litros de cerveja (CERVBRASIL, 2016), consequentemente, foram gerados aproximadamente 24 milhões de quilos de levedura residual. Em vista disso, estudos que buscam viabilizar a aplicação dessa biomassa para outras finalidades podem contribuir para duas principais vertentes: viabilidade econômica e ação ambientalmente correta.

Neste contexto, o presente trabalho tem por objetivo realizar uma revisão bibliográfica da biomassa da levedura cervejeira, enfatizando suas características gerais e potenciais aplicações.

2 I METODOLOGIA

Este estudo constitui-se de uma revisão da literatura sobre a levedura residual cervejeira, realizada entre agosto de 2016 e abril de 2017, na qual realizou-se uma consulta a livros, periódicos e artigos científicos que abordavam o tema, as características, aplicações e estudos de viabilidade desse subproduto. Foi encontrada uma gama variada de estudos nessa linha de pesquisa, porém foram selecionadas algumas fontes com diferentes segmentos de pesquisa para o desenvolvimento deste trabalho.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

A levedura residual cervejeira e suas características

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é amplamente utilizada na produção de etanol, produtos de panificação, assim como no processamento de bebidas alcóolicas

fermentadas (cervejas, vinho, cachaça). Na fabricação de cervejas, essa espécie de levedura é o bioagente responsável por converter o amido presente no malte, em etanol e dióxido de carbono, processo conhecido como fermentação alcóolica. Quando a fermentação é encerrada, segue-se o período de maturação, onde a massa de levedura excedente é recuperada por sedimentação natural (MUSSATTO et al., 2006).

Devido seu rápido crescimento durante a etapa de fermentação, a massa da levedura pode multiplicar-se cerca de 3 a 5 vezes, gerando um excedente de produção, tornando-se o segundo maior resíduo das cervejarias (BRIGGS et al., 2004). O processo de reciclo da levedura é uma prática comum nas indústrias cervejeiras, entretanto, há limitação no número de reutilização, de forma a manter a eficiência de produção e a qualidade da bebida (OLAJIRE, 2012).

A levedura cervejeira é considerada segura, apresentando significativo caráter proteico (entre 40% e 58%), com a presença de aminoácidos essenciais (ácido glutâmico, histidina, alanina) (VIEIRA et al., 2016), carboidratos, sais minerais e vitaminas do complexo B (BEKATOROU et al., 2006; FERREIRA et al., 2010; VIEIRA; BRANDÃO; FERREIRA, 2013). A única espécie totalmente aceitável como alimento para seres humanos é a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (FILLAUDEAU; BLANPAIN-AVET; DAUFIN, 2006).

Dessa forma, o excedente de levedura da fermentação alcoólica pode ser aproveitado na alimentação animal e humana em sua forma íntegra ou de derivados de levedura, tanto para enriquecimento nutritivo e funcional (MUSSATTO et al, 2006), como um coadjuvante de produção (flavorizante, antioxidante, emulsificante) de alimentos (PINTO, 2011). Entretanto, a utilização da levedura íntegra em produtos alimentícios é geralmente limitada devido ao odor e sabor indesejáveis da levedura seca (HALÁSZ; LÁSZTITY, 1991). Outro fator limitante na utilização da biomassa de levedura como fonte proteica para consumo humano é o seu alto conteúdo de ácido nucleico, principalmente o ácido ribonucleico (RNA), que pode atingir um terço do total proteico da célula (WASLIEN et al., 1970).

A separação de compostos de levedura intracelular para uso em aplicações alimentares requerem meios eficientes de separação da parede celular. Várias metodologias para a repartição do fermento foram relatadas por outros autores, entre elas, destacam-se: métodos físicos, como temperaturas elevadas (TANGÜLER; ERTEN, 2009), ultrassom (GAO et al., 2014), alta pressão (SHYNKARYK et al., 2009); métodos químicos, com a utilização de álcalis, solventes orgânicos, detergentes e ácidos (YAMADA et al., 2010; ISHII et al., 2016); e métodos enzimáticos (TORRESI et al., 2014). Ainda, alguns reagentes e técnicas podem ser empregados para isolamento da proteína de levedura com baixo teor de RNA (FERREIRA et al., 2010).

Aplicações da levedura residual cervejeira

A levedura cervejeira é comercializada em sua maioria como alimento para

animais, com custo inferior, após a inativação da levedura pelo calor. Estudos mostram que as leveduras secas são uma excelente fonte de proteína para suínos e ruminantes (HUIGE, 2006), podendo auxiliar também no crescimento de peixes (LARA-FLORES et al., 2002), e como fonte de nutrientes para o crescimento de micro-organismos exigentes ou a formação de produtos relacionados (FERREIRA et al., 2010).

A biomassa de levedura pode ser utilizada na indústria de alimentos para produzir concentrados de proteína de levedura (e isolados) enquanto ainda retêm suas propriedades funcionais e valores nutritivos. Produtos de levedura de cerveja são normalmente encontrados na forma de pós, flocos ou comprimidos, ou em forma líquida. A levedura líquida contém fermento digerido enzimaticamente para melhor digestão, absorção e utilização. Estes produtos podem ser aspergidos em alimentos, usados como tempero ou misturados com leite, sucos, sopas e molhos (FERREIRA et al., 2010).

A aplicação de derivados de levedura, como ingrediente flavorizante e complemento nutritivo dos alimentos, têm sido bastante enfatizados na literatura. O valor nutritivo, particularmente da proteína, de preparados de células íntegras e rompidas mecanicamente e de concentrados proteicos de *Saccharomyces* sp., também vem ganhando espaço na literatura (HALÁSZ; LÁSZTITY, 1991; CABALLERO-CÓRDOBA; PACHECO; SGARBIERI, 2000).

Diversos trabalhos avaliaram a utilização desses derivados de levedura em alimentos, entre eles estão: extrato de levedura em salsichas (YAMADA et al., 2010) e presuntos (PANCRAZIO et al., 2016); autolisado desidratado em pão de queijo (RAMOS et al., 2011); autolisado e extrato em farinhas de milho (ALVIM et al., 2002) e macarrão (SANTUCCI et al., 2003); autolisado desidratado em farinhas à base de mandioca (PINTO, 2011) e mingau de tapioca (PINTO et al, 2010).

4 I CONCLUSÃO

A partir do exposto, nota-se que a levedura residual cervejeira representa uma importante linha de estudo referente as suas características e possibilidades de aplicação, já que a proteína derivada de micro-organismos unicelulares é uma fonte alternativa viável, podendo substituir proteínas convencionais de alto custo. A biomassa de levedura pode ser empregada na indústria de alimentos para produzir concentrados e isolados proteicos de levedura, mantendo suas propriedades funcionais e valores nutritivos, podendo ainda ser aplicada como um coadjuvante de produção.

REFERÊNCIAS

ALVIM, I. D.; SGARBIERI, V. C.; CHANG, Y. K. **Desenvolvimento de farinhas mistas extrusadas à base de farinha de milho, derivados de levedura e caseína.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 22, n. 2, p. 170-176, Mai./Ago. 2002.

ALIYU, S.; BALA, M. **Brewer's spent grain: a review of its potentials and applications**. African Journal Biotechnology, v. 10, n. 3, p. 324-331, Jan. 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DA CERVEJA (CERVBRASIL). Design Anuário. Disponível em: <http://www.cervbrasil.org.br/>. Acesso em: 4 abr. 2017.

BEKATOROU, A.; PSARIANOS, C.; KOUTINAS, A. **Production of food grade yeasts**. Food Technology and Biotechnology, [S.I], v. 44, n. 3, p. 407-415, Jan. 2006.

BRASIL. Decreto Nº 6.871, de 04 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, 2009.

BRIGGS, D. E. et al. ***Brewing Science and Practice***. Florida: CRC Press LLC and Woodhead Publishing Limited, 2004, p. 863.

CABALLERO-CÓRDOBA, G. M.; PACHECO, M. T. B.; SGARBIERI, V. C. **Composição química de biomassa de levedura integral (*Saccharomyces cerevisiae*) e determinação do valor nutritivo da proteína, em células íntegras ou rompidas mecanicamente**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 17, n. 2, p. 102-106, Mai./Ago. 1997.

FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; PINHO, O.; VIEIRA, E.; TAVARELA, J. G. **Brewer's Saccharomyces yeast biomass: characteristics and potential applications**. Trends in Food Science & Technology, Portugal, [S.I], v. 21, n. 2, p. 77-84.

FILLAUDEAU, L.; BLANPAIN-AVET, P.; DAUFIN, G. **Water, wastewater and waste management in brewing industries**. Journal of Cleaner Production, v. 14, n. 5, p. 463-471, Jan./Mar. 2006.

GAO, S. et al. **Inactivation of bacteria and yeast using high-frequency ultrasound treatment**. Water Research, v. 60, p. 93-104, Set. 2014.

HALÁSZ, A.; LÁSZTITY, R. **Use of yeast biomass in food production**. Boca Raton: CRC Press, FL, 1991, p. 312.

HELLBORG, L.; PISKUR, J. **Yeast diversity in the brewing industry**. In V. R. Preedy (Ed.), Beer in health and disease prevention. New York: Elsevier. p. 1068-1073, 2009.

HUIGE, N. J. **Brewery by-products and effluents**. In F. G. Priest, & G. G. Stewart (Eds.), Handbook of brewing Boca Raton: CRC Press, 656-713, 2006.

ISHII, J. et al. **From mannan to bioethanol: cell surface co-display of β-mannanase and β-mannosidase on yeast *Saccharomyces cerevisiae***. Biotechnology for Biofuels, [S.I], v. 9, n. 1, Ago./Set. 2016.

LARA-FLORES, M. et al. **Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)**. Aquaculture, [S.I], v. 216, n. 1-4, p. 193-201, Fev. 2003.

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I. C. **Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential application**. Journal of Cereal Science, [S.I], v. 43, n. 1, p. 1-14, Jan. 2006.

OLAJIRE, A. A. **The brewing industry and environmental challenges**. Journal of Cleaner Production, [S.I], p. 1-21, Mar. 2012.

PANCRAZIO, G. et al. **Spent brewer's yeast extract as an ingredient in cooked hams**. Meat Science, v. 121, p. 382-389, Nov. 2016.

PINTO, L. C. **Aproveitamento de produtos derivados de levedura (Saccharomyces spp.) para enriquecimento nutricional de alimentos à base de mandioca (Manihot esculenta CRANTZ)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

PINTO, L. C. et al. **Teste de aceitação sensorial de mingau de tapioca acrescido de biomassa de levedura**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS (CBCTA), 22., 2010, Salvador. Anais... SBCTA: Salvador, 2010.

RAMOS, G. R. V. et al. **Caracterização química do autolisado de levedura de alambique e avaliação da aceitabilidade do pão de queijo adicionado do autolisado desidratado**. Revista de Nutrição, Campinas, v. 24, n. 3, p. 473-484, Mai./Jun. 2011.

SANTUCCI, M. C. C. et al. **Enriquecimento de macarrão tipo tubo (massa curta) com derivados de levedura (*Saccharomyces* sp.): impacto nutricional e sensorial**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 23, n. 2, p. 290-295, Mai./Ago. 2003.

SHYNKARYK, M. V. et al. **Electrically-assisted extraction of bio-products using high pressure disruption of yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*)**. Journal of Food Engineering, [S.l], v. 92, n. 2, p. 189-195, Mai. 2009.

TANGÜLER, H.; ERTEN, H. **The Effect of Different Temperatures on Autolysis of Baker's Yeast for the Production of Yeast Extract**. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, [S.l], v. 33, n. 2, p. 149-154, Jan. 2009.

TORRESI, S. et al. **Effects of a β-glucanase enzymatic preparation on yeast lysis during aging of traditional sparkling wines**. Food Research International, [S.l], v. 55, p. 83-92, Jan. 2014.

VIEIRA, E.; BRANDÃO, T.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O. **Evaluation of Brewer's Spent Yeast To Produce Flavor Enhancer Nucleotides: Influence of Serial Repitching**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, [S.l], v. 61, n. 37, p. 8724-8729, 2013.

VIEIRA, E. F. et al. **Nutritive value, antioxidant activity and phenolic compounds profile of brewer's spent yeast extract**. Journal of Food Composition and Analysis, [S.l], v. 52, p. 44-51, Set. 2016.

WASLIEN, C. I. et al. **Uric acid levels in men fed algae and yeast as protein sources**. Journal Food Science, Chicago, v. 35, n. 3, p. 294-298, Mai. 1970.

WASSWA, J. et al. **Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (Ctenopharyngodon idella) skin**. Food Chemistry, [S.l], v. 104, n. 4, p. 1698-1704, Mar. 2007.

YAMADA, E. A. et al. **Utilização de extrato de levedura (*Saccharomyces* spp.) de destilaria de álcool em salsicha**. Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v. 13, n. 3, p. 197-204, Jul./Set. 2010.

CAPÍTULO 11

MORTADELA TIPO BOLOGNA ADICIONADA DE FARINHA DE SEMENTE DE ABÓBORA (*Cucurbita maxima*) COMO ANTIOXIDANTE NATURAL

Marcia Alves Chaves
UDC Centro Universitário, Faculdade Educacional de Medianeira, Departamento de Agronomia, Medianeira, Paraná

Denise Pastore de Lima
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Departamento de Alimentos, Medianeira, Paraná

Cristiane Canan
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Departamento de Alimentos, Medianeira, Paraná

Letícia Kirienco Dondossola
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, Medianeira, Paraná

Keila Tissiane Antonio
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, Medianeira, Paraná

RESUMO: A mortadela é um embutido cárneo de elevada aceitação mundial e com produção crescente no Brasil. Contudo, devido ao elevado teor de gordura em sua composição, este produto sofre oxidação lipídica, a qual agrava-se no período de armazenamento. Para diminuir estes mecanismos oxidativos, comumente é utilizado o eritorbato de sódio como antioxidante sintético, porém, existe uma forte tendência pelo uso de ingredientes naturais em produtos processados no intuito de agregar as características tecnológicas sensoriais a uma alimentação saudável. Por este motivo, o objetivo deste presente trabalho foi elaborar formulações de mortadela com adição de farinha de semente de abóbora (1, 3 e 5%) como antioxidante natural em comparação ao eritorbato de sódio e analisar estes produtos quantos suas características de composição centesimal, física, instrumental e sensorial e a oxidação lipídica no período de 60 dias. Verificou-se que a maior taxa de substituição do antioxidante sintético pela farinha influenciou no aumento do teor de proteína e lipídios totais diminuindo o teor de umidade. A elevação da concentração desta farinha também foi evidenciada na análise de TBARS, a qual indicou redução da oxidação lipídica durante o período de armazenamento, possibilitando sua aplicação em produtos cárneos. A adição de diferentes concentrações desta farinha não demonstrou ser significante quanto a textura instrumental, pH e quanto ao parâmetro luminosidade. Para a análise sensorial, a formulação com até 3% de antioxidante natural não apresentou diferenças estatísticas com relação a padrão com antioxidante sintético, em todos os atributos avaliados.

PALAVRAS-CHAVE: Embutido cárneo; TBARS; eritorbato de sódio; antioxidante natural.

ABSTRACT: The mortadella is a meat embedded with high acceptance worldwide

and with increasing production in Brazil. However, due to the high fat content in its composition, this product undergoes lipid oxidation, which worsens in the storage period. To reduce these oxidative mechanisms, sodium erythorbate is commonly used as a synthetic antioxidant. However, there is a strong trend towards the use of natural ingredients in processed products in order to aggregate the sensory technological characteristics to a healthy diet. For this reason, the objective of this present work was to elaborate formulations of mortadella with addition of pumpkin seed flour (1, 3 and 5%) as a natural antioxidant in comparison to sodium erythorbate and to analyze these products how many their characteristics of centesimal composition, physical, instrumental and sensorial and lipid oxidation in the period of 60 days. It was verified that the greater substitution rate of the synthetic antioxidant for the flour influenced in the increase of the protein content and total lipids decreasing the moisture content. The increase of the concentration of this flour was also evidenced in the TBARS analysis, which indicated reduction of the lipid oxidation during the storage period, allowing its application in meat products. The addition of different concentrations of this flour did not prove to be significant regarding the instrumental texture, pH and the luminosity parameter. For the sensory analysis, the formulation with up to 3% of natural antioxidant did not present statistical differences in relation to the standard with synthetic antioxidant, in all attributes evaluated.
KEYWORDS: Meat sausage; TBARS; sodium erythorbate; natural antioxidant.

1 I INTRODUÇÃO

De acordo com a Instrução normativa n.º 4 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) a mortadela é designada como produto cárneo industrializado, obtido de uma emulsão das carnes de animais de açougue, acrescido ou não de toucinho, adicionado de ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, em diferentes formas, e submetido ao tratamento térmico adequado (BRASIL, 2000).

Por se tratar de um produto industrializado com teor de lipídios considerável (máximo de 30%), a mortadela está sujeita a oxidação lipídica, sendo necessário o uso de mecanismos que minimizem estas intercorrências. Segundo Bourscheid (2009) essas reações químicas do oxigênio atmosférico com o alimento são acelerados na presença de determinados íons metálicos livres e também pela ação da luz e do calor.

Uma das alternativas para reduzir o efeito oxidante é utilizar-se de agentes sintéticos como o eritorbato de sódio, empregado frequentemente em derivados cárneos devido seu amplo espectro de atuação, além de possuir atividade em baixas concentrações sem alterar as características do alimento processado (ADTEC, 2015).

Contudo, o apelo por ingredientes naturais tem sido frequentemente questionado por consumidores preocupados com a saúde, mobilizando órgãos de pesquisa a buscarem fontes vegetais de compostos com propriedades antioxidantes. Conforme

descrito por Garcia, Kimura e Mauro (2005), a farinha de semente de abóbora apresenta propriedades antioxidantes devido à presença de vitamina E, principalmente na forma dos isômeros γ-tocoferol e α-tocoferol.

Analisando a relevância de investigar matérias-primas que possuam apelo natural e que muitas vezes são descartadas no processo industrial, o objetivo deste trabalho foi desenvolver formulações de mortadela tipo Bologna adicionada de diferentes percentuais de farinha de semente de abóbora (FSA) e realizar análises com intuito de investigar sua ação antioxidante sem comprometer as caraterísticas tecnológicas do embutido cárneo.

2 I MATERIAL E MÉTODOS

Com o intuito de definir as melhores condições para o preparo da mortadela foram realizados pré-testes, os quais possibilitaram a descrição das formulações finais conforme demonstrado na Tabela 1.

Ingredientes	*FP (%)	F1 (%)	F3 (%)	F5 (%)
Carne suína	46,18	46,18	46,18	46,18
Carne bovina	12,00	12,00	12,00	12,00
CMS	20,00	20,00	20,00	20,00
Toucinho	8,00	8,00	8,00	8,00
Gelo	8,00	7,25	5,25	3,25
Fécula de mandioca	2,00	2,00	2,00	2,00
Cura para cozidos	0,25	0,25	0,25	0,25
Eritorbato de sódio	0,25	0,00	0,00	0,00
Farinha de semente de abóbora	0,00	1,00	3,00	5,00
Fosfato	0,50	0,50	0,50	0,50
Condimento para mortadela	0,75	0,75	0,75	0,75
Sal	1,70	1,70	1,70	1,70
Alho em pó	0,20	0,20	0,20	0,20
Sabor de fumaça em pó	0,05	0,05	0,05	0,05
Pimenta branca	0,02	0,02	0,02	0,02
Glutamato monossódico	0,10	0,10	0,10	0,10
TOTAL	100	100	100	100

Tabela 1. Proporção dos ingredientes utilizados nas formulações de mortadela tipo Bologna

*FP: Formulação padrão com eritorbato de sódio (antioxidante sintético); F1: Formulação com 1% de adição de farinha de semente de abóbora; F3: Formulação com 3% de adição de farinha de semente de abóbora; F5: Formulação com 5% de adição de farinha de semente de abóbora.

Para o preparo da mortadela, inicialmente, as carnes (bovina e suína) e a carne mecanicamente separada (CMS) foram submetidos a uma etapa de desintegração em moedor tipo cutter (marca Mado Garant) e a esta mistura foram incorporados o sal, os fosfatos seguidos dos demais ingredientes, incluindo o antioxidante (sintético ou natural). Após obter a emulsão cárnea, a massa foi embutida manualmente em envoltório artificial a base de celulose e submetidas ao cozimento em estufa (marca

Ellen) com umidade relativa em 98% sendo a temperatura crescente no decorrer das etapas (55ºC/30 min.; 65ºC/45 min.; 75ºC/45 min.; 85ºC até atingir a temperatura interna de 72ºC). As mortadelas foram armazenadas em câmara fria, a temperatura de 7ºC±2ºC até a realização das análises.

Com relação às análises realizadas, determinou-se a composição centesimal segundo as normas da AOAC (2005), sendo a umidade realizada em estufa a 105 ºC, o teor de cinzas avaliado por incineração em mufla a 550 ºC e a proteína bruta determinada pelo método de Semi Kjeldahl utilizando o fator de conversão de 6,25. Para os lipídios totais utilizou-se a metodologia proposta por Bligh e Dyer (1959) e os carboidratos totais foram calculados por diferença conforme a Resolução RDC n° 360, de 23 de dezembro de 2003, de acordo com a Equação 1 (BRASIL, 2003).

$$CT=[100-(umidade+cinzas+proteína\ \ bruta+lipídios\ totais)]$$

Para a oxidação lipídica, o período de análise foi de 60 dias, utilizando o método de TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico) segundo a metodologia descrita por Tarladgis, Pearson e Dugan (1964), modificado por Crackel et al. (1988). Foram utilizadas 10 g de amostra adicionada de 98 mL de água deionizada; 2,5 mL de ácido clorídrico (4 mol.L^{-1}) e 2 gotas de antiespumante (8 partes de Span 80 + 1,3 partes de Tween 20) em erlenmeyer de 500 mL. Em seguida a solução foi destilada por 10 min e 50 mL do destilado foi coletado. O destilado foi homogeneizado e alíquotas de 5 mL foram transferidas para um tubo de ensaio com tampa rosqueável. Posteriormente, foram adicionados 5 mL de solução de TBAR (0,02 mol.L^{-1}) e os tubos foram aquecidos a 85 ºC por 35 min., sendo resfriados a temperatura ambiente com realização da leitura em espectrofotômetro UV-visível (Lambda XLS, Perkin Elmer) a 530 nm. Uma curva padrão foi preparada utilizando solução de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) em água deionizada nas concentrações de 0,01 a 2,0 mol.L^{-1} de TEP. Os resultados foram expressos em mg de MDA.kg^{-1} de amostra.

As medidas de pH foram realizadas a temperatura ambiente utilizando potenciômetro (modelo pH 21, marca Hanna) conforme o preconizado pela legislação (BRASIL, 2017). A cor foi determinada em equipamento colorímetro (modelo Chroma Metter CR-400s, marca Konica Minolta) nas coordenadas do sistema CIE/LAB: *L** (luminosidade) *a** [tonalidades de vermelho (*a+*) a verde (*a-*)] e *b** [tonalidades de amarelo (*b+*) a azul (*b-*)].

A força de cisalhamento foi avaliada com o texturômetro (modelo Stable Micro Systems, marca TA.HD plus) equipado com lâmina Warner-Bratzler Blade e célula de carga de 5 kg, operando a uma velocidade de 5,0 mm/s e distância de 20 mm, com resolução de 0,001 mm. Os resultados da força mínima necessária para efetuar o corte foram expressos em Newton (N).

Para a análise sensorial as formulações de mortadela foram submetidas a um

painel de 120 provadores não treinados, os quais realizaram o teste de aceitação para os atributos sabor, cor, aroma, textura, aparência e impressão global utilizando-se da escala hedônica de 9 pontos, onde, 9 corresponde ao item gostei muitíssimo e 1 desgostei muitíssimo (DUTCOSKY, 2011).

Os resultados das análises foram obtidos pela média da triplicata e submetidos à análise de variância (ANOVA). Para a análise da oxidação lipídica analisou-se a existência de diferença significativa no período avaliado, com teste de médias de Tukey usando nível de significância 5% (STATSOFT, 2004).

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises da composição centesimal das formulações de mortadela estão disponibilizados na Tabela 2.

De acordo com a legislação vigente, o limite máximo para umidade, gordura e carboidratos totais é de 65, 30 e 10%, respectivamente, enquanto para proteína, o limite mínimo é de 12%. Observando os resultados (Tabela 2) nota-se que todas as formulações apresentaram valores dentro dos parâmetros exigidos pelo órgão de legalização (BRASIL, 2000).

Formulações	Umidade (g/100 g)	Cinzas (g/100 g)	Proteína bruta (g/100 g)	Lipídios totais (g/100 g)	Carboidratos totais (g/100 g)
FP	53,26± 0,98[a]	4,03±0,13[a]	15,45±0,35[b]	18,56±0,69[b]	8,70±1,13[a]
F1	51,81± 0,05[ab]	4,09±0,01[a]	15,78±0,26[b]	19,10±0,27[b]	9,22±0,15[a]
F3	50,13± 0,20[b]	4,15±0,12[a]	16,65±0,26[a]	19,51±0,15[b]	9,56±0,27[a]
F5	47,24± 1,36[c]	4,21±0,11[a]	17,30±0,25[a]	21,34±0,35[a]	9,91±0,18[a]

Tabela 2. Composição centesimal das formulações de mortadela tipo Bologna

Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Com relação à umidade, a formulação padrão mostrou-se diferente estatisticamente de F3 e F5, mas não demostrou ser diferente de F1. Pode-se observar que com o aumento da concentração de FSA (3 e 5%) o teor de umidade diminuiu proporcionalmente, o que pode ter ocorrido devido à baixa umidade encontrada na FSA (5,89 g/100g dado não apresentado).

Quanto às cinzas e carboidratos totais, não foram observadas diferenças significativas entre as formulações. Portanto, a adição da FSA em todas as concentrações não alterou a composição das formulações de mortadela tipo Bologna quanto a estes parâmetros.

Contudo, o incremento de FSA influenciou proporcionalmente o aumento do teor proteico, sendo que F3 e F5 apresentaram as maiores médias sendo 1,08 e 1,12 vezes maior que a formulação padrão e estatisticamente diferentes de FP e F1. Esses resultados, provavelmente tiveram contribuição do teor proteico da FSA, a qual

apresentou valores aproximados de 30 g/100g (dado não apresentado).

Na análise de lipídios totais, notou-se que F5, diferiu significativamente das demais formulações. Observou-se a elevação deste parâmetro conforme a maior concentração de FSA, uma vez que esta farinha apresentou alto teor lipídico (36,76 g/100 g dado não apresentado) corroborando com o aumento deste componente nas formulações de mortadela. Segundo Applequist et al. (2006) entre os lipídios que compõe as sementes de abóbora, a maior fração corresponde aos ácidos graxos monoinsaturados sendo o ácido oleico o majoritário com valores entre 43,09 a 50,31% do total de conteúdo lipídico.

Para as análises física e instrumental os resultados podem ser observados na Tabela 3.

Formulações	pH	Força de cisalhamento (N)	Parâmetros de cor		
			*L**	*a**	*b**
FP	6,50±0,13[a]	8,52±0,21[a]	57,01 ± 0,64[a]	8,14±0,25[b]	13,26±0,09[c]
F1	6,73±0,04[a]	8,54±0,27[a]	56,69 ± 0,95[a]	10,47±0,27[a]	13,45±0,24[c]
F3	6,65±0,06[a]	8,56±0,16[a]	56,45 ± 0,79[a]	8,57±0,22[b]	12,15±0,25[b]
F5	6,63±0,03[a]	8,11±0,11[a]	56,59 ± 1,00[a]	7,90±0,11[b]	14,79±0,09[a]

Tabela 3. Análise física e instrumental das formulações de mortadela tipo Bologna

Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna não diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p <0,05).

Para o pH não foram encontradas diferenças significativas entre as formulações, demonstrando que a adição de FSA nas diferentes proporções não desenvolveu componentes que pudessem alterar as características da mortadela. Para a força de cisalhamento, também observou-se que a adição de FSA não apresentou diferenças significativas no parâmetro textura uma vez que a quantidade utilizada representa menos de 6% do total de ingredientes utilizados.

Na análise de cor, não foram observadas diferenças significativas entre as formulações de mortadela quanto ao parâmetro *L**, sendo este inferior a 60 (*L**<60), denotando baixa luminosidade. Em relação aos valores de *a*,* F1 mostrou-se estatisticamente diferente (p£ 0,05) das demais, entretanto, todas as formulações apresentaram valores positivos para esse parâmetro, indicando que as mesmas tendem para a coloração vermelha, característico deste embutido cárneo. Para os valores de *b**, observou-se que F3 e F5 diferiram entre si e das demais formulações, apresentando as maiores médias, conforme o aumento na concentração de FSA, o que pode ter relação com a coloração amarela da farinha.

Para a oxidação lipídica, os resultados das formulações de mortadela analisadas no período de 60 dias podem ser visualizados na Tabela 4.

Tempo (dias)	FP	F1	F3	F5
0	1,95±0,18^{aA}	0,44±0,08^{bB}	0,27±0,02^{bcB}	0,18±0,02^{cB}
30	2,40±0,10^{aA}	0,45±0,07^{bB}	0,29±0,02^{bcB}	0,20±0,02^{cB}
60	1,95±0,18^{aA}	0,63±0,03^{bA}	0,38±0,03^{cA}	0,31±0,03^{cA}

Tabela 4. Análise da oxidação lipídica (mg.MDA/kg^{-1}) das formulações de mortadela tipo Bologna

Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha e letras maiúsculas na mesma coluna não diferem significativamente pelo Teste de Tukey (p <0,05).

Todas as formulações adicionadas de FSA diferiram de FP nos períodos analisados, sendo que a oxidação lipídica na formulação com eritorbato de sódio permaneceu constante ao longo dos 60 dias chegando a valores de TBARS, 12 vezes superior que F5 e 8,27 vezes superior que F3, no período de 30 dias de armazenamento. Isto demonstra que as formulações de mortadela adicionadas da farinha apresentaram menor valor de oxidação lipídica quando comparada a padrão, adicionada de antioxidante sintético, desde o tempo 0 dia de armazenamento. Ainda, o cozimento deste produto cárneo em temperaturas entre 55 a 85ºC por período superior a 2 horas não afetou a atividade antioxidante da farinha de semente de abóbora.

As formulações de mortadelas adicionadas de FSA apresentaram maior valor de oxidação lipídica conforme o aumento do período de armazenamento refrigerado, porém, não foi constatada diferença significativa entre 0 e 30 dias, indicando estabilidade dos componentes antioxidantes presentes na FSA. Ainda, a formulação F5, com maior proporção de FSA diferiu de F1 em 0, 30 e 60 dias de análise, indicando que maiores taxas de FSA (3 e 5%) tiveram menor índice de oxidação. A mesma tendência foi observada por Abreu et al., (2015) ao adicionar ácido anacárdico em mortadelas de frango, o qual obteve valores de TBARS similares aos encontrados no presente trabalho. Do mesmo modo, Pereira et al. (2010) demonstrou que o extrato da casca de manga (*Mangifera indica L.*) apresentou efeito antioxidante em mortadela durante o período de estocagem sob resfriamento, tendo efeito similar ao do BHT.

A legislação brasileira não indica um valor máximo permitido de TBARS para mortadela, contudo, mesmo alcançando resultados superiores as demais, a formulação padrão também enquadrou-se dentro do valor recomendado para o índice de oxidação lipídica (inferior a 3 mg/kg) o qual considera o produto cárneo em bom estado de conservação conforme citado por Al-kahtani et al., (1996). O mecanismo de efeito protetor da FSA, a qual reduziu os valores de TBARS nas formulações de mortadela, provavelmente, deve-se ao fato da presença de vitamina E principalmente na forma dos isômeros γ-tocoferol e α-tocoferol, inibindo os radicais livres (GARCIA, KIMURA e MAURO, 2005). Berasategi et al. (2011) também observou que o extrato de melissa (*Melissa officinalis*) apresentou efeito antioxidantes em mortadela Bologna sendo justificado pela presença de flavonoides e ácido hidroxicinâmico.

Quanto à análise sensorial, os resultados do teste de aceitação estão na Tabela

5. Para o atributo cor, pode-se observar que F5 diferiu das demais formulações, sendo FP, F1 e F3 estatisticamente semelhantes entre si. Estes dados podem ser justificados pela adição de maior concentração de farinha de semente de abóbora a qual possui coloração amarela, tendo influenciado também na análise instrumental de cor quanto ao parâmetro *b** em relação a padrão. Yunes (2010) relata que a comparação dos parâmetros colorimétricos é especialmente difícil, pela cor ser altamente específica, podendo alterar mediante mínima modificação em uma formulação, onde a alteração de somente alguns ingredientes pode modificar a cor do produto.

Formulações	Cor	Aroma	Maciez	Sabor	Impressão global
FP	6,60±1,48[a]	6,96±1,40[a]	7,19±1,25[a]	7,03±1,56[ab]	6,73±1,43[ab]
F1	6,95± 1,67[a]	6,97± 1,63[a]	7,31± 1,31[a]	7,48± 1,43[a]	7,26± 1,39[a]
F3	6,41± 1,79[a]	6,58± 1,79[ab]	6,91± 1,60[ab]	6,83± 1,76[bc]	6,58± 1,64[b]
F5	5,42± 2,11[b]	6,31± 1,87[b]	6,43± 1,69[b]	6,37± 1,89[c]	6,01± 1,90[c]

Tabela 5. Análise sensorial das formulações de mortadela tipo Bologna

Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Nos atributos aroma e maciez verificou-se que as formulações FP, F1 e F3 não diferiram estatisticamente entre si ($p<0,05$). Porém a formulação F5 apresentou a menor média para estes atributos indicando que a adição de maiores proporções da farinha influenciou negativamente na percepção do provador. Contudo, quando comparado a avaliação sensorial de maciez com os resultados da análise de força de cisalhamento, observou-se que a adição da farinha mesmo que em diferentes concentrações não alterou a textura do produto.

Com relação ao atributo sabor, verificou-se que a formulação com maior aceitabilidade foi a F1, sendo que a mesma não apresentou diferenças significativas com a padrão (FP). Nota-se que, concentrações com até 3% de farinha de semente de abóbora poderia ser utilizada no preparo de mortadelas sem interferências no sabor. Berasategi et al. (2011) também observaram que a adição de extrato de melissa (*Melissa officinalis*) como antioxidante natural em mortadelas tipo Bologna repercutiu em menor nota para o atributo sabor. Quanto à impressão global, a maior nota alcançada foi para a formulação F3, sendo que a mesma não diferiu estatisticamente da padrão. Observou-se que a F5 foi a que recebeu a menor nota para este atributo, diferindo-se de todas as formulações.

4 I CONCLUSÃO

O uso da farinha de semente de abóbora em substituição ao antioxidante sintético não interferiu nas características de composição centesimal das formulações de mortadela em relação aos parâmetros da legislação vigente para

este produto. Contudo, pode-se observar que o aumento na concentração da farinha elevou proporcionalmente o teor proteico e de lipídios totais, com redução no teor de umidade. Não foram observadas diferenças significativas entre as formulações para os quesitos de pH, textura instrumental e parâmetro de luminosidade. Para à oxidação lipídica, as formulações adicionadas da farinha apresentaram menor índice de TBARs com relação à mortadela padrão elaborada com o eritorbato de sódio, além de apresentarem menores índices de oxidação no período de armazenamento desde o tempo 0 até 60 dias. Quanto à aceitação sensorial, a adição de até 3% de farinha de semente de abóbora mostrou resultados significativos para todos os atributos julgados sem diferenciar-se da formulação padrão. A utilização da farinha de semente de abóbora em produtos industrializados mostrou-se promissora, contudo há a necessidade de aprimorar as investigações a fim de obter maior clareza sobre os mecanismos de oxidação, podendo inclusive aumentar a vida útil de embutidos cárneos preservando suas características nutricionais e sensoriais.

REFERÊNCIAS

ABREU, V.K.G.; PEREIRA, A.L.F.; FREITAS, E.R.de.; TREVISAN, M.T.S.; COSTA, J.M.C. da. Addition of anacardic acid as antioxidants in broiler chicken mortadella. **Food Science and Technology**, v. 35, n.3, p. 539-545, 2015.

ADTEC. **Antioxidantes**. Disponível em: <http://www.adtec-tecnologia.com.br/portugues/ produtos_ antioxidantes.html >. Acesso em: 28 de outubro de 2015.

AOAC. Association Of Official Analytical Chemists. 2005. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 18 th ed. Gaithersburg, M.D, USA, 2005.

AL-KAHTANI, H. A. et al. Chemical changes after irradiation and postirradiation storage in tilapia and Spanish mackerel. **Journal of Food Science**, v.61, n.4, p. 729–733, 1996.

APPLEQUIST, W. L.; AVULA, B.; SCHANEBERG, B.T.; WANG, Y.; KHAN, I.A. Comparative fatty acid content of seeds of four Cucurbita species grown in a common (shared) garden. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6-7, p. 606-611, 2006.

BERASATEGI, I. et al. High in omega-3 fatty acids" bologna-type sausages stabilized with an aqueous-ethanol extract of *Melissa officinalis*. **Meat Science**, v. 88, p.705–711, 2011.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n.8, p. 911-917, 1959.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa n.º 4, de 31 de março de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Mortadela. Brasilia-DF. **D.O.U** 05/04/2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Brasília-DF. **D.O.U** 18/09/2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Secretaria Nacional de Defesa

Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes:** II – Métodos físicos e químicos. Brasília-DF: MAPA, 2017.

BOURSCHEID, C. **Avaliação da influência da fécula de mandioca e proteína texturizada de soja nas características físico–químicas e sensoriais de hambúrguer de carne bovina**. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Pinhalzinho, 2009.

CRACKER, C.C. et al. Some further observation on the TBA test as index of lipid in meats. **Journal Food Chemistry**, p.187-196, 1988.

DUTCOSKY, S. **Análise Sensorial de Alimentos**. Ed. Champagnat, 3ª ed., 2011.

GARCIA, C.C.; KIMURA, M.; MAURO, M.A. Efeito da temperatura de secagem na retenção de carotenóides de abóbora (*Cucúrbita moschata*). **In: Simpósio Latino-Americano de Ciência ed Alimentos**, Campinas: Unicamp, p. 1-1, 2005.

PEREIRA, A. L. F.; et al. Estabilidade oxidativa de mortadelas contendo extrato da casca da manga (*Mangifera indica L.*). **Brazilian Journal Food Technology**, v. 13, n. 4, p. 293-298, 2010.

STATSOFT, INC. **Statistica for Windows: computer program manual**. Tulsa, OK, USA, 2004.

TARLADGIS B. G; PEARSON A. M; DUGAN L. R. **Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods – II. Formation of the TBA – malonaldehyde complex without acid-heat treatment. Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.15, p. 602– 604,1964.

YUNES, J. F. F. **Avaliação dos efeitos da adição de óleos vegetais como substitutos de gordura animal em mortadela**. 103 f. Mestrado (Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2010.

CAPÍTULO 12

PESQUISA DE COLIFORMES A 45ºC EM QUEIJO TIPO RICOTA COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS

Malena Andrade de Morais
Centro de Estudos Superiores de Maceió, Nutrição
Maceió-Alagoas

Izabelle Giordana Braga Oliveira Costa
Centro de Estudos Superiores de Maceió, Nutrição
Maceió-Alagoas

Eliane Costa Souza
Centro de Estudos Superiores de Maceió, Nutrição
Maceió-Alagoas

RESUMO: Queijos frescos como a ricota, são excelentes meios para a proliferação de micro-organismos indesejáveis, pois estes apresentam elevada atividade de água e uma grande diversidade nutricional. Tendo em vista seu reduzido teor de gordura e alto índice proteico, torna-se um produto muito consumido pela população que deseja uma alimentação saudável. Nesse contexto, o presente estudo objetivou pesquisar coliformes a 45ºC em Queijo tipo Ricota comercializado em supermercados na cidade de Maceió, AL. Foram encontradas 10 marcas comerciais de queijo tipo ricota no comércio varejista, sendo identificadas pelas letras do alfabeto A, B, C, D, E, F, G, H, I e J. Destas, de acordo com a disponibilidade nos supermercados, foram coletadas 17 amostras de lotes diferentes, sendo 4 (A), 3 (B), 2(D e E) e 1(C, E, G, H, I e J). As análises microbiológicas foram realizadas pela técnica do Número Mais Provável. As contagens de coliformes a 45ºC obtidos nesta pesquisa variaram de > 1100 NMP/g a <3 NMP/g, porém apenas a marca comercial C e G apresentaram contagens acima do preconizado pela legislação. Diante dos resultados obtidos foi verificada presença de micro-organismos indicadores de contaminação fecal, sugerindo um produto elaborado sob condições higiênico-sanitárias inadequadas, portanto o queijo tipo Ricota pode representar risco à saúde pública.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças Transmitidas por Alimentos, Perfis Sanitários, Queijo, Antígenos de Bactérias.

ABSTRACT: Fresh cheeses such as ricotta, are excellent means to the proliferation of undesirable microorganisms, because they have a high water activity and a great nutritional diversity. In view of your reduced-fat and high protein content, becomes a product very consumed by people who want to eat healthily. In this context, the present study aimed to search the 45 ºC coliforms in Ricotta-type cheese sold in supermarkets in the city of Maceió, AL were found 10 trademarks of ricotta cheese in the retail trade, being designated by letters of the alphabet A, B, C, D, E, F, G, H, I and J of these, according to the availability in supermarkets, 17

samples were collected from different lots, being 4 (A), 3 (B), 2 (D) and (e) and 1 (C, E, G, H, I and J). Microbiological analyses were carried out by the most probable number technique. Coliform counts the 45 degrees obtained in this survey ranged from 1100 MPN/g > < 3/g, NMP but only the trademark C & G submitted scores above the established by the legislation. On the results obtained was verified the presence of micro-organisms indicators of faecal contamination, suggesting a product prepared under sanitary hygienic conditions unsuitable, so the cheese like ricotta cheese can pose risk to public health.
KEYWORDS: Foodborne Diseases, Childhood Diarrhea, Sanitary Profiles, Cheese, Antigens Bacterial.

1 I INTRODUÇÃO

O queijo tipo ricota é de origem italiana, constituído basicamente de lactoalbumina e lactoglobulina, proteínas essenciais para a melhoria do sistema imunológico. Apresenta ainda, teores reduzidos de gordura e sal. A produção da ricota ocorre utilizando-se como matérias-primas as proteínas do soro do leite fresco pasteurizado, os quais são submetidos a tratamento térmico e acidificação (ESPER et al., 2007).

Pelo seu baixo teor de gordura, alta digestibilidade e ausência de sal, a ricota é considerada um produto leve e dietético, mundialmente consumido em muitas dietas alimentares. Nos últimos 5 anos, o produto aumentou sua produção em cerca de 35%, números referentes a estabelecimentos sob inspeção federal (ABIQ, 2001).

Este queijo, por apresentar elevada umidade e alto teor de nutrientes, tem elevado potencial em sofrer deteriorações/contaminações de origem microbiana, podendo causar toxinfecções de origem alimentar graves (NICOLAU et al., 2001).

A presença de contaminação microbiana neste tipo de alimento, está relacionada provavelmente a aquisição de matéria-prima de má qualidade sanitária e adoção de técnicas higiênicas inadequadas durante o processamento, que comprometem a segurança do produto final (TIMM et al., 2004).

Segundo Costa et al (2002), diversos surtos de doenças de origem alimentar têm sido associados a ingestão de produtos lácteos em razão, principalmente, da presença de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* pertencente ao grupo coliforme a 45ºC.

A pesquisa de coliformes a 45ºC ou de *E. coli* nos alimentos fornece, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Portanto o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade sanitária dos queijos tipo ricota comercializados em supermercados na cidade de Maceió/AL.

2 I MATERIAIS E MÉTODOS

Foram encontradas 10 marcas comerciais de queijo tipo ricota no comércio varejista, sendo identificadas pelas letras do alfabeto A, B, C, D, E, F, G, H, I e J. Destas marcas, de acordo com a disponibilidade nos supermercados, foram coletadas 17 amostras de lotes diferentes, sendo 4 (A), 3 (B), 2(D e E) e 1(C, E, G, H, I e J). As amostras foram acondicionadas em recipiente isotérmico e encaminhadas ao Laboratório de Pesquisa do Centro Universitário CESMAC.

Avaliou-se microbiologicamente as amostras quanto a determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 45ºC. As análises foram realizadas segundo Silva et al (2010).

Preparo das amostras

As amostras foram identificadas e em seguida foram pesados 25g de cada amostra, sendo adicionadas em um Erlenmeyer contendo 225mL de solução salina estéril a 0,85%, seguida de homogeneização, constituindo assim a diluição 10^{-1}. A partir desta, foram efetuadas as demais diluições decimais seriadas até 10^{-3}.

Determinação do Número Mais Provável de coliformes a 45ºC

Foram utilizadas as diluições seriadas 10^{-1}, 10^{-2} e 10^{-3}, de cada diluição se transferiu 1mL para uma série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) (10mL), onde foram incubadas a 35 ºC por 48 horas. Foram considerados positivos os tubos que apresentarem turvação do meio e formação de gás no interior do tubo de Duhran.

Uma alçada de cada tubo positivo foi transferida para tubos de ensaio dotados de um tubo de Duhran invertido, contendo caldo *Escherichia coli* (EC). O crescimento com produção de gás nos tubos de EC, após 24 horas de incubação a 45 ºC em banho-maria foi considerado positivo. Os resultados foram analisados de acordo com a quantidade de amostras positivas, orientando-se pelo uso da tabela de Número Mais Provável.

3 I RESULTADO E DISCUSSÃO

Segundo a Resolução nº 12/2001 da Agencia Nacional Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), para queijo tipo Ricota, a tolerância para coliformes a 45ºC é de 5 x 10^2 Número Mais Provável/g.

MARCAS COMERCIAIS	AMOSTRAS	MICROORGANISMO
		Coliformes a 45ºC (NMP/g)
A	A1	240
	A2	3
	A3	43
	A4	<3
B	B1	23
	B2	<3
	B3	<3
C	C1	1.100
D	D1	<3
	D2	3,6
E	E1	<3
	E2	<3
F	F1	<3
G	G1	<3
H	H1	<3
I	I1	>1100
J	J1	150

Tabela 1. Análises de Coliformes a 45ºC em queijo tipo ricota comercializado em Maceió/AL.

NMP- Número Mais Provável

Fonte: dados da pesquisa

De acordo com a Tabela 1, os níveis de coliformes a 45ºC obtidos nesta pesquisa variaram de > 1100 NMP/g a <3 NMP/g, porém apenas a marca comercial C e G apresentaram contagens acima do preconizado pela legislação. As marcas comerciais B, D e G, apresentaram uma amostra com isenção de todos os micro-organismos pesquisados. A variação dos resultados em amostras de uma mesma marca comercial, podem ser explicadas porque não são amostras do mesmo lote significando a inconsistência das Boas Práticas de Fabricação na elaboração do queijo tipo ricota pelas indústrias. A presença de coliformes a 45ºC nas amostras das marcas comerciais A, B, C, D, I e J, são alarmantes, pois a presença destes no produto revela contato com conteúdo fecal, seja através da matéria-prima, ou de equipamentos mal higienizados, ou de manipulação higiênica inadequada. Esse quadro é um indicativo de produção sob condições sanitárias insatisfatórias e da provável presença de micro-organismos patogênicos capazes de causar Doenças transmitidas por Alimentos. Vasconcelos et al., (2005), ao fazer a mesma análise no Rio Grande do Sul encontraram no comércio 25% de amostras de ricota impróprias para consumo humano.

Em um estudo sobre as características microbiológicas da ricota, Sakate et al. (1999) observou que 75% das amostras analisadas foram consideradas aceitável para consumo quanto a analise microbiológica, 15% foram classificadas como insatisfatórias e 10% consideradas impróprias para consumo. Carnicel et al. (2003), avaliou 26 amostras de ricota, verificando que destas, 88,46% encontraram-se acima

do estabelecido pelo padrão legal.

Vale salientar, que o queijo tipo ricota é utilizado por grande parte da população, principalmente por pessoas que precisam de um produto com alta digestibilidade, com pouco lipídeo e sal, sendo incorporado na dieta de pessoas que também precisam ter controle de peso corporal e idosos (PINTO et al., 2000). Porém, este tipo de produto é considerado um substrato com condições adequadas para multiplicação microbiana, pois o mesmo apresenta vários fatores intrínsecos como: alta umidade e grande disponibilidade de nutrientes (MAIA et al., 2004). Portanto, este produto se torna alvo de estudos de saúde pública, pois doenças de origem alimentar podem levar a um grande número de internações hospitalares com prováveis índices alarmante de mortalidades.

4 I CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos foi verificada presença de coliformes a 45ºC, sugerindo um produto elaborado sob condições higiênico-sanitárias inadequadas, portanto o queijo tipo Ricota pode representar risco à saúde pública. Entretanto a prevenção da contaminação dos alimentos pode ser obtida através de medidas de Boas Práticas de Fabricação que preconizam medidas com rigoroso controle da matéria-prima, processamento adequado, implementação de um programa de higienização no ambiente industrial e correta higienização dos manipuladores pelas indústrias.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO-ABIQ. **Dados de produção Brasil em toneladas de produtos lácteos**. São Paulo, 2001.

CARNICEL, F.A.; PERESI, J.T.M. Ricota: Contaminação microbiológica em amostras comercializadas no município de São José do Rio Preto-SP no período de abril a setembro de 2002. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.58, n. 335, p.7-11, nov. 2003.

COSTA, F. N.; LIMA, R. M. S.; RABELO, R. N. Comportamento frente a ação de antimicrobianos de cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Escherichia coli* e *Bacillus cereus* isolados de derivados lácteos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.16, n.92/93, p.80-83, Jan/fev. 2002.

ESPER, L. M. R. et al. Efeito da adição de culturas protetoras sobre *Listeria monocytogenes* inoculadas na superfície de ricota. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.21, n.156, p.109, 2007.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2008, p.28, 43-46, 50.

MAIA, S. R.; FERREIRA, A. C.; ABREU, L. R. Uso do açafrão (*Curcuma longa*l) na redução da *Escherichia coli* e *Enterobacter aerogenes* em ricota. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 2, p.358-365, 2004.

NICOLAU, E. S. et al. Qualidade microbiológica dos queijos tipo minas frescal, prato e mussarela

comercializados em Goiás. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.56, p.321, 2001.

PINTO, S. M.; ABREU, L. R.; SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E, P.; MOURA, C. J. Avaliação das características físico-químicas de queijo ricota comercializados em Lavras-MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 54, n. 313, p. 20-22, 2000.

SAKATE, R. I. et al. Características microbiológicas de ricota fresca comercializada no município de Belo Horizonte – MG. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.15, p.22-23, 1999.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água.** 4a ed. São Paulo: Livraria Varela; 2010.

TIMM, C. D. et al. Pontos críticos de controle na pasteurização do leite em microusinas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.59, n. 336, p.75-80, 2004.

VASCONCELOS, F.; ROCHA, A.; RIBEIRO, G. Detecção de *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes em queijo ricota comercializado na cidade de Pelotas-RS. **In:** CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPEL, 2005, Pelotas. Anais eletrônicos ... Pelotas: UFPel, 2005. Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/cic/2005/arquivos/CB_00455.rtf>.Acesso em: 29 jul.2018.

CAPÍTULO 13

RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS NOS ALIMENTOS VEGETAIS: AÇÕES DO ESTADO DE SANTA CATARINA NA MITIGAÇÃO, MONITORAMENTO E RASTREABILIDADE

Diego Medeiros Gindri
Doutor em Produção Vegetal, Departamento de Defesa Vegetal, Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina, Lages, Santa Catarina, Brasil. *Rua João José Godinho, s/n°, Bairro Guadalupe, 88506-080, 3289-8281, diegogindri@cidasc.sc.gov.br.

Paulo Tarcísio Domatos de Borba
Mestrando em Produção Vegetal, Departamento de Defesa Vegetal, Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina, Lages, Santa Catarina, Brasil.

Roberta Duarte Ávila Vieira
Mestranda em Defesa Vegetal, Departamento de Defesa Vegetal, Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina, Lages, Santa Catarina, Brasil.

Matheus Mazon Fraga
Mestrando em Recursos Genéticos Vegetais, Departamento de Defesa Vegetal, Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Ricardo Miotto Ternus
Doutor em Ciência e Tecnologia de Sementes, Departamento de Defesa Vegetal, Companha Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Greicia Malheiros da Rosa Souza
Promotora de Justiça, Centro de Apoio Operacional do Consumidor, Ministério Público do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Nelson Alex Lorenz
Técnico, Centro de Apoio Operacional do Consumidor, Ministério Público do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

RESUMO: O presente artigo analisa o relato de ações desenvolvidas por órgãos públicos do Estado de Santa Catarina em cumprimento às políticas públicas instituídas para o controle do uso de agrotóxicos na produção agrícola, notadamente quanto aos resíduos de agrotóxicos remanescentes em amostras de alimentos analisados laboratorialmente. Produzir alimentos para bilhões de pessoas preservando o meio ambiente e fornecendo alimento seguro à população é um dos desafios globais. O uso excessivo de agrotóxicos tem despertado uma grande preocupação por parte de diversos países devido às consequências ambientais e a contaminação dos alimentos. O Estado, através de suas organizações, tem papel importante na promoção e controle do uso correto e seguro dos agrotóxicos. Neste capítulo apresentamos os programas de monitoramento da produção orgânica (MPorg), alimento sem risco (PASR) e rastreabilidade vegetal (e-Origem) desenvolvidos no estado de Santa Catarina. O MPorg visou a verificação da qualidade dos produtos orgânicos em relação as normas vigentes, identificando se os sistemas de produção orgânica estão aptos para a entrada no mercado de alimentos que promovam a saúde humana. O PASR tem

como objetivo a segurança dos alimentos vegetais cultivados e comercializados em Santa Catarina, para proteger a saúde dos consumidores contra resíduos fora da conformidade legal provenientes do uso indiscriminado de ingredientes tóxicos. O e-Origem tem a finalidade de promover a rastreabilidade dos vegetais "***In Natura***" e minimamente processados e com isso identificar a origem da produção agrícola com resíduo de agrotóxico fora da conformidade legal para que ações educativas e fiscais sejam tomadas.
PALAVRAS-CHAVE: Alimento Seguro, CIDASC, MPSC, Segurança Alimentar.

INTRODUÇÃO

Segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação – FAO, o planeta terá 9 bilhões de habitantes no ano de 2050, e para alimentar essa população a produção de alimentos deverá crescer 70% mundialmente e 40 % no Brasil. Diante disso como produzir alimentos para 9 bilhões de pessoas preservando o meio ambiente e fornecendo alimento seguro à população.

Os agrotóxicos se apresentam como a ferramenta mais utilizada no controle de doenças, insetos e espécies de plantas daninhas na produção agrícola. O uso excessivo desses produtos desperta grande preocupação por parte de diversos países devido às consequências ambientais e à contaminação dos alimentos. Da mesma forma, consumidores estão sendo cada vez mais exigentes sobre a qualidade dos alimentos, desde a aparência, sabor, composição nutricional e presença de resíduos de agrotóxicos.

A classificação toxicológica dos ingredientes ativos é baseada em seus efeitos agudos, mas não se ignora os efeitos crônicos advindos meses, anos ou até décadas após a exposição, que se manifestam em várias doenças como cânceres, malformações congênitas, distúrbios endócrinos, neurológicos e mentais. Além disso muito pouco se sabe sobre os efeitos da exposição múltipla e a baixas doses, situações rotineiras no cotidiano das pessoas, que podem ingerir, num só alimento, muitos ingredientes ativos (CARNEIRO et al., 2012).

O Estado, através de suas organizações, tem papel importante na promoção e controle do uso correto e seguro dos agrotóxicos. Neste capítulo apresentamos os programas de monitoramento da produção orgânica, alimento sem risco e e-Origem (Rastreabilidade vegetal) desenvolvidos no estado de Santa Catarina.

MONITORAMENTO DA PRODUÇÃO ORGÂNICA

A cada dia um número crescente de agricultores se interessam pelos conceitos e práticas dos sistemas agrícolas com capacidade de gerar produtos de qualidade e saudáveis, conforme requisitos de sustentabilidade ambiental, segurança alimentar e viabilidade econômica.

Atualmente, o Brasil possui 14.715 produtores no Cadastro Nacional de Produtores Orgânicos do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, destes 1.128 estão no Estado de Santa Catarina distribuídos em mais de 140 municípios (MAPA, 2017).

A legislação orgânica brasileira considera como sistema orgânico de produção agropecuária todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis, o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não-renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente (BRASIL, 2003).

Para facilitar a identificação e dar mais garantia da qualidade dos produtos orgânicos, a legislação brasileira criou o Sistema Brasileiro de Avaliação da Conformidade Orgânica – SISORG (BRASIL, 2009), no qual o MAPA passou a ser responsável por credenciar e fiscalizar os produtores e entidades certificadoras. No intuito de apoiar essa fiscalização, permitindo que produtores idôneos apresentem aos seus clientes os laudos de acompanhamento da produção, dando mais garantias aos consumidores e retirando oportunistas do mercado, o governo do Estado de Santa Catarina implantou o Monitoramento da Produção orgânica – MPorg.

O MPorg fez parte do programa SC Rural, uma iniciativa do Governo do Estado de Santa Catarina com financiamento do Banco Mundial. O monitoramento visa a verificação da qualidade dos produtos orgânicos em relação as normas vigentes, identificando se os sistemas de produção orgânica estão aptos para a entrada no mercado de alimentos que promovam a saúde humana (SANTA CATARINA, 2014).

As amostras de produtos vegetais foram coletadas, pelos Engenheiros Agrônomos da CIDASC, sob orientação e coordenação da Divisão de Fiscalização de Insumos Agrícolas e da Secretaria Executiva Estadual do SC Rural, em propriedades rurais e estabelecimentos comerciais do Estado de Santa Catarina. As amostras foram coletadas em diferentes estádios vegetativos das plantas, para obter uma distribuição anual que melhor se representa as sazonalidades e peculiaridades da agropecuária.

As informações importantes sobre a amostra e os dados do fornecedor/produtor foram registradas no Termo de coleta de amostras para permitir a rastreabilidade dos produtos coletados em qualquer tempo da execução do programa. As culturas coletadas foram cenoura, banana, batata, alface, cebola, maçã, tomate, repolho, pimentão, brócolis, morango, arroz e feijão.

Os produtos foram coletados utilizando-se luvas descartáveis, acondicionados em sacos de polietileno de primeiro uso, lacradas, etiquetadas, e acondicionadas em caixas de isopor contendo gelo para envio ao laboratório. Foram analisados 247 princípios ativos de agrotóxicos, em laboratórios credenciados para execução de

análises oficiais.

Desde o início do Programa, em 2012, mais de 1.840 amostras já foram coletadas e analisadas em todo o Estado de Santa Catarina (Figura 3).

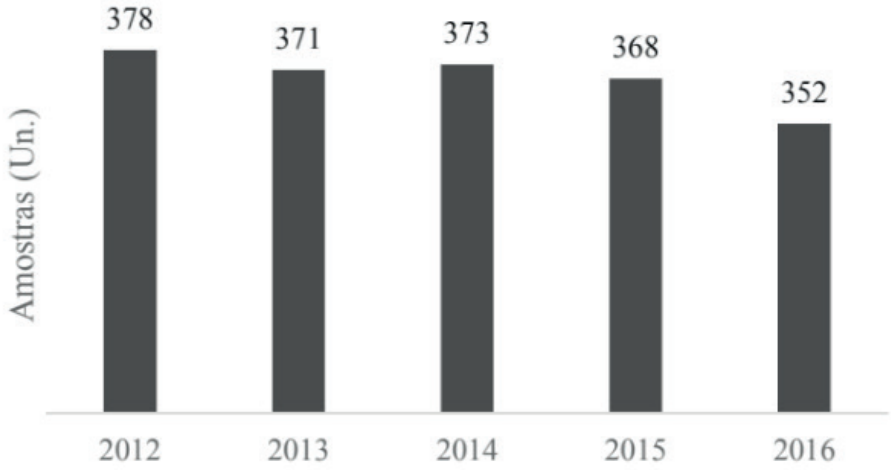

Figura 3 – Amostras de alimentos vegetais coletadas e analisadas pelo MPorg para verificação dos resíduos de agrotóxicos, entre os anos de 2012 e 2016.

Fonte: CIDASC

Os índices de conformidade obtidos nos resultados das análises mantiveram-se maior que 90% em todos os anos amostrados. Em 2012, 362 (95,8%) das 378 estavam sem resíduos de agrotóxicos. O ano de 2015 apresentou o maior índice de desconformidade nas amostras coletadas, 35 (9,5%) das 368 analisadas (Figura 4).

Quando detectada presença de agrotóxicos nas amostras, os documentos foram enviados ao MAPA para averiguação das causas e problemas que ocasionaram a contaminação dos produtos por agrotóxicos e devidas providências.

Observa-se que a produção e comercialização de produtos vegetais orgânicos no Estado de Santa Catarina apresenta um índice satisfatório de conformidades, acima de 90%, quanto a não utilização de agrotóxicos em sua produção (Figura 2). Isso demostra ao consumidor uma confiabilidade quanto as normas de produção e segurança no consumo dos produtos.

Entretanto, o índice de desconformidade manteve-se entre 4,2 e 9,5 % ao longo dos anos (Figura 2), admitindo que uma pequena parcela dos agricultores e comerciantes não cumprem adequadamente as normas de produção orgânica no Brasil.

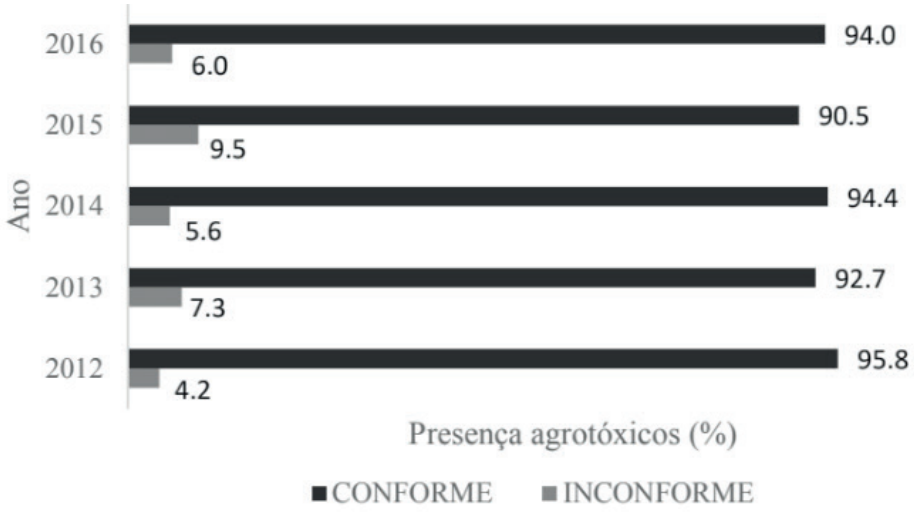

Figura 4 – Índice percentual de análises sem resíduos de agrotóxicos, com resíduos em conformidade e com resíduos em desconformidade legal para os anos de 2011 a 2016.

Fonte: CIDASC

O índice de desconformidade catarinense é menor que os 17% de inconformidades encontrada no Estado de Pernambuco entre os anos de 2009 e 2015. Fraudes podem ocorrer na comercialização, reforçando a importância da fiscalização para a proteção e avanço da agricultura orgânica no Brasil. São poucos os programas de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em produtos orgânicos mantidos por órgãos oficiais no Brasil, estando estes, além do Estado de Santa Catarina, no Estado de Pernambuco e no Distrito Federal (MEURER et al., 2016).

PROGRAMA ALIMENTO SEM RISCO

Para combater o uso indevido de agrotóxicos, o Ministério Público do Estado de Santa Catarina – MPSC, por intermédio dos Centros de Apoio Operacional do Consumidor e do Meio Ambiente, concebeu o Programa Alimento Sem Risco - PASR. O PASR tem como objetivo a segurança dos alimentos vegetais cultivados e comercializados em Santa Catarina, protegendo a saúde dos consumidores contra resíduos fora da conformidade legal provenientes do uso indiscriminado de ingredientes tóxicos (MPSC, 2018).

O marco inicial do Programa foi a celebração do Termo de Cooperação Técnica n. 19/2010, com o objetivo de proporcionar a articulação entre órgãos estaduais e federais responsáveis pela fiscalização agropecuária e sanitária. O termo teve como signatários o MPSC, Ministério Público do Trabalho; Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA; Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis; Secretaria de Estado da Agricultura e da Pesca, por meio da Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola - CIDASC e da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural - EPAGRI; Secretaria de Estado da Saúde, por meio da Vigilância Sanitária Estadual; Centro de Informações Toxicológicas; Secretaria

de Estado do Desenvolvimento Econômico Sustentável, por meio da Fundação do Meio Ambiente; Secretaria de Estado da Segurança Pública, por meio da Polícia Militar Ambiental; Serviço Nacional de Aprendizagem Rural e Conselho Regional de Engenharia e Agronomia.

Também passaram a integrar a rede de cooperação, a partir de 2016, a Assembleia Legislativa do Estado de Santa Catarina, Associação Catarinense de Supermercados, Conselho Estadual de Combate à Pirataria, Instituto de Metrologia de Santa Catarina, Federação Catarinense de Municípios, Federação da Agricultura e Pecuária de Santa Catarina, Federação dos Trabalhadores na Agricultura, Conselho Regional de Nutricionistas, Conselho Regional de Química, Departamento de Defesa do Consumidor, Instituto de Pesquisa em Risco e Sustentabilidade e Associação dos Usuários Permanentes da CEASA/SC (MPSC, 2018).

O programa atua como uma rede colaborativa, da qual fazem parte organizações públicas e privadas, atualmente, atuando nas seguintes linhas de ação: Monitorar a presença de resíduos de agrotóxicos em vegetais; Combater o uso indiscriminado de agrotóxicos na produção agrícola; Estimular a identificação da origem do produto vegetal; Apoiar o desenvolvimento de laboratório público para análise de agrotóxicos; Fiscalizar o comércio de agrotóxicos e o receituário agronômico; Vedar o ingresso de agrotóxicos banidos no exterior; Incentivar o desenvolvimento de estudos técnicos e pesquisas; e Coibir irregularidades no mercado de produtos orgânicos (MPSC, 2018).

Anualmente são examinadas amostras de alface, abacaxi, arroz, banana, batata, berinjela, brócolis, cebola, cenoura, feijão, laranja, maçã, mamão, mandioca, manga, maracujá, morango, pepino, pêssego, pimentão, repolho, rúcula, tomate, trigo e uva, além de outros produtos eventualmente coletados.

As amostras de produtos vegetais são coletadas, por Engenheiros Agrônomos da CIDASC, sob orientação e coordenação da Divisão de Fiscalização de Insumos Agrícolas, em propriedades rurais, Centrais de Abastecimentos, fornecedores de merenda escolar, estabelecimentos comerciais e indústrias do Estado de Santa Catarina. Devido ao custo elevado e/ou dificuldade para a obtenção das amostras, são evitadas, sempre que possível, as coletas de amostras em estabelecimentos de baixa representatividade comercial. As informações importantes sobre a amostra e os dados do fornecedor/produtor são registradas em Termo de Coleta de Amostras – TCA para permitir a rastreabilidade dos produtos coletados em qualquer tempo da execução do programa.

Para preservar a integridade das amostras, os produtos são coletados utilizando-se luvas descartáveis, acondicionados em sacos de polietileno de primeiro uso, lacradas, etiquetadas, e acondicionadas em caixas de isopor contendo gelo para envio ao laboratório credenciado para emissão dos laudos oficiais (FRAGA; LORENZ, 2013). Entre os anos de 2010 e 2017 foram analisados 247 princípios ativos de agrotóxicos. A partir de 2018 o mínimo de ingredientes pesquisados passou a ser 432, pelos métodos multirresíduos e específicos, possibilitando, assim, aprofundar o diagnóstico

da qualidade e segurança dos alimentos vegetais (MPSC, 2018).

O custeio de 120 análises por ano é realizado através do termo de compromisso de ajustamento de conduta (TAC) firmado pela Central de Abastecimento de Santa Catarina (CEASA) com Promotorias de Justiça de São José e Florianópolis. Outras 550 análises por ano, são custeadas por intermédio de recursos do Fundo para Reconstituição de Bens Lesados (FRBL), instituído pela Lei Estadual n. 15.694, de 21 de dezembro de 2011, e previsto no art. 13 da Lei Federal n. 7.347, de 24 de julho de 1985 (SANTA CATARINA, 2011).

A receita do FRBL é proveniente de condenações, multas e acordos judiciais e extrajudiciais em face de danos causados à coletividade em áreas como meio ambiente, consumidor e patrimônio histórico (MPSC, 2018). Constitui objetivo do fundo financiar projetos que atendam interesses da sociedade, sendo que a sua administração é conduzida por conselho gestor composto por representantes de órgãos públicos estaduais e entidades civis.

Os recursos necessários ao custeio de 550 análises por ano são obtidos do FRBL por intermédio de proposta apresentada pelo Centro de Apoio Operacional do Consumidor, que é órgão auxiliar do MPSC, com a finalidade de contratar, via licitação, laboratório acreditado pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) na Norma de Gestão da Qualidade para Laboratórios Analíticos ABNT ISO IEC 17025:2005. Ressalta-se que Santa Catarina não dispõe de laboratório oficial estruturado para realizar a análise dessas amostras.

O PASR coletou e analisou os níveis de resíduos de agrotóxicos em 2.584 amostras entre os anos 2010 e 2017. Em 2011, os resultados das análises apresentaram 34,45% das amostras com níveis de resíduos de agrotóxicos fora dos padrões autorizados, já no ano de 2017, último ano apresentado, verificou-se que 18,12% das amostras estavam inconformes. Em 2016 os resultados alcançaram o seu menor nível de inconformidades, 16,2% (Figura 1).

Os resultados mostram uma redução no índice de desconformidade de 34,45% observado no primeiro ano do programa (2011) para 16,80% em 2016, possivelmente sob a influência das ações coordenadas no âmbito do PASR, além do aumento da demanda dos consumidores por alimentos cultivados sob sistema de produção orgânica, que vem se ampliando no decorrer dos anos em Santa Catarina. Os tipos de desconformidades encontradas pelo programa em todos os anos foram o uso de agrotóxicos proibidos, não autorizados para a cultura e ou acima do limite máximo de resíduo autorizado.

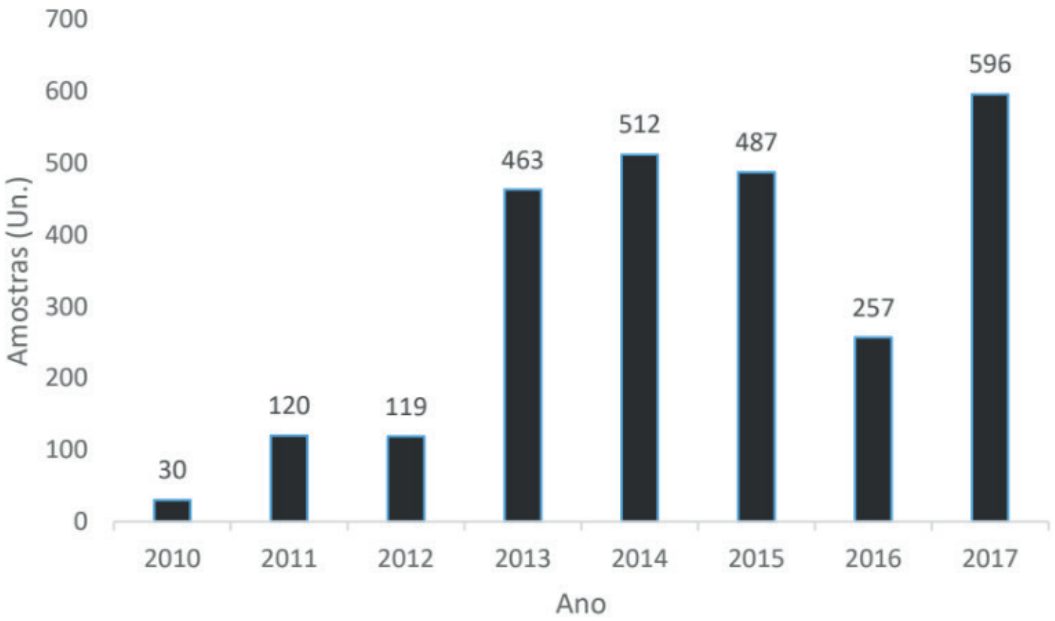

Figura 1 – Amostras de alimentos vegetais coletadas e analisadas pelo PASR, para verificação dos resíduos de agrotóxicos, entre os anos de 2010 e 2017.

Fonte: MPSC, 2018.

Os resultados do monitoramento de resíduos de agrotóxicos nos alimentos vegetais realizado em Santa Catarina, no âmbito do PASR, são semelhantes aos resultados encontrados no Brasil pela Agencia Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, no Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos - PARA, onde 58% das amostras analisadas apresentaram contaminação por agrotóxicos, sendo que 18,03% apresentaram ingredientes ativos não autorizados para aquele cultivo e/ou ultrapassaram os limites máximos de resíduos considerados aceitáveis (ANVISA, 2016).

Mesmo com a redução de quase 16% nas desconformidades em Santa Catarina, conforme mencionado anteriormente, os 18,12% de irregularidades encontradas em 2017 indicam que 108 amostras das 596 analisadas estavam impróprias ao consumo. E, ainda, que nesse mesmo período 72,48% dos alimentos amostrados continham resíduos de agrotóxicos. Em sete anos do programa, tem-se, um patamar médio superior a 21% de amostras fora da conformidade. Ou seja, 552 amostras de alimentos analisadas, do total de 2.584, estavam com resíduos de agrotóxicos não autorizados e/ou acima do limite máximo de resíduos permitidos nas normas sanitárias reguladoras.

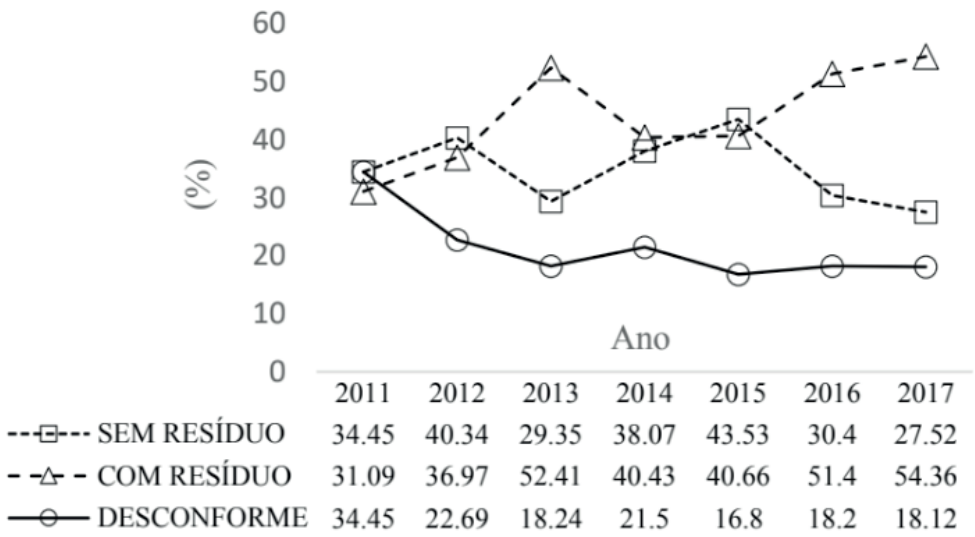

Figura 2 – Índice percentual de análises sem resíduos de agrotóxicos, com resíduos em conformidade e com resíduos em desconformidade legal para os anos de 2011 a 2017.

Fonte: MPSC, 2018.

Sempre que constatadas irregularidades nos resultados das análises, os fatos são comunicados aos órgãos de fiscalização agropecuária (CIDASC) e extensão rural (EPAGRI) do estado, para medidas administrativas e de orientações.

Outra medida tomada são os acordos extrajudiciais. Entre os anos de 2010 e 2017, as Promotorias de Justiça do Consumidor em Santa Catarina, computaram 391 acordos extrajudiciais firmados na forma de termos de compromisso de ajustamento de conduta (TACs), os quais fixam medidas de adequação. Nos acordos extrajudiciais em casos de produtos fora da conformidade identificados na produção agrícola catarinense, o compromissário assume a obrigação de adotar boas práticas agrícolas, previstas na legislação. Sempre adotar ações de prevenção dos riscos à saúde dos consumidores, dos trabalhadores e ao meio ambiente. E, também, participar de curso ou seminário sobre o uso de agrotóxicos oferecido pela Empresa de Pesquisa Agrícola e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) ou pelo Serviço Nacional de Aprendizagem Rural (SENAR), comprovando a frequência por meio do respectivo certificado de participação.

PROGRAMA e-Origem

O Governo do Estado de Santa Catarina publicou no ano de 2016 a Portaria Conjunta SES/SAR nº 459, com a finalidade de promover a rastreabilidade dos vegetais "*In Natura*" e minimamente processados no Estado e com isso identificar a origem da produção agrícola com resíduo de agrotóxico fora da conformidade legal para que ações educativas e fiscais sejam tomadas (SANTA CATARINA, 2016).

Esta legislação exige que o produto vegetal destinado ao consumo seja identificado a partir da sua origem mantendo-a em todas as etapas da cadeia de comercialização

até o consumo.

Para dar apoio aos agricultores no cumprimento das obrigações de rastreabilidade, a Secretaria da Agricultura e Pesca de Santa Catarina, através de uma de suas empresas vinculadas (CIDASC), disponibilizou gratuitamente um sistema informatizado (e-Origem) que possibilita a rastreabilidade de forma prática e simples.

No sistema e-Origem o agricultor realiza o cadastro de produtor primário e da sua produção, para qual gera um código específico para a rastreabilidade destes produtos. O próprio agricultor pode realizar o processo no sistema e é o responsável pela veracidade das informações e por mantê-las atualizadas anualmente (CIDASC, 2018).

Cada produto que o agricultor cadastrar receberá um código para a rastreabilidade. Este código deverá acompanhar o produto pela cadeia produtiva até chegar ao ponto de venda e ao consumidor final. As informações fornecidas pelo produtor em seu cadastro serão organizadas para permitir ao mesmo gerar os rótulos de seus produtos a partir do sistema. Da mesma forma que o rótulo, o sistema permitirá que o produtor imprima os modelos de cartazes ou etiquetas que devem ser expostas sempre que seus produtos estiverem a venda diretamente ao consumidor (CIDASC, 2018).

O sistema também gera uma proposta de caderno de campo básico, de fácil compreensão e que será o passo inicial para o registro das práticas agrícolas realizadas para cada produção, principalmente em relação ao uso de agrotóxicos. A legislação exige que o produtor faça os registros do manejo adotado em cada cultura. Entretanto, o produtor pode adotar o modelo de caderno de campo que preferir. Poderá ser o modelo utilizado no sistema de produção integrada, certificação fitossanitária, produção orgânica, entre outros. Da mesma forma, a Portaria indica o conteúdo obrigatório mínimo para identificação dos produtos, permitindo que outros modelos de rótulos e cartazes possam ser utilizados (SANTA CATARINA, 2016).

Os dados da produção são disponibilizados para consulta pelo consumidor. Com a adoção da rastreabilidade espera-se que o consumidor tenha condições de consultar através de seu smartphone ou computador, quem produziu o alimento e onde foi produzido. Isso criará um ambiente confortável e seguro ao consumidor, que poderá inclusive, por exemplo, buscar por um lote de produto de um produtor específico (CIDASC, 2018).

CONSIDERAÇÕES

O esforço conjunto dos signatários do termo de cooperação técnica revela um traço muito comum de solidariedade institucional entre os órgãos públicos em Santa Catarina, permitindo o alcance do objetivo geral de promover a melhoria da qualidade dos produtos e serviços ofertados à população.

O PASR tem permitido a redução da presença irregular de resíduos de

agrotóxicos nos alimentos vegetais produzidos e comercializados no Estado de Santa Catarina. Entretanto para reduzir ainda mais este índice, ações educativas devem ser intensificadas e formas eficazes de rastreabilidades implementadas.

A rastreabilidade é fundamental para identificar a origem dos alimentos, a sua identificação para o consumidor e também para resguardar o agricultor quanto a processos que utiliza na sua produção. A identificação de origem dos alimentos vegetais "*in natura*" proporcionada pela Portaria 459, é uma demanda social, que poderá permitir a valorização da adoção de boas práticas agrícolas, e ainda corrigir inconformidades.

A articulação entre os órgãos públicos e entidades com atuação na área agrícola e no comércio de hortícolas vem estimulando a priorização de novas estratégias para incentivar a adoção de sistemas de cultivo que promovam a segurança dos alimentos.

REFERÊNCIAS

ANVISA. *Programa de análise de resíduo de agrotóxicos em alimentos - PARA: Relatório das análises de amostras monitoradas no período de 2013 a 2015.* Brasília, 2016. Disponível em < http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/0/Relat%C3%B3rio+PARA+2013-2015_VERS%C3%83O-FINAL.pdf/494cd7c5-5408-4e6a-b0e5-5098cbf759f8>. Acesso em: 17 de mar. de 2017.

BRASIL. Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. *Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências.* Diário Oficial da União de 24 de dez. de 2003. Seção 1, Página 8.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 19, de 28 de maio de 2009. *Aprovar os mecanismos de controle e informação da qualidade orgânica*. Diário Oficial da União de 25 de mai. de 2009, Seção I.

CARNEIRO, F. F. et al. *Dossiê ABRASCO – Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde*. ABRASCO, Rio de Janeiro, 1ª Parte. 98p. abril de 2012. Disponível em <http://www.abrasco.org.br/dossieagrotoxicos/wp-content/uploads/2013/10/DossieAbrasco_2015_web.pdf>. Acesso em: 19 de abr. de 2017.

CIDASC – Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina. *Programa e-Origem.* Disponível em < http://www.cidasc.sc.gov.br/e-origem>. Acesso em: 15 de out. de 2018.

FRAGA, M.; LORENZ, A. N. *Manual de Procedimentos Operacionais Padronizados do Projeto Perícia de Resíduos Agrotóxicos em Alimentos POPPRA-IN*. Programa Alimento Sem Risco, Florianópolis, 19 p., Versão: 1.0, 17 abr. 2013.

MAPA. *Cadastro Nacional de Produtores Orgânicos, 2017*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/cadastro-nacional-produtores-organicos>. Acesso em: 04 abr. de 2017.

MEURER, K. et al. Feirantes vendem produtos com agrotóxico como orgânicos. *G1/Fantástico*, Rio de Janeiro, 31 jan. 2016. Disponível em: http://glo.bo/1nGP5M3. Acesso em: 12 de mai. de 2017.

MPSC - Ministério Público de Santa Catarina**.** *Programa Alimento Sem Risco: Prática e resultados de 2010 a 2017*. Florianópolis, 1º ed., 8 p, 2018. Disponível em <https://www.mpsc.mp.br/programas/programa-alimento-sem-risco>. Acesso em: 15 de out. de 2018.

SANTA CATARINA. *Manual Operativo do Programa de Competitividade da Agricultura Familiar de*

Santa Catarina. Programa Santa Catarina Rural. Florianópolis: Volume I, Versão 4. Edição revisada – agosto de 2014.

SANTA CATARINA. Portaria Conjunta SES/SAR n° 459, de 07 de junho de 2016. *Aprova a Portaria Conjunta que define as competências, os princípios e os procedimentos para assegurar o cadastro de produtor, o caderno de campo e a rastreabilidade de produtos vegetais, in natura e minimamente processados, destinados ao consumo humano no Estado de Santa Catarina.* Publicado no Diário Oficial de Santa Catarina de 10/08/2016, n. 20358, Pg. 5-6.

SANTA CATARINA. Lei nº 15.694, de 21 de dezembro de 2011. *Dispõe sobre o Fundo para Reconstituição de Bens Lesados - FRBL e estabelece outras providências*. Disponível em: <http://www.leisestaduais.com.br/sc/lei-ordinaria-n-15694-2011-santa-catarina-dispoe-sobre-o-fundo-para-reconstituicao-de-bens-lesados-frbl-e-estabelece-outras-providencias>. Acesso em: 16 out. 2018.

CAPÍTULO 14

RESÍDUOS DE ANTIMICROBIANOS DE USO VETERINÁRIO EM SOPINHAS DESTINADAS A LACTENTES E CRIANÇAS DE PRIMEIRA INFÂNCIA

Rosana Gomes Ferreira
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (INCQS/Fiocruz) – Rio de Janeiro

Jônatas Vieira Grutes
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (INCQS/Fiocruz) – Rio de Janeiro

Mararlene Ulberg Pereira
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (INCQS/Fiocruz) – Rio de Janeiro

Mychelle Alves Monteiro
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (INCQS/Fiocruz) – Rio de Janeiro

Felipe Stanislau Candido
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (INCQS/Fiocruz) – Rio de Janeiro

Bernardete Ferraz Spisso
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (INCQS/Fiocruz) – Rio de Janeiro

RESUMO: O uso de antimicrobianos na medicina veterinária possibilita a ocorrência de resíduos nos alimentos, o que pode representar risco à saúde dos consumidores. Lactentes e crianças de primeira infância, por serem suscetíveis fisiologicamente, estão mais vulneráveis a efeitos prejudiciais proveniente desses resíduos químicos. O documento CODEX STAN 73-1981 do *Codex Alimentarius Commission* estabelece que alimentos de transição para esse público devem ser isentos de hormônios e antimicrobianos, e praticamente livres de outros contaminantes e substâncias farmacologicamente ativas. No Brasil, a Portaria N° 34/1998 da Anvisa proíbe a presença de tais substâncias. Os macrolídeos ganham destaque nesse contexto ao serem categorizados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em antimicrobianos criticamente importantes para indução de resistência bacteriana. O objetivo desse trabalho foi estabelecer um método analítico para determinação de resíduos de macrolídeos em sopinhas destinadas a lactentes e crianças de primeira infância. Uma extração simples e efetiva utilizando método QuEChERS foi estabelecida para a preparação da amostra. A técnica utilizada para identificação e confirmação dos analitos foi a Cromatografia Líquida Acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS/MS) com ionização por eletrospray positivo e modo de aquisição de monitoramento de reações múltiplas. O método mostrou-se adequado para a análise de diferentes tipos de sopinhas, uma vez que não foi observado efeito de matriz relativo em função da composição diferente de cada matriz. O método estabelecido, após validado, pode ser utilizado como uma ferramenta para avaliar o risco de exposição a

resíduos de macrolídeos em alimentos para bebês e crianças.
PALAVRAS-CHAVE: antimicrobianos, macrolídeos, alimentos infantis, LC-MS/MS, QuEChERs.

ABSTRACT: The use of antimicrobials in veterinary medicine allows the occurrence of residues in food, which may represent a risk to the health of consumers. Infants and toddlers are more vulnerable to harmful effects from these chemical residues because they are physiologically susceptible. CODEX STAN 73-1981 of the Codex Alimentarius Commission stablish that transitional foods for this public should be free of hormones and antimicrobials and practically free of other contaminants and pharmacologically active substances. In Brazil, Ordinance N° 34/1998 of Anvisa prohibits the presence of such substances. Macrolides are highlighted in this context when they are categorized by the World Health Organization (WHO) as critically important antimicrobials for induction of bacterial resistance. The objective of this work was to establish an analytical method for the determination of macrolide residues in soaps for infants and toddlers. A simple and effective extraction using the QuEChERS method was established for the preparation of the sample. The technique used to identify and confirm the analytes was the Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry (LC-MS/MS) with electrospray ionization positive and multiple reaction monitoring acquisition mode. The method was suitable for the analysis of different types of soup, since no relative matrix effect was observed as a function of the different composition of each matrix. The established method, once validated, can be used as a tool to assess the risk of exposure to macrolide residues in baby foods.
KEYWORDS: antimicrobials, macrolides, baby food, LC-MS/MS, QuEChERs.

Atingir um nível de qualidade de vida adequado é um objetivo comum a grande parcela da população e que tem relação direta com múltiplos fatores físicos, mentais e sociais. Uma alimentação balanceada e que não traga malefícios a saúde do consumidor é parte fundamental nesse processo. Entretanto, sabe-se que existe um alto risco de contaminação química, sobretudo devido à utilização de agrotóxicos e produtos de uso veterinários, o que torna possível a ocorrência de resíduos nesses alimentos.

No que diz respeito à presença de produtos de uso veterinários em alimentos, um rígido controle dessas substâncias se faz necessário com o intuito de minimizar seu inerente risco sanitário. No mundo, diversos órgãos como, por exemplo, a Agência Americana para Alimentos e Medicamentos (*Food and Drug Administration*, FDA), a Agência Europeia para a Avaliação de Medicamentos (*European Medicines Agency*, EMA) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) possuem atribuições de regulamentação e fiscalização, definindo ainda os limites máximos de resíduos (LMR) permitidos para cada substância, estando os mesmos diretamente relacionados à segurança do alimento.

A princípio, um alimento que contenha resíduos abaixo do LMR é considerado

seguro, desde que respeitada a ingestão diária admissível (IDA), ou seja, a quantidade que pode ser ingerida diariamente, durante toda a vida, sem oferecer risco apreciável para a saúde humana. Concentrações acima desses LMR para substâncias autorizadas e a presença de susbtâncias proibidas podem colocar em risco a saúde dos consumidores, elevando as chances do desenvolvimento de reações alérgicas, discrasias sanguíneas e carcinogenicidade. Se tratando de antimicrobianos, mesmo alimentos com resíduos abaixo dos LMR podem ser prejudiciais, devido a possibilidade da indução do surgimento de bactérias resistentes. Esse é um tema recorrente entre especialistas da saúde em virtude da crescente dificuldade do combate as novas cepas de bacterinas. A preocupação alcançou a Organização Mundial de Saúde (OMS) que elaborou uma lista categorizando antimicrobianos de acordo com sua relevância para mecanismos de resistência, sendo os macrolídeos classificados como antimicrobianos criticamente importantes.

Vale ressaltar que tais efeitos prejudiciais à saúde podem ser ainda mais pronunciados em lactentes (criança de zero a doze meses de idade incompletos) e crianças de primeira infância (aquelas entre um e três anos de idade), tanto por serem mais suscetíveis fisiologicamente, quanto por estarem, proporcionalmente, mais expostos aos alimentos do que adultos, levando-se em consideração a taxa de consumo por unidade de peso.

De acordo com o Manual de orientação para a alimentação do lactente, do pré-escolar, do escolar, do adolescente e na escola da Sociedade Brasileira de Pediatria, a partir dos seis meses de idade é fundamental a introdução da alimentação complementar no lactente, pois o leite materno não supre mais as necessidades nutricionais. A introdução deve ser gradual sob a forma de papas e sua composição deve ser variada e oferecer todos os tipos de nutrientes: cereais ou tubérculos, alimentos proteicos de origem animal, leguminosas e hortaliças.

Os hábitos alimentares da população vêm se modificando em consequência do ritmo acelerado de vida, com aumento do consumo de refeições práticas e alimentos industrializados como, por exemplo, as sopinhas, refeições salgadas à base de carnes e ovos destinadas ao público infantil. Todos esses fatores corroboram com a necessidade de regulamentação, controle e fiscalização desses produtos.No Brasil, a regulação de resíduos em alimentos para lactentes e crianças de primeira infância, é baseada dentre outros documentos, na Portaria nº 34 de 1998, que aprova o regulamento técnico referente a alimentos de transição. Os mesmos são definidos como os “alimentos industrializados para uso direto ou empregado em preparado caseiro, utilizados como complemento do leite materno ou de leites modificados introduzidos na alimentação de lactentes e crianças de primeira infância com o objetivo de promover uma adaptação progressiva aos alimentos comuns, e de tornar essa alimentação balanceada e adequada às suas necessidades, respeitando-se sua maturidade fisiológica e seu desenvolvimento neuropsicomotor”. Enquadram-se nessa definição as sopinhas, que segundo o documento não podem conter resíduos

de hormônios, antibióticos, bem como resíduos de substâncias farmacologicamente ativas. No que diz respeito especificamente às sopinhas, a Portaria supracitada é a única que dispõe sobre o tema no país e embora a mesma descreva que resíduos de antibióticos não podem estar presentes nos alimentos destinados ao público infantil, ainda não há dados nacionais a respeito.

Um documento do CAC, o CODEX STAN 73-1981, que abrange alimentos industrializados para lactentes e crianças utilizados durante o período normal de desmame ou até que o bebê se acostume ao consumo de alimentos comuns, enquadrando-se assim as sopinhas, estabelece que esses alimentos devem ser isentos de hormônios e antimicrobianos, e praticamente livres de outras substâncias farmacologicamente ativas. Entretanto o panorama internacional não é muito diferente do encontrado no Brasil e pouco se publica e discute sobre o assunto.

Um levantamento bibliográfico realizado na base de dados Science Direct, utilizando os termos baby food e veterinary drug residues, identificou artigos científicos que aplicaram os métodos analíticos desenvolvidos para a avaliação de resíduos de antimicrobianos em sopinhas e identificaram a presença de resíduos de tetraciclina, oxitetraciclina, fenbendazol, josamicina, sulfaquinoxalina, levamisol, sulfadimidina, tilmicosina, tilosina, sendo a maioria dos resíduos encontrados em sopinhas a base de frango. No Brasil, de acordo com os últimos resultados do PNCRC/MAPA, ainda é possível encontrar resíduos de antimicrobianos autorizados acima do LMR e antimicrobianos proibidos em alimentos. Atualmente, os produtos de uso veterinários à base de macrolídeos estão autorizados no país para bovinos, suínos, aves, ovinos e caprinos.

O objetivo desse trabalho foi estabelecer um método analítico que de determinação de resíduos de macrolídeos (claritromicina, eritromicina, espiramicina, oleandomicina, tilmicosina, tilosina e troleandomicina) em sopinhas destinadas a lactentes e crianças de primeira infância.

No preparo das amostras diversos testes foram realizados variando-se solventes e sais de extração a fim de se obter o método com melhores recuperações dos analitos e maior praticidade. Uma extração simples e efetiva foi estabelecida utilizando método QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*) para a preparação da amostra. A técnica utilizada para identificação e confirmação dos analitos foi a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS) com ionização por eletrospray positivo e modo de aquisição de monitoramento de reações múltiplas.

Recuperações satisfatórias dos analitos foram obtidas (68-103%). O método desenvolvido mostrou-se adequado para a análise de diferentes tipos de sopinhas, uma vez que não foi observado efeito de matriz relativo (RSD ≤ 9%) em função da composição diferente de cada matriz. A estimativa de limite de detecção alcançou valores adequados (0,02-4,12 μg/kg).

O método estabelecido, após validado, pode ser utilizado como uma ferramenta

para avaliar o risco de exposição a resíduos de macrolídeos em alimentos de transição do tipo sopinhas.

REFERÊNCIAS

AGUILERA-LUIZ, M. M. *et al*. Multiclass method for fast determination of veterinary drug residues in baby food by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 132, p. 2171-2180, 2012.

BAYNES, R. E. *et al*. Health concerns and management of select veterinary drug residues. **Food and Chemical Toxicology**, v. 88, p. 112-122, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – **Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes PNCRC/Animal**. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes Acesso em: 10 out. 2018.

BRASIL. Portaria n. 34, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos de Transição para Lactentes e Crianças de Primeira Infância, constante do anexo desta Portaria. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 de Janeiro de 1998.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (CAC). **Glossary of terms and definitions.** CAC/MISC 5-1993. Updated up to the 40th Session of the *Codex Alimentarius* Commission. 2018. Disponível em: < http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/vetdrugs/glossary/en// >. Acesso em 11 out. 2018.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (CAC). **Standard for canned baby foods**. CODEX STAN 73-1981. 1989. 6 p. Disponível em: < http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/list-of-standards/en/ > Acesso em: 10 out. 2018.

GRUTES, J. V**. Desenvolvimento de método analítico para a avaliação de resíduos de antimicrobianos da classe dos macrolídeos em alimentos de transição, do tipo sopinhas, por LC-MS/MS.** Rio de Janeiro, INCQS/Fiocruz, 2017. Trabalho de conclusão do curso (Especialista em Vigilância Sanitária) – Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional em Controle de Qualidade em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. 2017.

GRUTES, J. V.; FERREIRA, R. G.; MONTEIRO, M. A.; PEREIRA, M. U.; SPISSO, B. F. Avaliação de diferentes métodos de extração para a identificação de resíduos de macrolídeos em alimentos infantis industrializados à base de carne por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (ILC-MS/MS). **Química Nova**, v. , n. , p. , 2018.

NEBOT, C. *et al*. Monitoring the presence of residues of tetracyclines in baby food samples by HPLC-MS/MS. **Food Control**, v. 46, p. 495-501, 2014.

TORRES, A. E. C. **Temas de Higiene de los Alimentos**. 1. Ed. La Habana: Ciencias Médicas, 2008

World Health Organization (WHO). **Critically important antimicrobials for human medicine**: Ranking of antimicrobial agents for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use – 5th Rev. Geneva: World Health Organization, 2017.

SOBRE A ORGANIZADORA

Vanessa Tizott Knaut Scremin: Mestre em Ensino de Ciências e Tecnologia, pela UTFPR. Especialista em Nutrição Parenteral e Enteral, pela Sociedade Brasileira de Nutrição Parenteral e Enteral (BRASPEN). Pós-graduada em Gestão em Saúde, pela UAB/UEPG em 2018, e em Nutrição Clínica, pelo GANEP Nutrição Humana em 2010. Graduada em Nutrição, pelo Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais, em 2008. Atua como nutricionista da Secretaria Estadual de Saúde do Paraná/3ª Regional de Saúde e como docente do curso de graduação em Nutrição, no Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-171-8
9 788572 471718