

ANÁLISE SENSORIAL DE BARRA DE CEREAIS ADICIONADA DE SEMENTES DE MAMÃO (Carica papaya L.).pdf

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM POLPA DE Vitis sp..pdf

AVALIAÇÃO DE ANTIOXIDANTES EM CASCA DE Vitis sp.pdf

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE FIBRA DE COCO VERDE .pdf

QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO DA ÁGUA FORNECIDA PELA REDE DE ABASTECIMENTO DA CIDADE DE MARÍLIA .pdf

REAPROVEITAMENTO DO SORO DE LEITE BOVINO.pdf

SELEÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS FERMENTADORES DE XILOSE.pdf

ANÁLISE SENSORIAL DE BARRA DE CEREAIS ADICIONADA DE SEMENTES DE MAMÃO (*Carica papaya* L.)

ELKE SHIGEMATSU¹, FLÁVIA MARIA VASQUES FARINAZZI MACHADO¹,
DOUGLAS ARAÚJO PASINATO², VICTOR BRUNO DUARTE DE LIMA²

¹Docente e Pesquisador do curso de Tecnologia em Alimentos da Faculdade de Tecnologia de Marília – elke_ds@hotmail.com

² Tecnólogo em Alimentos pela Faculdade de Tecnologia “Estudante Rafael Almeida Camarinha”. Marília - São Paulo - Brasil. – FATEC. Av. Castro Alves, 62, B. Somenzari, CEP:17506-000.

RESUMO

O Brasil é considerado o principal produtor mundial de mamão (*Carica papaya* L.) e detém 25% da produção, sendo os resíduos do processamento da fruta destinados ao lixo em sua maioria. O aproveitamento destes resíduos na alimentação humana é uma alternativa viável, visto que estes possuem grande valor nutricional. O objetivo deste estudo foi elaborar uma barra de cereais com sementes de mamão desidratadas. Foram desenvolvidas três formulações utilizando-se concentrações diferentes de sementes de mamão desidratadas em 5%, 10% e 15%. Foram determinadas, através de cálculos, a composição centesimal das barras, e estas foram avaliadas quanto à aceitação sensorial, utilizando escala hedônica de nove pontos e intenção de compra. Os resultados mostraram que o teor de fibras das barras variou de 6,57 a 8,05%. Na análise sensorial não houve diferença estatística significativa entre as barras de cereais com 5%, 10% e 15% de sementes de mamão desidratadas, considerando os atributos avaliados sendo que as três formulações apresentaram notas médias acima de 5,0. A utilização das sementes de mamão na elaboração de barras de cereais, além de aumentar os teores de fibras totais, favorece ainda à menor eliminação de resíduos industriais e domésticos no ambiente.

Palavras-Chave: *Carica papaya* L., sementes, reaproveitamento, fibras.

SENSORY ANALYSIS OF CEREAL BAR FOR ADDED PAPAYA SEEDS (*Carica papaya* L.)

ABSTRACT

Brazil is considered the leading global producer of papaya (*Carica papaya* L.) and holds 25% of production, and the fruit processing waste for the garbage for the most part. The use of these residues in food is a viable alternative, since they have high nutritional value. The aim of this study was to develop a cereal bar with dried papaya seeds. The use of these residues in food is a viable alternative, since they have high nutritional value. The aim of this study was to prepare a cereal bar with dried papaya seeds. Three formulations were prepared using different concentrations of papaya seeds dried at 5%, 10% and 15%. Were determined by calculation, the chemical composition of the bars, and these were evaluated for sensory acceptance, using nine-point hedonic scale and purchase intent. The results showed that the fiber content of the bars ranged from 6.57 to 8.05%. In sensory analysis there were no statistically significant differences between the cereal bars with 5%, 10% and 15% of dried papaya seeds, considering the attributes evaluated and all three formulations had average scores above 5.0. The use of papaya seeds in the development of granola bars, in addition to increasing the levels of total fiber, also helps to lower the disposal of industrial and domestic environment.

Key words: *Carica papaya* L., seeds, reuse, fiber

1- INTRODUÇÃO

Frutas e hortaliças são importantes componentes de uma dieta saudável e seu consumo em quantidades adequadas pode auxiliar no controle de fatores de risco para doenças crônico-degenerativas, como distúrbios cardiovasculares, obesidade, síndrome metabólica e alguns tipos de câncer (DEVALARAJA et al, 2011; JAIME et al, 2009). As cascas, peles, sementes e sobras do processo de despulpamento são considerados resíduos, sendo que estes são geralmente descartados pelas indústrias alimentícias e pelo uso doméstico em quantidades significativas, contribuindo ainda para aumento do impacto ambiental (LIMA et al., 2006; PEREIRA et al, 2003).

Estudos tem demonstrado que os resíduos agroindustriais muitas vezes possuem alto teor de proteínas, carboidratos, lipídios poli-insaturados e fibras, além de componentes fisiológicos ou metabólicos benéficos ao organismo, como compostos fenólicos e substâncias antioxidantes (NUNES et al, 2009), podendo ser utilizados na incorporação de produtos alimentícios e de baixo custo (SOUZA et al., 2008).

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é originário da América tropical e é uma das plantas frutíferas mais cultivadas do mundo, especialmente em áreas tropicais onde a temperatura média anual é de 25°C. Em função de suas características sensoriais, nutricionais (sais minerais, vitaminas e fibras) e propriedades funcionais (digestiva e laxativa), o mamão é um fruto de grande aceitabilidade, sendo o Brasil considerado o seu maior produtor mundial e terceiro maior exportador dessa fruta (JORGE e MALACRIDA, 2008).

As sementes, que correspondem em média a 14% do peso do fruto, constituem geralmente material de descarte tanto da indústria de alimentos como do consumo doméstico, embora estudos demonstrem em sua composição valores elevados de fibras totais, que variam de 14,28 a 29,89%, dependendo do estágio de maturação dos frutos (SILVA et al, 2007).

Considerando o crescente interesse da população por alimentos naturais e com apelo de saudabilidade, a indústria processadora tem se adaptado a partir da elaboração de produtos com características nutricionais mais relevantes, como os alimentos ricos em fibras, quando comparados aos produtos convencionais.

Estudos indicam que uma alimentação rica em fibras diminui os riscos relacionados ao consumo de dietas inadequadas, contribui para o melhor

funcionamento do trato gastrintestinal, previnem a constipação e auxiliam a aquisição de hábitos de vida mais saudáveis, além de reduzir fatores de risco relacionados ao estilo de vida (DAMIÃO et al, 2011; SALES et al, 2010).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi elaborar barras de cereais a partir da substituição de ingredientes convencionais por sementes de mamão (*Carica papaya* L.) desidratadas e avaliar sua aceitabilidade.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Desidratação das sementes de mamão (*Carica papaya* L.)

Os frutos utilizados foram mamões da espécie *Carica papaya* adquiridos no CEAGESP (Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo) unidade em Marília/SP, em estágio ótimo de maturação.

Os frutos foram lavados em água corrente, cortados transversalmente e retiradas as sementes, as quais, foram lavadas com água para remoção da placenta. Em seguida, foram homogeneizadas e separadas onde receberam o seguinte tratamento: em peneira de malha de aço de diâmetro inferior ao tamanho da semente, sendo pressionadas contra esta com o auxílio das mãos até o rompimento da sarcotesta. Durante esta operação, a peneira estava sob uma torneira com jato de água corrente, para facilitar a separação. Em seguida foi retirado o excesso de água e encaminhadas para dessecação a $70^{\circ}\text{C} \pm 2$ por 3 horas em estufa de circulação e renovação de ar (Marconi MA035).

2.2 – Elaboração das barras de cereais

As barras de cereais com sementes de mamão foram elaboradas no Laboratório de Processamento de Alimentos da Fatec de Marília/SP. Os ingredientes utilizados nas formulações foram obtidos no comércio local da cidade. Foram desenvolvidas três formulações utilizando as sementes de mamão desidratadas, nas proporções de 5%, 10% e 15% (tabela 1).

Tabela 1 – Ingredientes utilizados na elaboração de barras de cereais com 5%, 10% e 15% de sementes de mamão desidratadas.

Ingredientes do xarope de aglutinação			
Açúcar cristal			28%
Xarope de glicose (DE45)			8%
Maltodextrina			8%
Gordura vegetal			2,5%
Lecitina de soja			2,5%
Mel			6%

Ingredientes Secos			
	Formulação A	Formulação B	Formulação C
Sementes de mamão	5%	10%	15%
Farinha de Linhaça dourada	6%	6%	4%
Aveia em Flocos	8%	6%	6%
Castanha do Pará	7%	6%	6%
Proteína de Soja	8%	6%	6%
Canela em pó	1%	1%	1%
Banana Passa	10%	10%	7%

As barras de cereais foram preparadas seguindo metodologia descrita por FREITAS & MORETTI (2006). O xarope de aglutinação foi preparado em recipiente de aço inoxidável, com fusão e dissolução dos açúcares e posterior adição de maltodextrina previamente dissolvida, gordura vegetal e lecitina de soja. Os ingredientes ficaram sob agitação constante, aferindo-se o teor de sólidos solúveis totais em refratômetro de mesa até a obtenção de um xarope de 86°Brix. Os ingredientes secos foram incorporados ao xarope de aglutinação à temperatura de aproximadamente 95°C, sob agitação constante da massa até total homogeneização. A massa foi laminada em molde de aço inox, utilizando um cilindro de inox até espessura de 1 cm da manta. Esta massa foi resfriada por 10 minutos, em temperatura de 9°C. A manta foi cortada em tamanhos retangulares, originando barras de 15g cada unidade e tamanho padronizado (10x3x1), que foram desenhadas e embaladas em filme flexível.

2.2 Composição Centesimal

A composição centesimal das barras de cereais com 5%, 10% e 15% foi realizada através do cálculo aproximado de ingredientes, utilizando tabelas de composição química de alimentos para carboidratos, proteínas, gorduras totais, fibras e valor energético (kcal).

2.3 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada no laboratório de Análise Sensorial da Universidade de Marília (UNIMAR), localizada na cidade de Marília-SP. As amostras foram avaliadas por 50 provadores sendo docentes e discentes não treinados, com idade entre 20 a 40 anos, de ambos os sexos, os quais avaliaram os atributos cor, aroma, sabor e textura, por meio de escala hedônica não estruturada de 9 pontos, onde a nota mínima 1 representa desgostei muitíssimo e a nota máxima 9 representa gostei muitíssimo, e quanto a intenção de compra pelos provadores (COHEN et al., 2005).

Para a análise, as três amostras foram dispostas casualizadas em bandejas, com códigos de três dígitos aleatórios. Durante o teste sensorial, foram disponibilizados para os provadores água e biscoito água e sal para minimizar o efeito de resíduos entre uma amostra e outra. Os provadores realizaram as avaliações em cabines apropriadas, isolados, com luz branca e em temperatura ambiente (SAMPAIO, 2009).

2.4 Análise Estatística

Os resultados da análise sensorial das barras de cereais foram expressos por meio de média, desvio-padrão e submetidos à análise de variância (ANOVA). A análise comparativa dos resultados foi realizada por meio do teste t de Student, utilizando-se o software estatístico BioEstat (AYRES et al, 2007).

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados da composição centesimal das barras de cereais elaboradas com sementes de mamão estão descritos na tabela 2.

Tabela 2 - Composição centesimal das barras de cereais elaboradas com 5%, 10 e 15% de sementes de mamão desidratadas.

	Valor energético (Kcal)	Carboidratos (g/100g)	Proteínas (g/100g)	Gorduras totais (g/100g)	Fibras totais (g/100g)
Formulação A (5%)	351,4	63,21	6,84	9,57	6,57
Formulação B (10%)	344,22	61,86	6,6	9,38	7,35
Formulação C (25%)	346,4	61,11	7,18	9,63	8,05

*TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO/UNICAMP; SILVA et al, 2007

Os valores energéticos das barras de cereais elaboradas com sementes de mamão (*Caricas papaya* L.) variaram de 351,4Kcal a 346,4Kcal por 100g do produto. Valores maiores foram encontrados por DESSIMONI-PINTO et al (2010) em barras de cereais elaboradas com 15% de sementes de macaúba (396,28kcal).

Os teores de fibras totais das barras de cereais variaram de 6,57 a 8,05%, sendo que numericamente o aumento das concentrações de sementes induziu a maiores valores de fibras totais nas formulações. Resultados semelhantes foram encontrados por Bueno (2005) que obteve teores de 7,86% de fibras totais em barras de cereais elaboradas com 8% de sementes de nêspira (*Eriobotrya japonica* L.) tostadas. SILVA et al (2007) encontraram valores de 14,58% a 29,89% de fibras em sementes de mamão em diferentes estágios de maturação.

Estudos têm demonstrado que as fibras alimentares apresentam efeitos fisiológicos e metabólicos benéficos na prevenção de distúrbios crônico-degenerativos que afetam a qualidade de vida da população, como constipação intestinal e diverticulite, hipercolesterolemia, hiperglicemia, obesidade e câncer de mama e intestino grosso (HJERN et al, 2011; MELLO & LAAKSONEN, 2009). Assim, o consumo de barras de cereais com sementes de mamão (*Caricas papaya* L.) tende a favorecer o aumento do consumo diário de fibras totais, contribuindo com a manutenção da saúde da população.

Os resultados da análise sensorial mostram que não houve diferença estatística significativa entre as barras de cereais com 5%, 10% e 15% de sementes

de mamão desidratadas, considerando os atributos avaliados (tabela 3), sendo que as três formulações apresentaram notas médias acima de 5,0.

Tabela 3 - Resultados da análise sensorial das formulações de barras de cereais com 5%, 10% e 15% de sementes de mamão desidratadas.

Formulações	Cor	Aroma	Sabor	Textura	Impressão global
A (5%)	5,8 ± 1,94	6,42 ± 1,63	6,28 ± 1,70	5,82 ± 1,83	6,08 ± 1,56
B (10%)	5,32 ± 1,90	6,36 ± 1,75	6,12 ± 1,86	5,54 ± 1,74	5,81 ± 1,41
C (15%)	4,98 ± 2,07	6,28 ± 1,57	5,62 ± 2,14	5,28 ± 2,05	5,54 ± 1,65
p – valor*	0.1135	0.9129	0.1980	0.3589	0.2177

*Quando p-valor \leq 0,05, a diferença entre os valores médios foi significativo - Teste ANOVA (Análise de Variância)

Guimarães & Silva (2009) utilizaram murici passa (*Byrsonima verbascifoli*) em substituição a banana desidratada na fabricação de barras de cereais, identificando que as formulações com maiores teores de murici apresentaram as menores notas nos resultados da análise sensorial.

Numericamente, observou-se neste estudo que a formulação A (5%) obteve melhores resultados quando comparada às demais formulações onde a impressão global foi de 6,08 (\pm 1,56) correspondendo a gostei ligeiramente e gostei moderadamente (6,0 e 7,0). Estes dados corroboram com o estudo de GARCIA (2010) que ao desenvolver três formulações de barras de cereais com farelo de arroz tostado, observou que as barras com menor teor do farelo, apresentaram maiores notas atribuídas quanto à impressão global. ESTÉVEZ et al (2000) também obtiveram notas próximas de 6,0 para a aceitabilidade de barras de cereais acrescidas de cotilédones de algarobo. DESSIMONI-PINTO et al (2010) avaliando sensorialmente barras de cereais com amêndoas de macaúba, observaram que estas apresentaram notas mais altas pelos provadores do que a formulação controle.

Os resultados da análise sensorial para o atributo cor (figura 1) apresentaram valores maiores (média 5,8) para a formulação A contendo 5% de sementes de mamão em relação às outras formulações avaliadas. Justifica-se tal fato pela

coloração escura das sementes acrescidas em maior quantidade (10 e 15%) nas outras barras, consequentemente escurecendo o produto final.

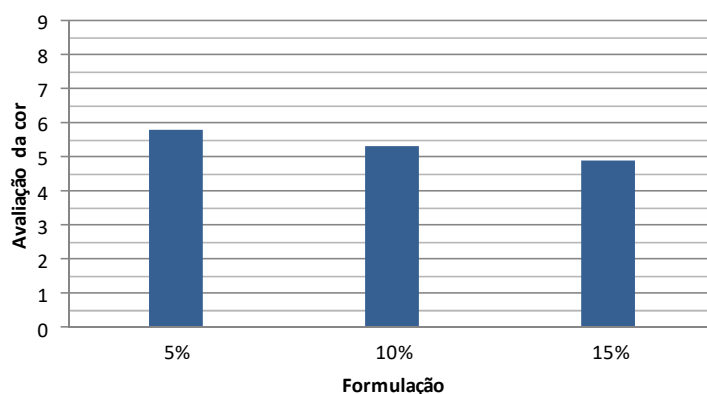


Figura 1- Resultados da avaliação do atributo cor para as barras de cereais com sementes de mamão.

Considerando a avaliação do atributo aroma não foi observada diferença estatística significativa para as formulações A (5%), B (10%) e C (15%) (figura 2).

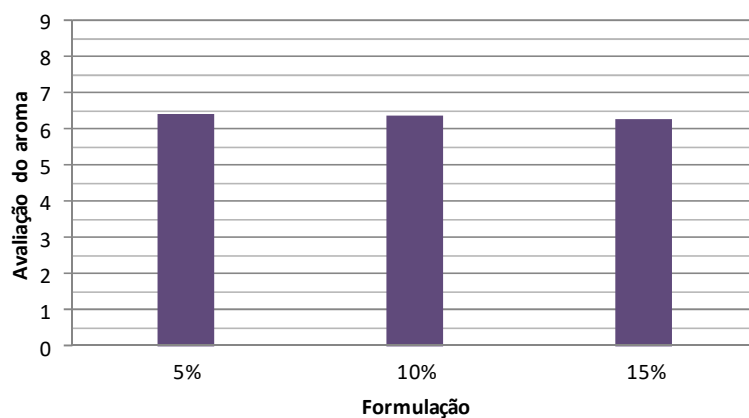


Figura 2- Resultados da avaliação do atributo aroma para as barras de cereais com sementes de mamão

Em relação ao sabor das barras de cereais não houve diferença significativa entre as formulações (figura 3), mas pelas considerações feitas pelos provadores, observou-se que a maior concentração de sementes de mamão no produto (15%) foi responsável pelas menores notas influenciadas pelo sabor residual das sementes.

Bueno (2005) observou em seu estudo que as sementes de nêspera (*Eriobotrya japonica* L.) tostadas influenciaram significativamente apenas o atributo sabor quando adicionadas em barras de cereais nas concentrações de 4% e 8%. Balestro et al (2011) elaboraram barras de cereais com farinha de bagaço de uva e maçã, observando que o aumento nas concentrações do bagaço de uva nas formulações, ainda que tenha potencial antioxidante, influenciou negativamente nas notas atribuídas ao sabor das barras, em função do residual amargo deste ingrediente.

O sabor das barras de cereais também foi influenciado por concentrações elevadas de albedo de maracujá amarelo (*Passiflora edulis*) em trabalho realizado por Gomes et al (2010). Neste estudo, os pesquisadores identificaram diferença estatística significativa para o atributo sabor nas barras que receberam 12% de farinha de albedo de maracujá. Por outro lado, Matsuura (2005), utilizando o albedo de maracujá também na elaboração de barras de cereais demonstrou que na concentração de 7,8% não há interferência significativa no sabor do produto.

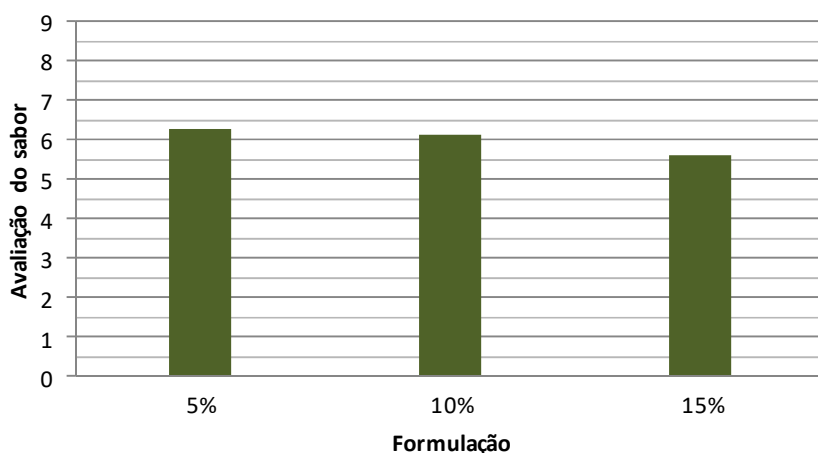


Figura 3- Resultados da avaliação do atributo sabor para as barras de cereais com sementes de mamão.

As notas dadas à textura das barras de cereais não diferiram significativamente entre as três formulações (figura 4). Balestro et al (2011) em seu estudo observou que as barras de cereais com maior concentração de bagaço de uva escura apresentaram menores notas na aceitação global, influenciadas pela alteração na textura quando comparadas às barras com teores menores deste ingrediente. Medeiros et al (2011) elaboraram barras de cereais com cenoura

desidratada e acrescida na forma de cubos, triturada e moída em diferentes formulações. Os autores observaram que as menores notas para o atributo textura foram dadas a formulação cuja cenoura estava na forma de cubos desidratados, interferindo significativamente na mastigabilidade do produto. Por outro lado, o aumento da quantidade de sementes de mamão neste estudo não interferiu de forma significativa na textura das barras.

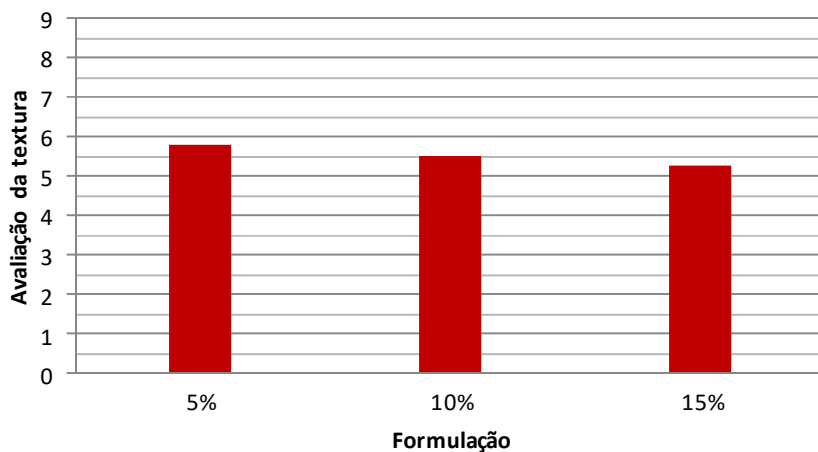


Figura 4- Resultados da avaliação do atributo textura para as barras de cereais com sementes de mamão.

Quanto à impressão global, os provadores deram notas maiores, porém não significativas à formulação A (6,08) quando comparada às outras (figura 5), corroborando com Silva et al (2009) que observaram que as notas atribuídas a impressão global por provadores que avaliaram barras de cereais acrescidas de resíduos industriais de maracujá amarelo (*Passiflora edulis*) diminuíram com o aumento dos resíduos na formulação da barra.

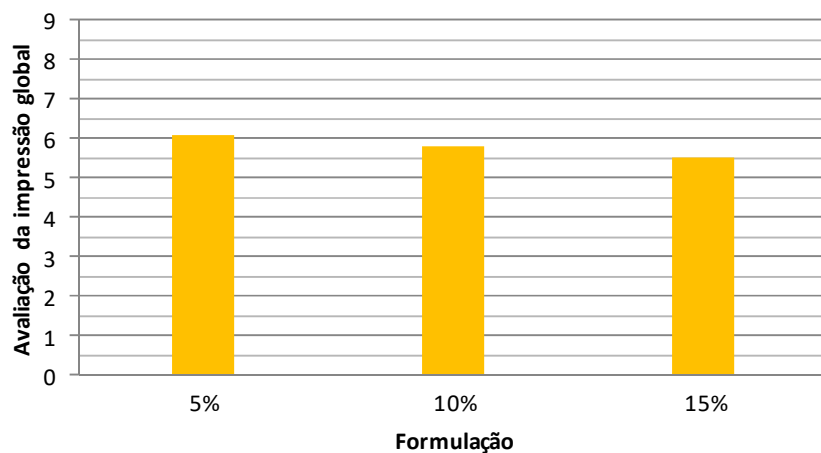


Figura 5- Resultados da avaliação do atributo impressão global para as barras de cereais com sementes de mamão.

MATSUURA (2005) obteve nota 7 na aceitação global das barras elaboradas com albedo de maracujá (*Passiflora edulis*), e COELHO (2006) que desenvolveu barras com amaranto (*Amaranthus cruentus* L) observou notas que variaram de 6,7 a 7,1 na impressão global.

Quanto à intenção de compra, os resultados mostraram que 42% dos provadores certamente comprariam a barra de cereais com 5% de sementes de mamão e 25% afirmaram que possivelmente comprariam este produto. Ao contrário, 39% dos provadores disseram que certamente não comprariam a barra com 15% de sementes de mamão, o que comprova as menores notas atribuídas a esta formulação.

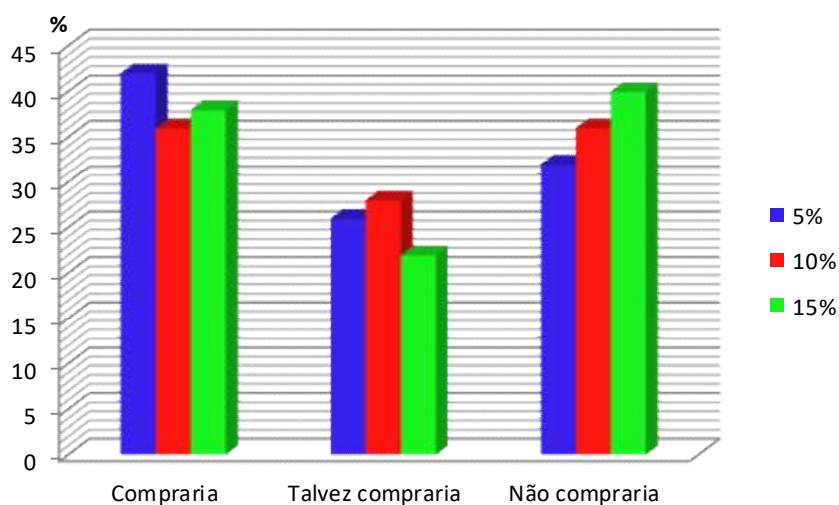


Figura 6- Resultados da intenção de compra dos provadores para as barras de cereais com sementes de mamão.

COSTA et al (2005) observaram que na formulação de barras de cereais com resíduo da fabricação de mandioca, considerando a intenção de compra, os resultados apontaram possibilidades de comercialização do produto, visto que 39% dos que “certamente comprariam” somados aos que “possivelmente comprariam”, perfizeram aproximadamente 78% do total dos julgamentos.

4 - CONCLUSÃO

A utilização de crescentes proporções de sementes de mamão na elaboração das barras de cereais não provocou diferenças significativas nas características sensoriais dos produtos, embora numericamente a formulação A, com 5% de sementes, obteve valores mais altos na avaliação sensorial.

As barras apresentaram altos teores de fibras totais, sugerindo que seu consumo possa contribuir para a melhora da qualidade de vida da população, associada a um estilo de vida saudável, tendo em vista seus efeitos benéficos no organismo. A utilização das sementes de mamão na elaboração de barras de cereais favorece ainda à menor eliminação de resíduos industriais e domésticos no ambiente.

5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AYRES M. et al.; BioEstat 5.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia; Belém: Imprensa Oficial do Estado do Pará, p.324p, 2007.

BALESTRO, E. A.; SANDRI, I. G.; FONTANA, R. C. Utilização de bagaço de uva com atividade antioxidante na formulação de barra de cereais. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.13, n.2, p.195-201, 2011.

BUENO, R. O. G. Características de qualidade de biscoito e barra de cereais ricos em fibra alimentar a partir de farinha de semente e polpa de nêspera. 118 f.

Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

COELHO, K. D. Desenvolvimento e avaliação da aceitação de cereais matinais e barra de cereais à base de amaranto (*Amaranthus cruentus* L.). 99 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, São Paulo, 2006.

COHEN, K. O.; SOUZA, M. V.; JACKIX, M. N. H. Parâmetros físicos e aceitabilidade sensorial de chocolate ao leite e de produtos análogos elaborados com liquor e gordura de cupuaçu. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 8, n. 1, p. 17-23, jan/mar., 2005.

COSTA, L.A. et al. Desenvolvimento de alimento em barra à base de resíduo da fabricação de farinha de mandioca. *Alim. Nutr.*, Araraquara v.16, n.4, p. 389-396, out./dez. 2005.

DAMIAO, R. et al. Impacto de um programa de intervenção sobre o estilo de vida nos perfis metabólico, antropométrico e dietético em nipo-brasileiros com e sem síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab.* São Paulo, v. 55, n. 2, p. 134-145, Mar. 2011.

DESSIMONI-PINTO, N.A.V. et al. Características físico-químicas da amêndoa de macaúba e seu aproveitamento na elaboração de barras de cereais. *Revista Alim. Nutr.* Araraquara. v.21, n.1, p. 79-86, jan./mar., 2010.

DEVALARAJA, S.; JAIN, S.; YADAV, H. Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. *Food Res. Int.*, v.44, n. 7, p.1856-1865, aug.1, 2011.

ESTÉVEZ, A.M.; ESCOBAR, B.; UGARTE, V. Utilización de cotilédones de algarrobo (*Prosopis chilensis* – Mol Stuntz) en la elaboración de barra de cereales. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Caracas, v. 50, n. 2, p. 148-151, jun. 2009.

FREITAS D. G. C.; MORETTI R. H. Caracterização e avaliação sensorial de barra de cereais funcional de alto teor protéico e vitamínico. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v.26, n. 2, p. 318-324, abr.-jun. 2006.

GARCIA, M. C. Influência do tempo de torra por micro-ondas nas características sensoriais, físicas e químicas de farelos de cultivares de arroz e sua aplicação em barras de cereais. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Goiás – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, 2010.

GOMES, F. O.; SOUSA, M. M.; SOUSA, L. M. C.; CARDOSO, J. R.; ROBSON, A. S. Desenvolvimento de barras de cereais à base de farinha de albedo de maracujá amarelo (*Passiflora edulis*). Acta Tecnológica, v. 5, n.2, 2010.

GUIMARAES, M.M.; SILVA, M. S. Qualidade nutricional e aceitabilidade de barras de cereais adicionadas de frutos de Murici-passa. Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.), São Paulo, v. 68, n. 3, 2009.

HJERN, F.; WOLK, A. HAKANSSON, N. Obesity, Physical Inactivity, and Colonic Diverticular Disease Requiring Hospitalization in Women: A prospective Cohort Study. Am J Gastroenterol, 2011 Oct 18. [Epub ahead of print]

JAIME, P. C. et. al. Fatores associados ao consumo de frutas e hortaliças no Brasil, 2006. Rev. Saúde Pública, vol. 43(Supl 2), p.57-64, 2009.

JORGE, N.; MALACRIDA, C.; Extrato de sementes de mamão como fonte de antioxidantes naturais. Araraquara, v.19, n.3, p.337-340, jul/set. 2008.

LIMA, T.; Rinald, M; Ascheri, D. Característica físico-químicas, composição centesimal de cascas e sementes de mamão, Anápolis, UnUCET/Anápolis - UEG. 2006.

MATSUURA, F; Estudo do Albedo de Maracujá e de seu aproveitamento em barra de cereais (tese de doutorado). Universidade Estadual de Campinas, 2005.

MEDEIROS, G.R. et al. Avaliação de carotenóides em cenoura e análise sensorial de barras de cereais elaboradas com cenoura desidratada. Revista Brasileira de tecnologia Agroindustrial. v.05, n. 01, p. 306-313, 2011.

MELLO, V. D.; LAAKSONEN, D. E. Fibras na dieta: Tendências atuais e benefícios à saúde na síndrome metabólica e no *diabetes melito* tipo 2. Arq. Bras. Endocrinol Metab., São Paulo, v. 53, n. 5, July 2009.

NUNES, P. M. P. SMOLAREK, F. S. F.; KAMINSKI, G. A. T.; FIN, M. T.; ZANIN, S. M. W.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. A importância do aproveitamento dos resíduos industriais da semente de citrus. Visão Acadêmica, v. 10, n.1, 2009

PEREIRA et al.; Avaliação química de folha de cenoura visando ao seu aproveitamento na alimentação humana. Ciência e Agrotecnologia, V. 27, n. 4, p.852 – 57, 2003.

SALES, A. L. C. C. et al., Dieta enriquecida em fibras e ácidos graxos poli-insaturados: Efeitos no controle glicêmico e perfil lipídico de ratos diabéticos. Ars Veterinária, v.26, n.3, p. 138 – 146, 2010.

SAMPAIO, C. Desenvolvimento e estudo de características sensoriais e nutricionais de barra de cereais fortificadas com ferro. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal do Paraná/Tecnologia de Alimentos, 2009.

SILVA, G.G.; DINIZ, R.G.; SILVA, M.E. Avaliação química do mamão papaia (*Carica papaya* L.) em diferentes estádios de maturação. Revista Capixaba de Ciência e Tecnologia, Vitória, n. 3, p.1-7, vol. 2. 2007.

SILVA, I.Q. et al. Obtenção de barra de cereais adicionada do resíduo industrial de maracujá. Alim. Nutr., Araraquara v.20, n.2, p. 321-329, abr./jun. 2009.

SOUZA, E.; CARDOSO, M.; UCHÔA, A.; SOUZA, E. Avaliação da aceitabilidade de alimentos formulados com resíduos de frutos. Teresina, p.2-4, 2008.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM POLPA DE *Vitis* sp.

Angela Vacaro de Souza ¹, Gabriel Perin Gomes¹, Marcos Ribeiro da Silva Vieira ²,
Rogério Lopes Vieites², Giuseppina Pace Pereira Lima²

RESUMO

As uvas são consideradas uma das maiores fontes de compostos fenólicos quando comparadas a outras frutas e vegetais, porém a grande diversidade entre as cultivares resulta em uvas com diferentes características, tanto de sabor quanto de coloração, o que certamente está associado com o conteúdo e o perfil dos polifenóis. Foram utilizadas amostras de uva no ponto de consumo 'Itália', 'Brasil', 'Rubi', 'Thompson' e 'Niagara Rosada' da região de Campinas e Jundiaí – SP com o objetivo de avaliar a atividade oxidante, atividade enzimática da peroxidase e da polifenoloxidase, compostos fenólicos e ácido ascórbico de diferentes variedades de *Vitis* na polpa. Os resultados mostram que a variedade Thompson foi superior às demais, principalmente quando avaliamos o índice de atividade oxidante que é um parâmetro que nos indica a capacidade do produto em agir contra a presença de radicais livres. Portanto, pode-se concluir que para a maioria dos parâmetros avaliados, a 'Thompson' foi a que apresentou maiores valores de índice de atividade antioxidante na polpa, maiores teores de ácido ascórbico e compostos fenólicos seguido pela Niagara.

Palavras-chave: uvas, antioxidantes, nutrição.

¹ Faculdade Eduvale de Avaré - Avenida Misael Eufrásio Leal, 347 – Jd. América – CEP: 18705-050, Avaré, SP, Brasil.

² Universidade Estadual Paulista – Departamento de Produção Vegetal – Horticultura - Rua José Barbosa de Barros, nº 1780 – Jardim Paraíso - CEP 18610-307 Botucatu - SP

ANTIOXIDANT ACTIVITY IN PULP OF *Vitis* sp.

ABSTRACT

The grapes are considered a major source of phenolic compounds when compared to other fruits and vegetables, but the great diversity among the cultivars result in grapes with different characteristics of taste and color, what certainly is associated with the content and profile of polyphenols. Were used samples of grapes in point of consumption 'Itália', 'Brasil', 'Rubi', 'Thompson' and 'Niagara Rosada' of the region of Campinas and Jundiaí – SP state - Brazil, with objective to evaluate the oxidant and enzymatic activity of peroxidase and polyphenoloxidase, phenolic compounds and ascorbic acid from different varieties of *Vitis* in the pulp. The results show that the Thompson variety was superior to others, especially when evaluating oxidant activity index is a parameter that shows us the product's ability to act against the presence of free radicals. So, it can be concluded that for most of the parameters evaluated, 'Thompson' showed the highest values of antioxidant activity index in the pulp, higher levels of ascorbic acid and phenolic compounds followed by Niagara.

Keywords: grapes, antioxidants, nutrition.

INTRODUÇÃO

Os vegetais, em particular, as frutas têm importante papel na manutenção do equilíbrio fisiológico. Esses alimentos suprem os níveis ideais de antioxidantes, como a vitamina C e os compostos fenólicos para o organismo humano. As uvas são ricas em compostos fenólicos, como os flavonóides (catequina, epicatequina, quercitina, antocianinas e procianidinas) e resveratrol (trans-3,5,4'-trihidroxiestilbeno), principalmente nos produtos de uvas tintas (WANG et al., 2002; FULEKI e SILVA, 2003). Esses compostos têm sido descritos como auxiliares na eliminação de radicais livres.

As moléculas orgânicas e inorgânicas e os átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente, podem ser classificados como radicais livres (HALLIWELL, 1994). Essa configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas. A presença dos radicais é crítica para a manutenção de muitas funções fisiológicas normais (POMPELLA, 1997). A formação desses radicais ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição à fatores exógenos. Contudo, na condição de pró-oxidante a concentração desses radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (CERUTTI, 1994).

Assim, a diminuição do estresse oxidativo pode ocorrer através de dietas ricas em antioxidantes. É nesta ação que os compostos fenólicos naturais da uva são responsáveis pela ação antioxidante de proteção das doenças cardiovasculares e do câncer por intermédio de diversos mecanismos (WENZEL e SOMOZA, 2005). Entre esses mecanismos podem ser citados a captura direta dos radicais livres, a redução da atividade enzimática oxidativa e a redução da concentração de lipídeos peroxidásicos no plasma sanguíneo (OAK et al., 2005). Os compostos fenólicos são responsáveis pela cor, adstringência e estrutura, sendo as antocianinas, os taninos e os ácidos fenólicos, os mais importantes (MIELE et al., 1990).

Assim como os compostos fenólicos, a vitamina C também está presente nas uvas. Ela promove proteção contra espécies reativas produzidas durante os

processos de fotossíntese e de respiração e está envolvida no crescimento celular e atua como co-fator de importantes enzimas, na síntese de antocianidina e outros metabólitos secundários (SOARES et al., 2004).

Em algumas situações pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta a geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes. Os organismos possuem enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase, a catalase e a glutathione peroxidase que reagem com os compostos oxidantes e protegem as células e os tecidos do estresse oxidativo (TRABER, 1997). Além de atuarem na diminuição da atividade antioxidante, as enzimas promovem o escurecimento enzimático das bagas, que têm sido um sério problema de conservação dos frutos. No suco, este fenômeno é de origem essencialmente enzimática (VALERO et al., 1989) sendo afetado pelos níveis de fenóis endógenos e das enzimas que o oxidam (ZAPATA et al., 1995). Na presença de oxigênio atmosférico, a polifenoloxidase (PPO) catalisa a oxidação de certos compostos fenólicos naturais, formando pigmentos marrons, as melanoproteínas (VALERO et al., 1989).

Em uvas, o escurecimento oxidativo pode ocorrer também quando a PPO e fenóis entram em contato quando as bagas sofreram danos (AWAD, 1993). Há ainda, a oxidação de fenóis resultante da atividade de peroxidases (POD) ou mesmo sem participação de enzimas e este conhecimento é fundamental para a viabilização de técnicas que reduzam as perdas decorrentes do escurecimento das bagas de uvas armazenadas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade antioxidante, a quantidade de compostos fenólicos e vitamina C e a atividade enzimática de diferentes variedades de uvas na polpa.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas polpa de frutos maduros das variedades 'Itália', 'Brasil', 'Rubi', 'Thompson Seedless' e 'Niagara Rosada' da região de Campinas-São Paulo (Latitude: S 22° 53' 20", Longitude: W 47° 04' 40" e altitude de 680m).

A análise de compostos fenólicos totais foi realizada na matéria fresca, de acordo com o método espectrofotométrico Folin–Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965) e os resultados foram expressos em mg de ácido gálico g⁻¹.

A atividade enzimática foi determinada a partir de 0,5 g de tecido vegetal fresco (polpa) triturado, em gral de porcelana com N₂ contendo 5 ml de tampão-fosfato de sódio 0,1 M, pH 6,0, sendo o homogenado resultante, centrifugado 10 minutos a 10.000 rpm a 4°C. O sobrenadante obtido foi utilizado como fonte de enzimas. A atividade da POD foi determinada seguindo o método descrito por Lima (1999). A leitura foi realizada em espectrofotômetro Ultrospec 2000/Pharmacía Biotech utilizando o comprimento de onda de 505nm. Uma unidade de atividade de peroxidase foi definida como o correspondente à variação de uma unidade de absorbância por minuto/mL de amostra.

A atividade da PPO foi determinada de acordo com o método descrito por Cano et al., 1997. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 395nm. Uma unidade de atividade de PPO foi definida como o correspondente à variação de uma unidade de absorbância por minuto/mL de amostra.

Para a determinação do conteúdo de ácido ascórbico (mg 100 g⁻¹ de polpa) foi utilizado o método proposto por Terada et al. 1979. A leitura foi feita em espectrofotômetro Ultrospec 2000/Pharmacía Biotech a 540nm. Uma solução padrão de ácido ascórbico foi utilizada para a elaboração da curva padrão.

O método de inibição de radicais DPPH baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante. O valor estimado para 50% da inibição, CE₅₀ (mg/mL), foi calculado por regressão linear segundo. Este método se baseia na redução deste radical livre, relativamente estável, DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazila) em solução alcoólica, que na presença de antioxidantes doadores de hidrogênio, captura estes elétrons mudando a coloração de violeta para amarelo, passando para sua forma estável, DPPH-H (MENSOR, 2001). Para facilitar a visualização dos dados, um Índice de Atividade Antioxidante (IAA), proposto pelos pesquisadores Scherer e Godoy (2009), foi utilizado neste trabalho. Este índice é a razão entre a concentração final de DPPH de 118,296 µg.mL⁻¹ 0,3 mM e o índice de 50% de inibição (CE₅₀) calculado pela regressão linear de cada uma das leituras. Os autores demonstraram que extratos de plantas com IAA menor que 0,5 foram pobres

em atividade antioxidante, as do intervalo de 0,5 a 1,0 foram classificadas como moderadas, as de índice 1,0 a 2,0 apresentaram forte atividade antioxidante e as de razão > que 2,0 foram classificadas como plantas de atividade antioxidante muito forte.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (D.I.C.), composto por cinco variedades de uva em dois locais. Cada tratamento foi composto de três repetições, cada uma com 10 frutos. As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (FERREIRA, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos fenólicos são os maiores responsáveis pela atividade antioxidante em frutos (HEIM et al., 2002) e as uvas são consideradas uma das maiores fontes destes compostos quando comparadas a outras frutas e vegetais, porém a grande diversidade entre as cultivares resulta em uvas com diferentes características, tanto de sabor quanto de coloração, o que certamente está associado com o conteúdo e o perfil dos polifenólicos (MAXCHEIX et al., 1990).

As polpas de uvas tintas apresentavam valores superiores de compostos fenólicos quando comparado com as uvas brancas, exceto a 'Thompson Seedless', já que os pigmentos naturais, como as antocianinas, presentes em uvas tintas, são compostos fenólicos e a sua correlação com a atividade antioxidante em alimentos é objeto de interesse tanto para a indústria como para os consumidores. Os compostos fenólicos apresentaram variação de 20,3 a 30,3mg de ácido gálico g⁻¹ em polpa de 'Itália' e 'Rubi' (Tabela 1) respectivamente.

A polifenol oxidase (EC 1.10.3.1) e a peroxidase (EC 1.11.1.7) fazem parte de um grande número de enzimas conhecidas como oxiredutases, podendo promover uma variedade de reações. A investigação desse grupo de enzimas tem sido de grande importância para a tecnologia de alimentos, uma vez que a continuidade da atividade enzimática pode ocasionar mudança na cor, variações de aroma, alterações no teor de vitaminas e até modificações na textura (LAURENTE e CLEMENTE, 2005). A polifenol oxidase apresentou variação de 3,25 a 7,98µmol catecol oxidado mg

proteína min^{-1} para as variedades 'Niagara' e 'Brasil' porém esta diferença não foi estatística (Tabela 1). As maiores atividades de PPO foram encontradas para as variedades 'Brasil' e 'Thompson Seedless' que apresentaram altos valores de compostos fenólicos e vitamina C. A peroxidase apresentou variação de 0,7071 nas variedades 'Thompson Seedless' e 'Niagara', e $0,7245\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ decomposto mg proteína min^{-1} na variedade 'Rubi' (Tabela 1), porém estas diferenças não foram significativas.

Para os valores de ácido ascórbico, em todas as variedades analisadas os resultados encontrados nas variedades 'Niagara' e 'Thompson Seedless' foi de 4,02 a $8,54\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ respectivamente (tabela 1).

Antioxidantes são substâncias capazes de inibir a oxidação, diminuindo a concentração dos radicais livres no organismo e/ou quelando íons metálicos, prevenindo a peroxidação lipídica. As variedades 'Itália', 'Brasil' e 'Rubi' apresentaram atividade antioxidante variando de 1,76 a 1,38 e as variedades 'Thompson Seedless' e 'Niagara' apresentam atividade antioxidante muito alta, de 2,91 a 2,54 (Tabela 1). A variedade 'Thompson Seedless' apesar de ser branca e não conter pigmentos que fazem parte dos compostos fenólicos apresentou muito forte atividade antioxidante em polpa quando comparada às outras variedades devido à grande quantidade de compostos fenólicos e ácido ascórbico que é considerada assim como os compostos fenólicos, excelentes antioxidantes, sendo capazes de seqüestrar os radicais livres com grande eficiência.

Tabela 1: Valores médios de compostos fenólicos, polifenol oxidase, peroxidase, índice de atividade antioxidante e ácido ascórbico em polpa de uvas das variedades 'Itália', 'Brasil', 'Rubi', 'Thompson Seedless' e 'Niagara'.

Table 1: Mean values of phenolic compounds, polyphenol oxidase, peroxidase, index of antioxidant activity and ascorbic acid in grape pulp varieties: 'Itália', 'Brasil', 'Rubi', 'Thompson Seedless' and 'Niagara'.

Variedades	Compostos fenólicos (mg de ácido gálico.g ⁻¹)	Polifenol oxidase (μ mol catecol oxidado/mg proteína/min)	Peroxidase** (μ mol H ₂ O ₂ decomposto/mg proteína/min)	Índice de Atividade antioxidante	Ácido ascórbico (mg.100g ⁻¹)
'Itália'	20,3 a	4,27 b	0,7113 a	1,76 a	5,06 b
'Brasil'	28,8 a	7,98 a	0,7117 a	1,47 a	5,55 b
'Rubi'	30,3 a	4,64 b	0,7245 a	1,38 a	5,14 b
'Thompson'	27,7 a	7,24 a	0,7071 a	2,91 a	8,54 a
'Niagara'	29,4 a	3,25 b	0,7071 a	2,54 a	4,02 c
CV (%)	14,02	14,15	1,07	23,59	3,94

* Mesma letra na coluna as médias não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

** Variedade transformada (Raiz quadrada de Y + 0.5 - SQRT (Y + 0.5))

* Same letter in the column averages don't differ by Tukey test (P> 0.05)

** Variety transformed (square root of Y + 0.5 - SQRT (Y + 0.5))

CONCLUSÃO

O estudo mostrou que no geral, as uvas apresentam alta atividade antioxidante principalmente devido à grande quantidade de compostos fenólicos. Dentre as variedades analisadas, a 'Thompson Seedless' foi a que apresentou maiores valores de Índice de Atividade Antioxidante em polpa, maiores teores de Ácido Ascórbico e Compostos Fenólicos.

BIBLIOGRAFIA

AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo, Nobel, 114p., 1993.

CANO, M. P., ANCOS, O., MATAALLANA, M., CÁMARA, M., REGLERO, G., TABERA, J. Differences among Spanish and Latin-American banana cultivars: morphological, chemical and sensory characteristics. **Food Chemistry** 59, p. 411-19, 1997.

CERUTTI, P. A. Oxy-radicals and cancer. **Lancet**. London. 344 (8926), p. 862-863, 1994.

FERREIRA, D.F. **Sistemas de análise estatística para dados balanceados**. Lavras: Ufla: DEX: Sisvar, 1998. 141p.

FULEKI, T.; SILVA, J. M. R. Effects of cultivar and processing method on the contents of catechins and procyanidins in grape juice. **J. Agric. Food Chem.** 51, 640-646, 2003.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, 52(8), 253-265, 1994.

HEIM, K. E.; Tagliaferro, A. R.; Bobilya, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry** 13, 572-584, 2002.

LAURENTE, C.; CLEMENTE, E. Avaliação da atividade da peroxidase em carambola

(*Oxalidacia averrhoa*) em diferentes estádios de maturação. **Acta Scientiarum**, 27(1), 159-163, 2005.

LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G.; OLIVEIRA, A. M. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agrícola**, 56(1),21-25, 1999.

MAXCHEIX, J. J.; FLEURIET, A.; BILLOT, J. The main phenolics of fruits. In **Fruit Phenolics**; CRC Press: Boca Raton, FL, 91-98, 1990.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research** 15 (2), 127-130, 2001.

MIELE, A ; RIZZON, L. A. ; ZANOTTO, D. L. Free amino acids in Brazilian grape juices. **Rivista Di Viticoltura e Di Enologia**, v. 28, n. 4, p. 15-21, 1990.

OAK, M. H.; EI BEDOUI, J.; SCHINI-KERTH, V. B. Antiangiogenic properties of natural polyphenols from red wine and green tea. **Journal of Nutritional Biochemistry** 16, 1-18, 2005.

POMPELLA, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. **International Journal of Vitamin and Nutrition Research**, Bern, 67(5), 289-297, 1997.

SCHERER, R.; GODOY H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry** 112, 654–658, 2009.
SINGLETON, V. L.; ROSSI JÚNIOR, J. A. Colorimetry of total phenolics with

phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enology and Viticulture** 16, 144-158, 1965.

SOARES, A. D.; GOMEZ, M. L. P. A.; MESQUITA, C.; LAJOLO, F. M. Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants. **Braz. J. Plant Physiol.** 16, 147-154, 2004.

TERADA, M.; WATANABE, Y.; KUNITOMA, M.; HAYASHI, E. Differential rapid analysis ascorbic acid and ascorbic acid 2-sulfate by dinitrophenylhydrazine method. **Annals of Biochemistry** 4(2), 604-608, 1979.

TRABER, M.G. Cellular and molecular mechanisms of oxidants and antioxidants. **Mineral and Electrolyte Metabolism**, Basel 23, (3/6),135-139, 1997.

VALERO, E.; SÁNCHEZ-FERREIRA, A.; VARÓN, R.; GARCÍA-CARMONA, F. Evolution of grape polyphenol oxidase activity and phenolic content during maturation and vinification. *Vitis*, **Landau**, 28(2), 85-95, 1989.

WANG, Y.; CATANA, F.; YANG, Y.; RODERICK, R.; VAN BREEMEN, R. B.. An LC-MS method for analysing total resveratrol in grape juice, cranberry juice and in wine. **J. Agric. Food Chem.** 50, 431-435, 2002.

WENZEL, E.; SOMOZA, V. Metabolism e bioavailability of *trans*-resveratrol. **Molecular Nutrition & Food Research** 49, 472-481, 2005.

ZAPATA, J. M.; CALDERÓN, A. A.; ROS BARCELÓ, A. Actual browning and peroxidase level are not correlated in red wine berries from grapevine (*Vitis vinifera*) cultivars. **Fruit Varieties Journal**, Fayetteville 49(2), 82-84, 1995.

AVALIAÇÃO DE ANTIOXIDANTES EM CASCA DE *Vitis* sp.

Angela Vacaro de Souza ¹, Gabriel Perin Gomes¹, Marcos Ribeiro da Silva Vieira ²,
Rogério Lopes Vieites², Giuseppina Pace Pereira Lima²

RESUMO

As uvas são consideradas uma das maiores fontes de compostos fenólicos quando comparadas a outras frutas e vegetais, porém a grande diversidade entre as cultivares resulta em uvas com diferentes características, tanto de sabor quanto de coloração, o que certamente está associado com o conteúdo e o perfil dos polifenólicos.

Amostras de uva no ponto de consumo 'Itália', 'Brasil', 'Rubi', 'Thompson' e 'Niagara Rosada' da região de Campinas e Jundiaí – SP foram utilizadas com o objetivo de avaliar a atividade oxidante, atividade enzimática da peroxidase e da polifenoloxidase, compostos fenólicos e ácido ascórbico de diferentes variedades de *Vitis* na casca.

A partir dos resultados encontrados, pode-se concluir que para a maioria dos parâmetros avaliados a 'Thompson' foi a que apresentou maiores valores de índice de atividade antioxidante em casca, maiores teores de ácido ascórbico e compostos fenólicos.

Palavras-chave: variedades de uva, índice de atividade antioxidante, frutas.

¹ Faculdade Eduvale de Avaré - Avenida Misael Eufrásio Leal, 347 – Jd. América – CEP: 18705-050, Avaré, SP, Brasil.

² Universidade Estadual Paulista – Departamento de Produção Vegetal – Horticultura - Rua José Barbosa de Barros, nº 1780 – Jardim Paraíso - CEP 18610-307 Botucatu - SP

EVALUATION OF ANTIOXIDANTS IN PEEL OF *Vitis* sp.

ABSTRACT

The grapes are considered a major source of phenolic compounds when compared to other fruits and vegetables, but the great diversity among the cultivars result in grapes with different characteristics of taste and color, what certainly is associated with the content and profile of antioxidants, such as polyphenolic.

Samples of grapes in point of consumption 'Itália', 'Brasil', 'Rubi', 'Thompson' and 'Niagara Rosada' of the region of Campinas and Jundiaí – SP state - Brazil, were used to evaluate the oxidant and enzymatic activity of peroxidase and polyphenoloxidase, phenolic compounds and ascorbic acid from different varieties of *Vitis* in the peel.

From the results, can be conclude that for most of the parameters measured the 'Thompson' showed the highest values of antioxidant activity index in pell, higher levels of ascorbicacid and phenolic compounds.

Key-words: grape varieties, antioxidant activity index, fruits.

INTRODUÇÃO

O homem necessita de uma alimentação sadia, rica em nutrientes e isto pode ser alcançado com partes de alimentos que normalmente são desprezadas. Sendo assim, é importante a utilização de cascas, talos e folhas, pois o aproveitamento integral dos alimentos, além de diminuir os gastos com alimentação e melhorar a qualidade nutricional do cardápio, reduz o desperdício e torna possível a criação de novas receitas, como, por exemplo, sucos, doces, geléias e farinhas (GODIM *et al.*, 2005).

Os vegetais, em particular, as frutas têm importante papel na manutenção do equilíbrio fisiológico. Esses alimentos suprem os níveis ideais de antioxidantes, como a vitamina C e os compostos fenólicos para o organismo humano. As uvas são ricas em compostos fenólicos, como os flavonóides (catequina, epicatequina, quercitina, antocianinas e procianidinas) e resveratrol (trans-3,5,4'-trihidroxiestilbeno), principalmente nos produtos de uvas tintas (WANG *et al.*, 2002; FULEKI & SILVA, 2003).

A diminuição do estresse oxidativo pode ocorrer através de dietas ricas em antioxidantes. É nesta ação que os compostos fenólicos naturais da uva são responsáveis pela ação antioxidante de proteção das doenças cardiovasculares e do câncer por intermédio de diversos mecanismos (WENZEL & SOMOZA, 2005). Entre esses mecanismos podem ser citados a captura direta dos radicais livres, a redução da atividade enzimática oxidativa e a redução da concentração de lipídeos peroxidásicos no plasma sanguíneo (OAK *et al.*, 2005). Os compostos fenólicos são responsáveis pela cor, adstringência e estrutura, sendo as antocianinas, os taninos e os ácidos fenólicos, os mais importantes (MIELE *et al.*, 1990).

Assim como os compostos fenólicos, a vitamina C também está presente nas uvas. Ela promove proteção contra espécies reativas produzidas durante os processos de fotossíntese e de respiração e está envolvida no crescimento celular e atua como co-fator de importantes enzimas, na síntese de antocianidina e outros metabólitos secundários (SOARES *et al.*, 2004).

Em algumas situações pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta a geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes. Os organismos possuem enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase, a catalase e a glutathione peroxidase que reagem com os compostos oxidantes e protegem as células e os tecidos do estresse oxidativo (TRABER, 1997). Além de atuarem na

diminuição da atividade antioxidante, as enzimas promovem o escurecimento enzimático das bagas, que têm sido um sério problema de conservação dos frutos. No suco, este fenômeno é de origem essencialmente enzimática (VALERO *et al.*, 1989) sendo afetado pelos níveis de fenóis endógenos e das enzimas que o oxidam (ZAPATA *et al.*, 1995). Na presença de oxigênio atmosférico, a polifenoloxidase (PPO) catalisa a oxidação de certos compostos fenólicos naturais, formando pigmentos marrons, as melanoproteínas (VALERO *et al.*, 1989).

Em uvas, o escurecimento oxidativo pode ocorrer também quando a PPO e fenóis entram em contato quando as bagas sofreram danos (AWAD, 1993). Há ainda, a oxidação de fenóis resultante da atividade de peroxidases (POD) ou mesmo sem participação de enzimas e este conhecimento é fundamental para a viabilização de técnicas que reduzam as perdas decorrentes do escurecimento das bagas de uvas armazenadas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade antioxidante, a quantidade de compostos fenólicos e vitamina C e a atividade enzimática de diferentes variedades de uvas (casca).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas casca de frutos maduros das variedades 'Itália', 'Brasil', 'Rubi', 'Thompson Seedless' e 'Niagara Rosada' da região de Campinas-São Paulo (Latitude: S 22° 53' 20", Longitude: W 47° 04' 40" e altitude de 680m).

A análise de compostos fenólicos totais foi realizada na matéria fresca, de acordo com o método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu (SINGLETON & ROSSI, 1965) e os resultados foram expressos em mg de ácido gálico g⁻¹.

A atividade enzimática foi determinada a partir de 0,5 g de tecido vegetal fresco (casca e polpa) triturado, em gral de porcelana com N₂ contendo 5 ml de tampão-fosfato de sódio 0,1 M, pH 6,0, sendo o homogenado resultante, centrifugado 10 minutos a 10.000 rpm a 4°C. O sobrenadante obtido foi utilizado como fonte de enzimas. A atividade da POD foi determinada seguindo o método descrito por Lima (1999). A leitura foi realizada em espectrofotômetro Ultrospec 2000/Pharmacía Biotech utilizando o comprimento de onda de 505nm. Uma unidade de atividade de peroxidase foi definida como o correspondente à variação de uma unidade de absorvância por minuto/mL de amostra.

A atividade da PPO foi determinada de acordo com o método descrito por Cano *et al.*, 1997. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 395nm. Uma unidade de atividade de PPO foi definida como o correspondente à variação de uma unidade de absorbância por minuto/mL de amostra.

Para a determinação do conteúdo de ácido ascórbico (mg 100 g⁻¹ de polpa) foi utilizado o método proposto por Terada *et al.* 1979. A leitura foi feita em espectrofotômetro Ultrospec 2000/Pharmacia Biotech a 540nm. Uma solução padrão de ácido ascórbico foi utilizada para a elaboração da curva padrão.

O método de inibição de radicais DPPH baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante. O valor estimado para 50% da inibição, CE₅₀ (mg/mL), foi calculado por regressão linear segundo. Este método se baseia na redução deste radical livre, relativamente estável, DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazila) em solução alcoólica, que na presença de antioxidantes doadores de hidrogênio, captura estes elétrons mudando a coloração de violeta para amarelo, passando para sua forma estável, DPPH-H. Para facilitar a visualização dos dados, um Índice de Atividade Antioxidante (IAA), proposto pelos pesquisadores Scherer & Godoy (2009), foi utilizado neste trabalho. Este índice é a razão entre a concentração final de DPPH de 118,296 µg.mL⁻¹ 0,3 mM e o índice de 50% de inibição (CE₅₀) calculado pela regressão linear de cada uma das leituras. Os autores demonstraram que extratos de plantas com IAA menor que 0.5 foram pobres em atividade antioxidante, as do intervalo de 0.5 a 1.0 foram classificadas como moderadas, as de índice 1.0 a 2.0 apresentaram forte atividade antioxidante e as de razão > que 2.0 foram classificadas como plantas de atividade antioxidante muito forte.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (D.I.C.), composto por cinco variedades de uva (casca). Cada tratamento foi composto de três repetições, cada uma com 10 frutos. As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos fenólicos são os maiores responsáveis pela atividade antioxidante em frutos (HEIM *et al.*, 2002) e as uvas são consideradas uma das maiores fontes destes compostos quando comparadas a outras frutas e vegetais, porém a grande diversidade entre as cultivares resulta em uvas com diferentes características, tanto de sabor quanto de coloração, o que certamente está associado com o conteúdo e o perfil dos polifenólicos (MAXCHEIX *et al.*, 1990).

As polpas de uvas tintas apresentavam valores superiores de compostos fenólicos quando comparado com as uvas brancas, exceto a 'Thompson Seedless', já que os pigmentos naturais, como as antocianinas, presentes em uvas tintas, são compostos fenólicos e a sua correlação com a atividade antioxidante em alimentos é objeto de interesse tanto para a indústria como para os consumidores. Dados estes concordantes com DANI *et al.*, 2007. Os compostos fenólicos apresentaram variação de 22,7 a 48,2mg ác. gálico g⁻¹ peso fresco nas cascas das variedades 'Itália' e 'Thompson Seedless' (Tabela 1). A variedade 'Thompson Seedless' apesar de ser branca, apresentou valores semelhantes aos das uvas tintas. Dados estes superiores aos encontrados por Soares *et al.* (2008) que observou que o conteúdo de fenólicos totais obtidos nas cascas da variedade tinta 'Isabel' foi de 21,95mg 100g⁻¹ peso fresco. Já Kim *et al.*(2003) encontraram valores inferiores em outros frutos quando comparado às uvas de 17,4mg 100g⁻¹ peso fresco em diversas variedades de acerola e 11,8 ± 1,4 mg100g⁻¹ peso fresco em maçã 'Gala'.

A polifenol oxidase (EC 1.10.3.1) e a peroxidase (EC 1.11.1.7) fazem parte de um grande número de enzimas conhecidas como oxiredutases, podendo promover uma variedade de reações. A investigação desse grupo de enzimas tem sido de grande importância para a tecnologia de alimentos, uma vez que a continuidade da atividade enzimática pode ocasionar mudança na cor, variações de aroma, alterações no teor de vitaminas e até modificações na textura (LAURENTE & CLEMENTE, 2005). Nas cascas, a polifenol oxidase apresentou variação de 6,6 na variedade 'Rubi' e 14,2µmol catecol oxidado mg proteína min⁻¹ para 'Brasil' (Tabela 1). As maiores atividades de PPO foram encontradas para as variedades 'Brasil' e 'Thompson Seedless' que apresentaram altos valores de compostos fenólicos e vitamina C. A peroxidase apresentou valores que variaram de 0,7071 nas cascas das variedades 'Itália', 'Thompson Seedless' e 'Niagara' a 0,7087µmol H₂O₂ decomposto mg proteína min⁻¹ na variedade 'Brasil' (Tabela 1).

Os resultados encontrados nas cascas foram de 4,9 a 12,2mg 100g⁻¹ de ácido ascórbico nas variedades 'Niagara' e 'Thompson Seedless' (tabela 1). Antioxidantes são substâncias capazes de inibir a oxidação, diminuindo a concentração dos radicais livres no organismo e/ou quelando íons metálicos, prevenindo a peroxidação lipídica. As variedades 'Itália', 'Brasil' e 'Rubi' apresentaram forte atividade antioxidante variando de 1,36 a 1,62 e as variedades 'Thompson Seedless' e 'Niagara' apresentam atividade antioxidante muito alta, de 2,94 a 3,38 (Tabela 1). A variedade 'Thompson Seedless' apesar de ser branca e não conter pigmentos que fazem parte dos compostos fenólicos apresentou muito forte atividade antioxidante quando comparada às outras variedades devido à grande quantidade de compostos fenólicos e ácido ascórbico que é considerada assim como os compostos fenólicos, excelentes antioxidantes, sendo capazes de seqüestrar os radicais livres com grande eficiência.

Tabela 1: Valores médios de compostos fenólicos, polifenol oxidase, peroxidase, índice de atividade antioxidante e ácido ascórbico em casca de uvas das variedades 'Itália', 'Brasil', 'Rubi', 'Thompson Seedless' e 'Niagara'.

Table 1: Mean values of phenolic compounds, polyphenol oxidase, peroxidase, index of antioxidant activity and ascorbic acid in skin of grapes of the varieties 'Itália', 'Brasil', 'Rubi', 'Thompson Seedless' and 'Niagara'.

Variedades	Compostos fenólicos (mg de ác. Gálico.g ⁻¹)	Polifenol oxidase (µmol catecol oxidado/mg proteína/min)	Peroxidase** (µmol H ₂ O ₂ decomposto/mg proteína/min)	Índice de atividade antioxidante	Ácido ascórbico (mg.100g ⁻¹)
'Itália'	22,7 b	8,8 bc	0,7113	1,36 b	8,7 b
'Brasil'	41,8 a	14,02 a	0,7087	1,41 b	11,6 a
'Rubi'	45,0 a	6,6 c	0,7076	1,62 ab	6,2 c
'T. Seedless'	48,2 a	10,7 ab	0,7071	3,38 a	12,2 a
'Niagara'	26,2 b	8,4 bc	0,7071	2,94 ab	4,9 d
CV (%)	11,60	13,31	0,08	30,10	3,16

* Mesma letra na coluna as médias não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

** Variedade transformada (Raiz quadrada de Y + 0.5 - SQRT (Y + 0.5))

* Same letter in the column averages don't differ by Tukey test (P> 0.05)

** Variety transformed (square root of Y + 0.5 - SQRT (Y + 0.5))

CONCLUSÃO

O estudo mostrou que no geral, as uvas quando comparadas com outras frutas, apresentam alta atividade antioxidante principalmente devido à grande quantidade de compostos fenólicos presentes principalmente nas cascas. Dentre as variedades analisadas, a 'Thompson Seedless' foi a que apresentou maiores valores de Índice de Atividade Antioxidante, maiores teores de Ácido Ascórbico e Compostos Fenólicos.

BIBLIOGRAFIA

AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo, Nobel, 114p., 1993.

DANI, C.; OLIBONI, L. S.; VANDERLINDE, R.; BONATTO, D. SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. P. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically or conventionally produced grapes. **Food and Chemical Toxicology** 45, 2574-2580, 2007.

FULEKI, T.; SILVA, J. M. R. Effects of cultivar and processing method on the contents of catechins and procyanidins in grape juice. **J. Agric. Food Chem.** 51, 640-646, 2003.

GODIM, J. A. M.; MOURA, M. F. V.; DANTAS, A.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 25(4), 825-827., 2005.

HEIM, K. E.; Tagliaferro, A. R.; Bobilya, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry** 13, 572-584, 2002.

KIM, D.; JEONG, S. W.; LEE, C. Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry** 81, 231-326, 2003.

LAURENTE, C.; CLEMENTE, E. Avaliação da atividade da peroxidase em carambola (*Oxalidacia avertroha*) em diferentes estádios de maturação. **Acta Scientiarum**, 27(1), 159-163, 2005.

MAXCHEIX, J. J.; FLEURIET, A.; BILLOT, J. The main phenolics of fruits. In **Fruit Phenolics**; CRC Press: Boca Raton, FL, 91-98, 1990.

MIELE, A ; RIZZON, L. A. ; ZANOTTO, D. L. Free amino acids in Brazilian grape juices. **Rivista Di Viticoltura e Di Enologia**, v. 28, n. 4, p. 15-21, 1990.

OAK, M. H.; EI BEDOUI, J.; SCHINI-KERTH, V. B. Antiangiogenic properties of natural polyphenols from red wine and green tea. **Journal of Nutritional Biochemistry** 16, 1-18, 2005.

SCHERER, R.; GODOY H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry** 112, 654–658, 2009.

SINGLETON, V. L.; ROSSI JÚNIOR, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enology and Viticulture** 16, 144-158, 1965.

SOARES, A. D.; GOMEZ, M. L. P. A.; MESQUITA, C.; LAJOLO, F. M. Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants. **Braz. J. Plant Physiol.** 16, 147-154, 2004.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L., Fett, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura** 30(1), 59-64, 2008.

TRABER, M.G. Cellular and molecular mechanisms of oxidants and antioxidants. **Mineral and Electrolyte Metabolism**, Basel 23, (3/6), 135-139, 1997.

VALERO, E.; SÁNCHEZ-FERREIRA, A.; VARÓN, R.; GARCÍA-CARMONA, F. Evolution of grape polyphenol oxidase activity and phenolic content during maturation and vinification. *Vitis*, **Landau**, 28(2), 85-95, 1989.

WANG, Y.; CATANA, F.; YANG, Y.; RODERICK, R.; VAN BREEMEN, R. B.. An LC-MS method for analysing total resveratrol in grape juice, cranberry juice and in wine. **J. Agric. Food Chem.** 50, 431-435, 2002.

WENZEL, E.; SOMOZA, V. Metabolism e bioavailability of *trans*-resveratrol. **Molecular Nutrition & Food Research** 49, 472-481, 2005.

ZAPATA, J. M.; CALDERÓN, A. A.; ROS BARCELÓ, A. Actual browning and peroxidase level are not correlated in red wine berries from grapewine (*Vitis vinifera*) cultivars. **Fruit Varieties Journal**, Fayetteville 49(2), 82-84, 1995.

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE FIBRA DE COCO VERDE (*Cocos nucifera*)
CRUA E TORRADA NO PERFIL METABÓLICO DE RATOS *Wistar***

SANDRA MARIA BARBALHO^{1,2}, FLÁVIA MARIA VASQUES FARINAZZI-MACHADO², PATRÍCIA CINCOTTO DOS SANTOS BUENO¹, MARICELMA DA SILVA SOARES DE SOUZA¹, ÉLEN LANDGRAF GUIGUER¹, ADRIANO CRESSONI ARAÚJO¹, ALICE YOSHIKO TANAKA², LUIZ FERNANDO SANTOS ESCOUTO², MARIE OSHIWA³, KÁTIA AMORIM NORO³, RENATA HIRATA SANDALO³, MARIANA TOYO NAKANO⁴, AMANDA PELEGRINE HERCULIANI⁴, MARÍLIA DE IMPÉRIO TOSATO⁴, PRISCILA VENÂNCIO CARLOS⁴, LUCIANA MARIA PIRES DOS SANTOS⁴, DANIEL GUIMARÃES³, TALITA NASCIMENTO VILLAS BOAS³, EDUARDO KIYOSHI HIGA³

¹Docente da Faculdade de Medicina e Ciências da Saúde da UNIMAR – Marília – SP. Av Higino Muzzi Filho 1001.

²Docente do curso de Tecnologia em Alimentos da Faculdade de Tecnologia de Marília – FATEC. Av. Castro Alves, 62, B. Somenzari, CEP: 17506-000.

³Tecnólogo em Alimentos pela Faculdade de Tecnologia “Estudante Rafael Almeida Camarinha”. Marília -São Paulo - Brasil. E-mail: katiaan@gmail.com

⁴Acadêmica do Curso de Medicina da Faculdade de Medicina e Ciências da Saúde da UNIMAR – Marília – SP. Av Higino Muzzi Filho 1001.

RESUMO

Considerando os efeitos benéficos das fibras na prevenção de fatores de risco para doenças crônicas e visando a busca de uma nova alternativa para os rejeitos da indústria de água de coco, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação de fibra de coco verde crua e torrada no metabolismo de ratos *Wistar*, a fim de verificar a possibilidade de sua utilização como alimento. Foram utilizados 30 animais, por um período de 40 dias, realizando pesagens semanais no biotério da Universidade de Marília/SP (UNIMAR), onde foram randomizados em 6 (seis) grupos de 5 (cinco) animais e identificados de acordo com a ração a ser administrada: dez animais tratados com fibra de coco crua (FCC), dez animais com fibra de coco torrada (FCT), e dez animais constituindo o grupo controle (C). Foi coletado sangue para delineamento do perfil bioquímico: colesterol total, colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-c), triglicérides (TG), glicose, creatinina, proteína C-reativa (PCR), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT). Os animais alimentados com a ração suplementada com fibra de coco tiveram aumento nos níveis de HDL-c e diminuição dos níveis de glicemia, parâmetros importantes na prevenção e controle de doenças crônicas não transmissíveis.

Palavras – chave: *Cocos nucifera*; fibras; doenças crônicas; HDL-c

EFFECTS OF FIBER SUPPLEMENTATION OF GREEN COCONUT (*Cocos nucifera*) RAW AND ROASTED IN THE METABOLIC PROFILE OF *WISTAR* RATS

ABSTRACT

Considering the beneficial effects of fiber in the prevention of risk factors for chronic diseases and focusing on the search for a new alternative for the waste of coconut water industry, the purpose of this study was to evaluate the effects of supplementation of green coconut fiber raw and roasted in the metabolism of *Wistar* rats in order to verify the possibility of their use as food. It was used 30 animals for a period of 40 days, performing weighed every week in the vivarium of the University of Marília / SP (UNIMAR) where they were randomized into six (6) groups of five (5) animals and identified according to the ration be administered: ten animals treated

with raw green coconut fiber, ten animals treated with toasted coconut fiber, and ten animals as the control group. Blood was collected for delineation of the biochemical profile: total cholesterol, high density lipoprotein (HDL-C), triglycerides (TG), glucose, creatinine, C-reactive protein (CRP), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT). Animals fed the diet supplemented with green coconut fiber had an increase in HDL-C levels and decrease of blood glucose levels, important parameters in the prevention and control of chronic non-communicable diseases.

Key words: *Cocos nucifera*; fiber; chronic diseases; HDL-C

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a sociedade moderna está passando por um rápido processo de transição nutricional (SUAREZ-HERRERA et al., 2009), conceituado como um fenômeno no qual ocorrem mudanças nos padrões de distribuição dos problemas alimentares de uma população, referindo-se à passagem da desnutrição para a obesidade (KAC e VELÁSQUEZ- MELENDEZ, 2003).

Em diversos países, com destaque para os países desenvolvidos, a adoção de dietas relacionadas com doenças crônicas não-transmissíveis tem aumentado substancialmente (POPKIN, 2009) e, o reflexo dessas profundas mudanças nos hábitos de vida da população é o desenvolvimento de tais doenças - que constituem a principal causa de mortalidade em todo o mundo. Destacam-se dentre elas as doenças cardiovasculares, o diabetes, a obesidade e o câncer (MUNARI et al., 2009). O aumento no consumo de açúcares, de alimentos de origem animal e óleos comestíveis, associados ao sedentarismo e ao baixo gasto de energia (POPKIN, 2009) são fatores pré-expositivos.

Isto representa um desafio para os órgãos da saúde pública (SUAREZ-HERRERA et al., 2009), uma vez que as doenças crônicas não transmissíveis demandam custos elevadíssimos aos cofres públicos para o seu tratamento. E a alimentação, por ser um parâmetro modificável, entra como um veículo promissor na intervenção da evolução dessas doenças, bem como de sua prevenção (HENRIQUES et al., 2008), sendo imprescindível o uso da tecnologia na pesquisa de novos compostos bioativos (fibras, fitoesteróis, fitoestrógenos, flavonóides, carotenóides, licopeno).

É reconhecido que alguns alimentos, particularmente frutas e hortaliças possuem estes compostos bioativos. E as fibras, especificamente, por seus efeitos fisiológicos, além das propriedades físicas inerentes ao alimento, têm sido foco de atenção na prevenção do diabetes melito tipo 2 (MELLO e LAAKSONEN, 2009), de doenças cardiovasculares, além de serem coadjuvantes no controle do sobrepeso, devido à sensação de saciedade que promovem e, também, por sua capacidade de reduzir certos tipos de cânceres (como de cólon). São classificadas de acordo com sua solubilidade em água em: fibras solúveis, como substâncias pécticas, glucanas, gomas e mucilagens, algumas hemiceluloses e o *psyllium*; e em insolúveis, como celulose, hemicelulose e lignina, que são encontradas no farelo de trigo, cereais integrais, raízes e hortaliças (MIRA et al., 2009).

A casca do coco verde, assim como a do coco maduro, é constituída por uma fração de fibras e outra denominada de pó. As fibras de coco são materiais lignocelulósicos obtidos do mesocarpo de cocos e caracterizam-se pela sua dureza atribuída ao alto teor de lignina (41 a 45%), quando comparadas com outras fibras naturais (SENHORAS, 2003; ROSA et al., 2002).

Considerando o fruto imaturo ou coco verde para consumo de água, 80 a 85% do seu peso bruto representam resíduo (cascas), que não vem sendo aproveitado pela indústria devido à falta de conhecimento de suas propriedades, sendo, portanto, descartado nos aterros e vazadouros a céu aberto (lixões). São, como toda matéria orgânica, potenciais emissores de gases, além de contribuir para que a vida útil desses depósitos seja diminuída, proliferando focos de vetores transmissores de doenças, mau cheiro, possíveis contaminações do solo e corpos d'água, além da inevitável destruição da paisagem urbana (ROSA et al., 2001).

Como a minimização da geração desse resíduo implicaria a redução da atividade produtiva associada, o seu aproveitamento torna-se uma necessidade. No entanto, poucos estudos têm sido realizados visando à caracterização e utilização da fibra e do pó da casca do coco verde (ROSA et al., 2002).

Assim, considerando os efeitos benéficos das fibras na prevenção de fatores de risco para doenças crônicas e, visando a busca de uma nova alternativa para os rejeitos da indústria de água de coco, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da

suplementação de fibra de coco verde, crua e torrada, no metabolismo de ratos *Wistar*, a fim de verificar a possibilidade de sua utilização como alimento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Grupos de ratos

Foram utilizados 30 animais da linhagem *Wistar*, pesando ± 250 g, mantidos pelo biotério da UNIMAR (Universidade de Marília) com ciclo claro/escuro 12/12 horas e temperatura ambiente de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo e umidade relativa de $60 \pm 5\%$ e água e ração peletizadas *ad libitum* sendo tratados de acordo com o “*Guide to the care and use of experimental animals*”,

Os animais passaram por um período de adaptação de sete dias (período pré-experimental) na sala onde o experimento foi delineado. Após este período, os animais foram randomizados em 6 (seis) grupos de 5 (cinco) animais e identificados de acordo com a ração a ser administrada, sendo destes: dez animais tratados com fibra de coco crua (FCC), dez animais com fibra de coco torrada (FCT), e dez animais constituindo o grupo controle (C).

O experimento foi conduzido por um período de 40 dias, realizando-se pesagens semanais, registrando os pesos corporais dos animais no 1°, 8°, 15°, 23°, 31° e 39° dias experimentais. Os ratos do grupo controle e dos grupos tratados foram alimentados diariamente com ração comercial e ração suplementada, respectivamente, sendo o consumo registrado a partir das sobras verificadas em cada dia seguinte.

2.2. Princípios éticos

Este trabalho teve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIMAR (Protocolo 226).

2.3. Preparo da ração

A ração administrada foi preparada na proporção 1:1 de fibra de coco e de ração peletizada comercial (Marca Purina®) e água, sendo estas preparadas

diariamente no Laboratório de Processamento de Alimentos da Faculdade “Estudante Rafael Almeida Camarinha” (FATEC - Campus Marília).

A fibra de coco em pó foi obtida no Laboratório de Processamento de Alimentos da respectiva faculdade.

A ração comercial foi, inicialmente, submetida à trituração manual com o auxílio de um pistilo plástico e, posteriormente, moída no moinho elétrico (marca Marconi) a 4500 rpm. Os ingredientes foram pesados em balança semi-analítica e misturados utilizando-se água como solvente.

A mistura foi modelada manualmente com o auxílio de um recheador de carnes de modo que o formato fosse semelhante à ração comercial e a mesma foi seca em estufa de circulação de ar a temperatura de 65°C por 5 horas. A ração já processada e devidamente identificada foi mantida em refrigeração (5°C) até a sua utilização a fim de se evitar a sua degradação microbiológica.

Para o preparo da ração com fibra de coco torrada, a fibra crua foi submetida a aquecimento em forno industrial numa temperatura de 120°C por 10 minutos, sendo esta homogeneizada a cada 5 minutos.

2.4. Coleta de sangue e determinação do perfil bioquímico

Após 40 dias de tratamento, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico até completa sedação e, com auxílio de material cirúrgico, o sangue foi coletado com agulha e seringa para delineamento do perfil bioquímico: colesterol total, colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-c), triglicérides (TG), glicose, creatinina, proteína C-reativa (PCR), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT).

Os exames foram realizados no laboratório do HU (Hospital Universitário) da UNIMAR (Laboratório – Hospital São Francisco). Os resultados foram interpretados segundo SBD (2007) e ADA (2010).

2.5. Análises Estatísticas

As variáveis foram apresentadas em médias e respectivos desvios - padrão. A análise dos dados foi realizada através da Análise de Variância (ANOVA), sendo a

comparação do peso médio entre grupo controle e grupos tratados complementada pelo Teste de Tukey e, para a comparação entre os momentos (inicial e final), utilizou-se o Teste t de Student. Para o perfil bioquímico, o mesmo foi complementado pelo Teste de Mann-Whitney U e o nível de significância adotado de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 estão descritas a média e o desvio-padrão referentes ao consumo de água e ração para os grupos: controle (C) e tratados com fibra de coco crua (FCC) e fibra de coco torrada (FCT) conforme o momento. Sendo estes divididos em inicial – abrangendo os 1º, 8º e 15º dias experimentais; e o final – os 23º, 31º e 39º dias experimentais.

Nesta, ao compararem-se os momentos, os grupos suplementados com fibra de coco apresentaram maior consumo de ração e água em relação ao grupo controle. Por outro lado, comparando-se estes mesmos grupos entre si (FCC e FCT), dentro do mesmo parâmetro, na variável ração, a fibra de coco torrada (FCT) apresentou maior consumo do que o grupo FCC; e na variável água, o consumo não apresentou variação no momento inicial, entretanto, no momento final o grupo FCT teve um aumento significativo, possivelmente correlacionado com o aumento no consumo da ração.

Tabela 1. Média, desvio-padrão e resultado do teste estatístico do consumo de ração (g) e água (ml) nos grupos controle e tratado segundo o momento.

Table 1. Mean, standard deviation and statistical test results of feed intake (g) and water (ml) in control and treated groups according to the moment.

Variável	Momento	Controle	Grupo FCC ¹	FCT	p-valor
Ração	Inicial	115,0 ± 48,2 A ²	297,9 ± 34,4 B	322,8 ± 39,0 C	0,0000
	final	108,8 ± 38,8 A	377,9 ± 91,5 B	380,3 ± 71,4 C	0,0000
	p-valor	0,1533	0,0003	0,0010	
Água	Inicial	145,5 ± 56,7 A	373,5 ± 35,2 B	409,75 ± 45,1 B	0,0000
	final	141,2 ± 38,8 A	376,8 ± 88,0 B	413,8 ± 64,7 C	0,0000

p-valor	0,2565	0,4366	0,4038
---------	--------	--------	--------

¹ (FCC) = Fibra de Coco Crua (FCT) = Fibra de Coco Torrada.

¹ (FCC) = Raw fiber of coconut (FCT) = Roasted fiber of coconut

² Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si.

² Means followed by same letter do not differ

A tabela 2 apresenta os pesos corporais dos animais registrados no 1°, 8°, 15°, 23°, 31° e 39° dias experimentais, sendo considerados o 1°, 8°, 15° como inicial e o 23°, 31° e 39° como final.

Observou-se que os grupos suplementados com a fibra de coco crua e torrada apresentaram redução significativa no peso corpóreo, sendo inversamente proporcional ao consumo da ração conforme descrito na tabela 1. Conhecendo-se as propriedades das fibras e sua capacidade de interferir no trânsito gastrointestinal, sugere-se essa ação como possível causa do consumo elevado de ração e o baixo peso dos animais.

Tabela 2. Média, desvio-padrão e resultado do peso corporal (g) dos grupos controle e tratado segundo o momento.

Table 2. Mean, standard deviation and result in body weight (g) of control and treated groups according to the moment.

Momento	Grupo			p-valor
	Controle	FCC ¹	FCT	
Inicial	361,6 ± 44,2 B ²	225,5 ± 28,4 A	224,3 ± 37,9 A	0,0000
final	405,5 ± 33,2 B	316,5 ± 48,2 A	322,2 ± 38,5 A	0,0000
p-valor	0,0000	0,0000	0,0000	

¹ (FCC) = Fibra de Coco Crua (FCT) = Fibra de Coco Torrada.

¹ (FCC) = Raw fiber of coconut (FCT) = Roasted fiber of coconut

² Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si.

² Means followed by same letter do not differ.

Foi observado no perfil metabólico dos ratos, que o grupo tratado com fibra de coco apresentou uma redução significativa nos níveis de glicemia e aumento significativo nos níveis de triglicérides, HDL-c, colesterol, creatinina e ALT quando comparados com o grupo controle. A PCR e o AST apresentaram variações, porém não significativas (tabela 3).

Comparando-se os grupos tratados - FCT e FCC, observa-se que para todas as análises realizadas, os valores obtidos não apresentaram variação significativa. Isso mostra que o tratamento térmico empregado no processamento da fibra de coco torrada não provocou danos que ocasionassem interferência na sua ação. A temperatura utilizada (120°C) é similar a utilizada no processamento de produtos de panificação, podendo com isso, a fibra de coco ser utilizada na elaboração dos mesmos.

Sabe-se que as fibras alimentares (FA) exercem funções benéficas no trato gastrointestinal, além de influenciar no metabolismo de certos componentes como lipídios circulantes e glicemia (MIRA et al., 2009). As fibras solúveis promovem um efeito favorável no metabolismo da glicose e da insulina se administradas em quantidades suficientes (10 a 25g) por retardar a absorção de glicose, evitando picos glicêmicos no período pós-prandial (MELLO e LAAKSONEN, 2009). Pelo fato da fibra de coco conter em sua constituição a pectina (SENHORAS, 2003), associam-se suas propriedades hipoglicemiantes aos resultados obtidos neste experimento, tendo em vista a redução de glicemia do grupo tratado com fibra de coco (tabela 3).

Corroborando com os resultados deste experimento, Queiroz et al. (2008), através de um estudo sobre o efeito da farinha da casca de maracujá em ratos, por 30 dias, verificaram que a utilização da farinha nas proporções de 50 e 100% da ingestão diária recomendável, proporcionou um efeito hipoglicemiante em roedores, possivelmente pela presença e ação das fibras solúveis da casca do maracujá.

Tabela 3. Média, desvio-padrão e resultado das variáveis analisadas no perfil bioquímico dos grupos experimentais ao final do estudo.

Table 3. Mean, standard deviation and result of biochemical variables in the experimental group in the end of the study.

Variáveis	Grupos			p – valor ³		
	Controle	FCC ¹	FCT	C vs FCT	C vs FCC	FCT vs FCC
Glicemia (mg/dL)	152,00±16,51 B	125,70±23,87 A	118,50±25,66 A	0,0027**	0,0257*	0,5452ns

HDL-C (mg/dL)	24,90±2,88 A	35,30±5,3 8 B	34,20±4,8 5 B	0,004***	0,0003***	0,8793ns
Coleste rol (mg/dL)	61,30±7, 99 A	71,70±14, 69 B	76,30±14, 91 C	0,0139*	0,0694ns	0,248ns
TG (mg/dL)	66,30±32,3 6 A ²	79,30±17, 96 B	105,80±53 ,99 B	0,0057**	0,0341*	0,2404ns
ALT U/L	74,00±12,4 8 A	105,60±29 ,71 B	119,00±47 ,36 B	0,0081***	0,0256*	0,7911ns
AST U/L	145,00±34, 59 A	150,90±25 ,02 A	176,40±77 ,77 A	0,3150ns	0,3845ns	0,5702ns
PCR (ng/mL)	0,96±0,44 A	0,85±0,21 A	1,04±0,38 A	0,6468ns	0,6199ns	0,3183ns
Creatini na (mg/dL)	0,52±0,08 A	0,59±0,12 B	0,59±0,07 B	0,0441*	0,1434ns	0,9683ns

¹ (FCC) = Fibra de Coco Crua (FCT) = Fibra de Coco Torrada (C) = Controle

¹ (FCC) = Raw coconut fiber (FCT) = Roasted coconut fiber (C) = Control

² Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si.

² Means followed by same letter do not differ.

³ Teste de Mann-Whitney U e nível de significância de 5%.

³ Mann-Whitney U test and significance level of 5%.

Observou-se neste experimento, o aumento significativo dos níveis de HDL-c para os grupos tratados, comparando-o com o grupo controle (tabela 3). Valores estes equivalentes ou próximos aos considerados como desejáveis para os humanos, que são valores acima de 35 mg/dL. Estudos evidenciam que o aumento de 1mg/dl nos níveis séricos de HDL-c diminui o risco relativo para eventos coronarianos em 2 a 3% (RABELO, 2001). O HDL-c além de iniciar o transporte reverso do colesterol, ou seja, a remoção do colesterol das células e seu transporte ao fígado para posterior excreção pode prevenir a agregação das partículas de LDL-

c na parede arterial e sua oxidação diminuindo, assim, seu potencial aterogênico (RAGBIR e FARMER, 2009; RABELO, 2001).

Ainda, as fibras da dieta influenciam as concentrações de colesterol. Normalmente, as fibras insolúveis possuem efeitos limitados sobre seus níveis, isso porque a síntese de colesterol hepático pode compensar a má absorção de colesterol reservando, portanto, às fibras solúveis propriedades mais intensas de redução de sua concentração (HENRIQUES et al., 2008). Foi observado neste experimento (tabela 3) aumento significativo do colesterol, tendo o grupo FCT a maior média, porém, estes níveis se comparados aos requeridos para humanos estão dentro do que é considerado como desejável ou normal (abaixo de 200mg/dL). As fibras de coco têm em sua constituição uma pequena quantidade de pectina – em média 3% (SENHORAS, 2003), o que impossibilita uma ação efetiva. Portanto, sugere-se que o aumento observado se deve a quantidade elevada de ração consumida (tabela 1) pelos roedores.

Pascoal et al. (2010), por meio de estudo da inclusão de farelo de coco em dietas para suínos em crescimento, observaram que a adição do ingrediente promoveu o aumento do colesterol. Os autores consideram que este aumento está relacionado às quantidades de energia e de gordura saturada ingeridas. Também Omena (2008), ao utilizar o farelo de coco na alimentação de tilápia do Nilo, nas proporções de 0, 10, 20 e 30%, por 90 dias, observou que os animais que consumiram ração com o maior percentual apresentaram os maiores valores de colesterol no filé, onde esses valores podem ser reflexos do teor de extrato etéreo presente no farelo de coco.

O aumento do nível de triglicerídeos (TG) encontrado neste experimento (tabela 3), possivelmente, se deve ao alto consumo de ração (tabela 1) pelos roedores, de forma que ao observar seus níveis, o aumento foi proporcional ao consumo de ração para os grupos tratados, em que: FCT apresentou maior consumo do que FCC e, conseqüentemente, maiores níveis de TG. Níveis elevados de triglicerídeos correlacionam uma maior incidência de doença arterial coronária (GERAIX, 2008), entretanto, os níveis obtidos estão dentro do que é classificado como normal para humanos (até 150mg/dL).

Dentre as transaminases, se destacam a alanina aminotransferase (ALT) e o aspartato aminotransferase (AST), importantes no diagnóstico clínico de diversas

alterações metabólicas. Como pode ser observada na tabela 3, a AST neste experimento apresentou variância, mas não a ponto de apresentar significância. Já ALT aumentou significativamente e por estar intimamente ligada à lesões hepáticas, pode-se sugerir que, possivelmente, houve algum dano aos tecidos do fígado dos animais e liberação desta enzima na corrente sanguínea.

Conforme descrito por Brígida e Rosa (2003) e Carrijo et al. (2002), a casca de coco verde pode apresentar níveis elevados de taninos - compostos fenólicos de alto peso molecular, podendo ser hidrolisáveis ou condensados e que têm capacidade de se combinar com proteínas e outros polímeros (celulose, hemicelulose e pectinas) para formar complexos estáveis, impedindo a absorção dos nutrientes. Esse composto, quando presente em níveis elevados, pode apresentar toxicidade, além de ser um composto antinutricional (PINTO, 2004).

Corroborando com este experimento, Hervás et al. (2003) ao estudarem a toxicidade de extratos de taninos do vegetal Quebrancho, em cabras, nas proporções 0; 0,5; 1,5 e 3 g de tanino/kg do peso corporal, administrados intra-ruminalmente uma vez ao dia, por um período de 21 dias, observaram que as atividades das enzimas AST não sofreram alterações em todos os níveis de taninos. Já a atividade da ALT aumentou significativamente para o grupo que recebeu a dose 1,5 g de tanino/kg de peso corporal. Também, Melo et al. (2008) ao estudarem os efeitos da farinha de folhas de mandioca (FFM) em ratos nas proporções 0, 5, 10 e 15% de FFM acrescidos de 1% de colesterol, administrados *ad libitum*, por um período de 49 dias, observaram que na dieta contendo FFM houve o aumento apenas na atividade da enzima ALT, provavelmente, este decorrente de uma lesão dos hepatócitos do fígado destes animais contribuído pela duração do estudo, mas não sendo grave o bastante para provocar o aumento também da enzima AST e ressaltando que na FFM contém tanino.

Com isso, sugere-se uma associação da ação dos taninos presentes na fibra de coco sobre as enzimas hepáticas dos roedores para este experimento, considerando também o período experimental (de 40 dias) e a porcentagem da fibra administrada (50%).

A PCR neste experimento apresentou variação, porém, não significativa (tabela 3). A proteína C-reativa é uma proteína de fase aguda que tem sido

associada não só a efeitos inflamatórios, como também ao risco aumentado para doenças cardiovasculares (FERNANDES, 2008).

Para a creatinina, observou-se o aumento dos seus níveis (tabela 3). Conforme KOZLOSKI (2001), os teores de creatinina estão relacionados com as funções fisiológicas normais do sistema visceral e com os rins. Valores aumentados de creatinina podem indicar a deterioração da função renal (MOTTA, 2003).

4. CONCLUSÃO

Os animais alimentados com a ração suplementada com fibra de coco tiveram aumento nos níveis de HDL-c e diminuição dos níveis de glicemia, parâmetros importantes na prevenção e controle de doenças crônicas não transmissíveis. No entanto, por terem apresentado efeitos negativos (alteração de enzimas hepáticas e creatinina) na proporção de 50% de fibra de coco, sugere-se a realização de outros estudos utilizando porcentagens menores de fibra, assim como a lavagem das mesmas, visando a redução dos compostos nela presentes.

Observou-se também que não houve diferença significativa entre as fibras de coco crua e torrada sobre as variáveis bioquímicas do estudo, parâmetro importante do ponto de vista tecnológico. Sugere-se também que a fibra de coco verde é uma alternativa viável para a indústria de água de coco, diminuindo assim o impacto ambiental que o descarte da casca do fruto acarreta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRÍGIDA, A. I. S e ROSA, M. F. **Determinação do Teor de Taninos na Casca de Coco Verde (*Cocos nucifera*)**. Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture. Out. 2003, v.47, p.25-27.
- CARRIJO, O. A.; LIZ, R. S. e MAKISHIMA, N. **Fibra de casca de coco verde como substrato agrícola**. Brasília: Horticultura Brasileira. Dez. 2002, v.20, n. 4, p.533-535.
- FERNANDES, A. C. **Associação entre medidas de adiposidade e proteína C-reativa em uma população da área rural**. Belo Horizonte: Dissertação (Mestrado em Saúde e Enfermagem) - Universidade Federal de Minas gerais, Escola de Enfermagem. 2008, 93f.
- GERAIX, J. **Efeito da fibra solúvel sobre a hipertrigliceridemia e perfil imunológico de indivíduos HIV positivo em uso de terapia anti-retroviral de alta atividade**. Botucatu: Tese de Doutorado da Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Medicina de Botucatu. 2008, 148f.
- HENRIQUES, G. S.; SCORSIN, N. T.; CASSIM, A. L. O e SIMEONE, M. L. F. **Avaliação da Influência Dietética de uma Ração Enriquecida em Mix de Fibras sobre a Glicemia e o Perfil Metabólico de Lipídios em Ratos *Wistar***. Curitiba: Revista do Médico Residente/ Conselho Regional de Medicina do Paraná; Comissão Estadual de Residência Médica. Abr/jun. 2008, v.10, n.2, p. 58-66.
- HERVÁS, G; PÉREZ, V; GIRÁLDEZ, F.J; MANTECÓN, A.R; ALMAR, M.M e FRUTOS, P. **Intoxication of sheep with quebracho tannin extract**. 1.ed. Journal of Comparative Pathology – Elsevier. Jul. 2003, v. 129, p. 44-54.
- KAC, G. e VELASQUEZ-MELENDÉZ, G. **A transição nutricional e a epidemiologia da obesidade na América Latina**. Cadernos de Saúde Pública. 2003, v.19, p. S4-S5. Suplemento 1.
- KOZLOSKI, G. V.; ROCHA, J. B. T.; CIOCCA, M. L. S. **Metabolismo visceral e eficiência do uso da energia pelos ruminantes**. Santa Maria: Ciência Rural. Set./out. 2001.v.31, n.5, p. 909-915.
- MELO, D. S; CORRÊA, A. D; MARCOS, F. C. A; SOUSA, R.V; ABREU, C. M. P e SANTOS, C. D. **Efeitos da farinha de folhas de mandioca sobre a atividade das enzimas AST, ALT, FA e lipídios hepáticos de ratos *Wistar***. Campinas: Ciências Tecnologia em Alimentos. Dez. 2008, v.28, p. 32-37.

- MELLO, V. D. e LAAKSONEN, D. E. **Fibras na dieta: tendências atuais e benefícios à saúde na síndrome metabólica e no diabetes melito tipo 2.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia. 2009, v.53, n.5, p. 509-518. Artigo de revisão. Recebido em 28/fev/2009, aceito 05/jun/2009.
- MIRA, G. S.; GRAF, H. e CANDIDO, L. M. B. **Visão retrospectiva em fibras alimentares com ênfase em beta-glucanas no tratamento do diabetes.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. Jan/mar. 2009, v.45, n.1, p. 11-20. Artigo de Revisão. Recebido em 20/mar/2008, aceito 30/jul/2008.
- MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para o Laboratório: princípios e interpretações.** 4. ed. Porto Alegre: Ed.Médica Missau . 2003, p. 237.
- MUNARI, D.; LUCCHESI, R. e MEDEIROS, M. **Reflexões sobre o uso de atividades grupais na atenção a portadores de doenças crônicas.** Ciência, Cuidado e Saúde. Abr. 2009, v. 8, p. 148-154. Suplemento. Recebido em 30/set/2007, aceito 30/mar/2008.
- OMENA, C.M.B. **Reflexo da utilização do farelo de coco na alimentação de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, LINNAEUS 1857) sobre o valor nutricional do filé.** Maceió: Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas, Jan. 2008. 95f.
- PASCOAL, L. A. F.; MIRANDA, E. C.; LAMENHA, M. I. A.; WATANABE, P. H.; MIRANDA, C. C. e SILVA, L. P. G. **Inclusão de farelo de coco em dietas para suínos em crescimento com ou sem suplementação enzimática.** Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. Jan/mar. 2010, v.11, n.1, p 160-169.
- PINTO, L.; PEZZATO, L.; MIRANDA, E; BARROS, M. e FURUYA, W. **Efeito do tanino na digestibilidade dos nutrientes da ração pela tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*.** Maringá: Acta Scientiarum. Animal Sciences. 2004, v. 26, n.2, p.181-186.
- POPKIN, B. M. **Global changes in diet and activity patterns as drivers of the nutrition transition.** USA: Nestlé Nutrition Institute Workshop Series: Pediatric Program, Nestec Ltd., Vevey/S. Karger AG, Basel. 2009, v. 63, p. 1–14.
- QUEIROZ, R. F.; MAXIMIANO, F. P.; NUNES, T. D' Á. S.; MOREIRA, D. A. C.; AZEVEDO, L. e SILVA, L. B. C. **Avaliação do perfil lipídico, glicêmico, conteúdo de glicogênio hepático e cardíaco em ratos diabéticos suplementados com farinha de casca de maracujá (*Passiflora edulis*).** Revista Brasileira de Nutrição Clínica. 2008, v. 23, n.3, p. 173-177. Recebido em 26/jun/2008, aceito 06/set/2008.

RABELO, L.M. **Fatores de risco para doença aterosclerótica na adolescência.** Jornal de Pediatria. 2001, v. 77, p. S153-S164. Suplemento2. Artigo de Revisão.

RAGBIR, S. e FARMER, J. A. **Social participation as a central strategy of community nutrition to face the challenges associated with the nutritional transition.** Revista Española de Salud Pública. Nov/dec 2009, v.83, n .6, p.791-803.

ROSA, M. F.; BEZERRA, F. C.; CORREIA, D.; SANTOS, F. J. DE S.; ABREU, F. A. P.; FURTADO, A. A. L.; BRÍGIDO, A. K. L. e NORÕES, E. R. V. **Utilização da casca de coco como substrato agrícola.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. 2002, 24 p. Documento, 52.

ROSA, M. F.; ABREU, F. A. P.; FURTADO, A. A. L.; BRÍGIDO, A. K. L. e NORÕES, E. R. V. **Processo agroindustrial: obtenção de pó de casca de coco verde.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. 2001, 3p. Comunicado Técnico, 61.

SENHORAS, E. M. **Estratégia de uma Agenda para a Cadeia Agroindustrial do Coco: transformando a ameaça dos resíduos em oportunidades eco-eficientes.** Campinas: Universidade Estadual de Campinas – Instituto de Economia. Fevereiro de 2003. 38f.

SUAREZ-HERRERA, J. C.; JUAN, J. J. O' S. e SERRA-MAJEM, L. **La participación social como estrategia central de la nutrición comunitaria para afrontar los retos asociados a la transición nutricional.** Madri: Revista Española de Salud Publica. Nov/dec. 2009, v.83, n.6.

CARTA REFERENTE A AUTORIA E ORIGINALIDADE DO MANUSCRITO

Ao Comitê Editorial da *Revista Alimentus* Ciências e Tecnologias

Venho por meio desta declarar-me responsável pelo manuscrito intitulado “Efeitos da suplementação da fibra de coco (*Cocos nucifera*) crua e torrada, no perfil metabólico de *Wistar*”, submetido para avaliação nesta revista. Afirmo ainda que se tratam de dados inéditos e que este não se encontra sob avaliação em nenhum outro periódico. Desde já, agradeço.

Kátia Amorim Noro

CPF. 334.982.998 -83

e-mail: katiaan@gmail.com

Renata Hirata Sandalo

CPF. 369.266.428 -18

e-mail: re_hirata@hotmail.com

Sandra Maria Barbalho

CPF. 150.677.828-38

e-mail: smbarbalho@terra.com.br

Flavia Maria Vasques Farinazzi Machado

CPF. 269.246.558-07

e-mail farinazzimachado@hotmail.com

QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO DA ÁGUA FORNECIDA PELA REDE DE ABASTECIMENTO DA CIDADE DE MARÍLIA - SP

PAULO SÉRGIO MARINELLI⁽¹⁾, ALDA M. M. B. OTOBONI ⁽¹⁾, ALICE Y. TANAKA⁽¹⁾, CLÁUDIA C. T. N. MENDONÇA⁽¹⁾, VITOR JOSÉ MIRANDA DAS NEVES⁽²⁾, AMABRIANE DA SILVA OLIVEIRA ⁽³⁾

RESUMO

O presente trabalho traz informações da qualidade físico-química da água de abastecimento na rede de distribuição da cidade de Marília-SP. Foram determinados os valores de pH, teores de cloro residual, cor aparente e turbidez em amostras da água consumida pela população. Foram coletadas amostras durante sete dias consecutivos, pela manhã e à tarde, em sete residências, escolhidas aleatoriamente em diversas regiões da cidade. Com os resultados obtidos, verificaram-se valores acima do máximo permitido para cada característica física da água de diferentes regiões da cidade, e apresentaram-se valores de cloro abaixo do mínimo permitido, asseguradas de acordo com o Padrão de Potabilidade.

Palavras - chave: controle de cloro, potabilidade da água, características físicas da água.

ABSTRACT

This study provides the physico-chemical quality data of the potable water collected from the public distribution system of Marilia City (SP). Values of pH, residual chlorine, apparent color or turbidity in water samples consumed by the population were determined by physico-chemical methods. The samples were collected at random during seven consecutive days. Seven houses located at different regions in the town were chosen for that. The results showed that the pH, color and turbidity values were higher than the maximum permitted and the chlorine amount lower than the minimum specified by the potable water pattern.

Key works: Chlorine control, potable water pattern, physical characteristics of water.

¹ Professor Pleno no Curso de Tecnologia em Alimentos da Faculdade de Tecnologia " Estudante Rafael Almeida Camarinha" – FATEC – Marília (SP) – Brasil e Titular da Disciplina de Controle de Qualidade Físico-Químico e Química Analítica do Curso de Farmácia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Marília – UNIMAR – Marília (SP) – Brasil. Email: professor.marinelli@gmail.com

² Professor Titular da Disciplina de Controle de Qualidade Microbiológico e Tecnologia das Fermentações do Curso de Farmácia Industrial da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Marília – UNIMAR – Marília (SP) – Brasil. Email:

³ Professora Assistente no Curso de Tecnologia em Alimentos da Faculdade de Tecnologia " Estudante Rafael Almeida Camarinha" – FATEC – Marília (SP) – Brasil. Email: amabriane@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A água para consumo humano é definida nos Guias de Qualidade da Água da Organização Mundial da Saúde, como “adequada para consumo humano e para todo uso doméstico habitual, inclusive a higiene pessoal (Garcia et. al., 1998) (Portaria nº 518/GM, 2004). Está implícito nesta definição, que água não deve apresentar nenhum tipo de risco que possa causar irritação química, intoxicação ou infecção microbiológica que seja prejudicial à saúde humana.

Assim, a qualidade da água para consumo humano é de grande importância, e as características microbiológicas e físico-químicas quando investigados podem definir a aceitabilidade (Garcia et. al., 1998) (DI BERNARDO, 2002).

No Brasil, através do decreto Federal nº79637 de 09/03/1977 e da Portaria 56/BSB de 13/03/1977, o Ministério da Saúde estabeleceu as normas e o padrão de potabilidade da água para todo o território nacional (Tabela 1.1), que foram utilizados até janeiro de 1992, quando entrou em vigor a Portaria nº36/GM de 19/01/1990 (Portaria nº 36/GM, 1990) (Portaria nº 56 / BSB, 1977). Esta foi revogada pela Portaria nº 518, de 25 de março de 2004, que é a legislação aplicada atualmente.

TABELA 1. Características físicas e os valores máximos permitidos (VMP) da água potável.

TABLE 1. Physical characteristics and the maximum allowed (VMP) of water.

Característica	Portaria 56/BSB de 1977	Portaria 36/GM de 1990	Portaria 518/GM de 2004
Cor Aparente (uC)	20	15*	15
Turbidez (uT)	5	5*	5
pH a 20°C	-	6,5 – 8,5	6,5 – 9,5

* para a Cor Aparente e Turbidez, um valor de até 15uC e 5uC, respectivamente, são permitidos em pontos da rede de distribuição.

Fonte: Portaria nº 36/GM, 1990. Portaria nº 56 / BSB, 1977. Portaria nº518/GM, 2004.

A turbidez das águas é devida à presença de partículas em estado coloidal em suspensão, de matéria orgânica finamente dividida, de plâncton e de outros organismos microscópicos. As soluções podem ser tanto dispersão de partículas muito pequenas, quanto substâncias dissolvidas na água. No primeiro caso, existe

uma dispersão coloidal, em que as partículas se sedimentam com velocidade muito pequena e, no segundo, há uma solução em que as moléculas de substâncias húmicas e tanino são responsáveis pela cor verdadeira, conforme será visto em seguida.

A cor aparente é devido à presença de matéria orgânica nas águas e pode ser decorrente de várias fontes. Os compostos orgânicos naturais nas águas são oriundos da degradação de plantas e de animais e são denominados substâncias húmicas (Figura 1.1).

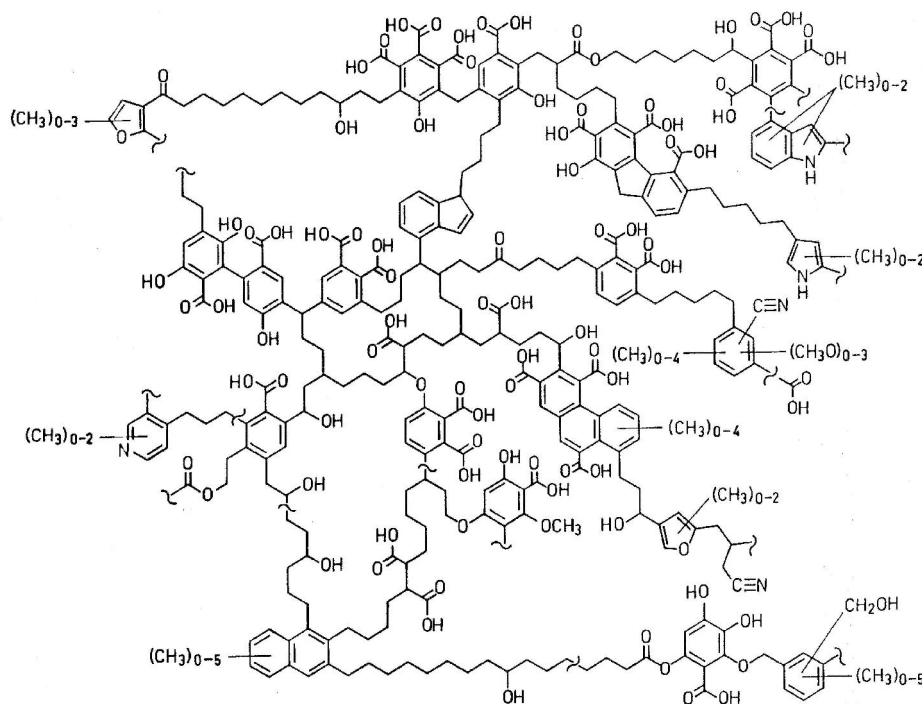


FIGURA 1. Representação esquemática do ácido húmico.

PICTURE 1. Schematic representation of humic acid

Fonte: Schulten et. al., 1994

Antigamente, a medida da cor era feita apenas por motivo estético, porém, com a descoberta de que tais substâncias são precursoras de formação de trihalometanos (THM), nos que incluem triclorometano (clorofórmio), dibromoclorometano, diclorobromometano e bromofórmio; os de iodo raramente têm sido observados nas águas cloradas, quando formados, esses compostos são considerados cancerígenos, desta forma, se a desinfecção for feita com cloro livre, a quantificação da cor passa a ser muito importante. Geralmente, é usado método de comparação visual, em aparelho que dispõe de discos padronizados. A unidade de

cor, também conhecida como unidade Hazen – uH, é obtida quando se dissolvem 1mg de cloroplatinato de potássio e 0,5mg de cloreto de cobalto em um litro de água destilada com pH = 7,0 (Di Bernardo, 1993) (AWWA, 1990).

O cloro disponível na água apresenta-se sob duas formas: HClO ou ClO⁻, dependendo dos valores do pH. Com o tempo, há uma transformação destas duas formas em ácido clorídrico e conseqüente perda do cloro disponível. Chamamos cloro residual ao cloro que ainda não se transformou em ácido clorídrico. Por isso, devido à instabilidade do cloro em solução, as amostras para a determinação de cloro residual deverão ser analisadas imediatamente após a coleta (IAL, 2005).

Recomenda-se a concentração mínima de 0,2mg/L de cloro residual livre em qualquer ponto de distribuição, e também que a água potável não deverá apresentar quaisquer teores de substância que lhe confirmam odor característico.

De acordo com a Portaria 518/GM de 2004, o número mínimo de amostras e a frequência mínima de amostragem para análise das características físicas e químicas da água distribuída à população, na rede de distribuição, são apresentados, em função da população abastecida, conforme mostrado na tabela 1.2.

TABELA 2. Frequência mínima de amostragem da água tratada.

TABLE 2. Minimum sampling of treated water.

Discriminação	Rede de Distribuição População Abastecida (hab.) 50.001 – 250.000 1 amostra a cada 50.000
Características Físicas	Mensal
Componentes Inorgânicos que afetam a saúde *	Semestral

*mensal para cloro residual na rede de distribuição.

Fonte: Portaria nº 518/GM, 2004.

É muito importante a diferenciação entre critérios e padrões de qualidade das águas. Enquanto os critérios representam os requisitos científicos, com caráter de propostas, de sugestões ou tentativas a serem testadas quanto à sua

exequibilidade; os padrões consistem nos critérios transformados em lei, sendo, portanto, inapeláveis(Di Bernardo et. al., 2002).

A ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas, através da NB – 592 “ Projeto de Estação de Tratamento de Àguas para Abastecimento Público”(DI BERNARDO, 1993) (Nascimento et. al., 1998), considera os seguintes tipos de águas naturais: Tipo A : águas subterrâneas ou superficiais, provenientes de bacias sanitariamente protegidas, com características básicas, de acordo com o padrão de potabilidade; Tipo B : águas superficiais ou subterrâneas, provenientes de bacias não protegidas, que possam atender ao padrão de potabilidade com tecnologias de tratamentos que não exijam a coagulação química; Tipo C : águas superficiais, provenientes de bacias não protegidas, com características que exijam tecnologias com coagulação químicas para atender ao padrão de potabilidade e Tipo D : águas superficiais de bacias não protegidas, sujeitas à poluição e cujas características básicas são apresentadas e requerem tratamento especiais para atender ao padrão de potabilidade.

As características das técnicas de tratamento recomendadas para cada tipo de água são: Tipo A : desinfecção e correção de pH; Tipo B : desinfecção, correção de pH e decantação simples para águas contendo sólidos sedimentáveis, de modo a atender ao padrão de potabilidade; filtração, procedida ou não de decantação, quando a turbidez e cor aparente forem inferiores a, respectivamente, 40 UT e 20 UH; Tipo C : coagulação, seguida ou não de decantação, filtração rápida, desinfecção e correção de pH e Tipo D : tratamento mínimo da água tipo C e tratamento complementar apropriado a cada caso.

Segundo se constatou em visita realizada na Estação de Tratamento de Água (ETA) do Departamento de Água e Esgoto de Marília (DAEM), a água natural é oriunda do Rio do Peixe, caracterizada como Tipo D, que envolve tratamento peculiar além de dosagem de carvão ativado em pó.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Durante 7 dias consecutivos foram coletadas amostras de água de torneiras diretamente ligadas à rede de distribuição de sete residências, escolhidas aleatoriamente em função das regiões da cidade de Marília, como mostra a figura 2.1. Foram feitas duas coletas por dia, uma pela manhã (7:00 horas) e outra à tarde (19:00 horas), horários estes em que há um maior consumo por parte da população.



FIGURA 2. Mapa da cidade de Marília, dividido em regiões de coleta da água, aleatoriamente.

PICTURE 2. Map of the city of Marilia, divided into areas of water collection at random.

Fonte: Marília, 2010

2.2 MÉTODOS

2.2.1 DETERMINAÇÃO DO CLORO RESIDUAL

O cloro residual foi determinado pela reação com N,N-dietil-p-fenilenodiamina (DPD), utilizando Chlor-test im Schwimmbad (Microquant ® 14801 – Merck), na qual,

em presença de cloro (Cl_2), ácido hipocloroso (HClO) e íons hipoclorito (ClO^-), o reagente é oxidado a um composto vermelho-violeta e a leitura do resultado é feita com aparelho comparador de cor para cloro (WHO, 1997).

2.2.2 DETERMINAÇÃO DO pH

O pH a 20°C foi determinado diretamente em potenciômetro Micronal, modelo B 374 segundo normas já fixadas (IAL, 2005).

2.2.3 DETERMINAÇÃO DA COR APARENTE

A determinação da cor aparente foi verificada a 455nm em espectrofotômetro Hach, modelo DR/4000U (WHO, 1997).

2.2.4 DETERMINAÇÃO DA TURBIDEZ

A turbidez foi determinada em turbidímetro Hach, modelo 2100N (WHO, 1997).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises de pH a 20°C, cloro residual, cor aparente e turbidez estão dispostos nas tabelas abaixo.

TABELA 3. Valores de pH (20°C) observados em amostras coletadas em diferentes regiões de Marília.

TABLE 3. pH (20 ° C) observed in samples collected in different regions of Marilia.

REGIÕES	JARDIM CONQUISTA		JARDIM CAVALARI		CENTRO		JARDIM AEROPORT		STA. I ANTONIETA		PROLONG. PALMITAL		JARDIM TROPICAL	
	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00
29/04/99	7.36	7.52	7.40	7.89	7.32	7.52	7.75	8.19	8.42	7.83	7.29	7.56	7.56	7.68
30/04/99	8.07	8.04	7.31	6.93	7.80	7.38	8.03	7.20	8.28	8.35	7.88	7.22	7.66	7.30
01/05/99	7.42	7.40	7.40	7.39	7.33	7.28	7.15	8.54	8.28	8.46	7.19	7.31	7.22	7.40
02/05/99	7.21	7.38	7.05	7.11	7.33	7.30	7.52	7.69	8.41	8.46	7.44	7.37	7.56	7.34
03/05/99	7.11	7.43	7.45	7.58	7.34	7.20	8.72	8.85	8.54	8.20	7.20	7.41	7.40	7.70
04/05/99	7.30	7.54	7.19	7.44	7.28	7.40	7.28	7.37	8.08	8.27	7.18	7.36	7.33	7.46
05/05/99	7.57	7.35	7.71	7.17	7.51	7.37	7.03	8.35	7.91	7.89	7.33	7.23	7.30	7.39

Fonte: Marília, 2010.

TABELA 4. Dados observados da concentração de cloro residual, segundo as localidades de coleta.

TABLE 4. Observed data of the residual chlorine concentration according to the collecting localities.

REGIÕES	JARDIM CONQUISTA		JARDIM CAVALARI		CENTRO		JARDIM AEROPORT		STA. I ANTONIETA		PROLONG. PALMITAL		JARDIM TROPICAL	
	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00
29/04/99	0,05	0,05	0,0	0,1	0,15	0,0	0,05	0,05	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
30/04/99	0,2	0,0	0,2	0,3	0,2	0,15	0,2	1,25	0,2	0,2	0,2	0,4	0,1	1,25
01/05/99	0,4	0,3	0,0	0,2	0,15	0,1	1,5	0,5	0,25	0,3	1,25	0,3	1,0	0,7
02/05/99	0,3	0,3	0,5	0,3	0,05	0,05	0,0	0,45	0,4	0,35	0,25	0,4	0,15	0,0
03/05/99	0,4	0,25	0,3	0,35	0,1	0,05	0,7	0,3	0,6	0,2	0,4	0,5	0,25	0,25
04/05/99	0,2	0,35	0,5	0,6	0,0	0,2	0,3	0,5	0,2	0,25	0,3	0,5	0,1	0,35
05/05/99	0,5	0,8	0,05	0,3	0,3	0,5	0,5	0,6	0,3	0,2	0,5	0,8	0,3	1,0

Fonte: Marília, 2010.

TABELA 5. Valores verificados de cor aparente, segundo as localidades de coleta.**TABLE 5.** Actual values of apparent color, depending on location of collection.

REGIÕES	JARDIM CONQUISTA		JARDIM CAVALARI		CENTRO		JARDIM AEROPORTO		STA. I ANTONIETA		PROLONG. PALMITAL		JARDIM TROPICAL	
	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00
HORÁRIO / DATA														
29/04/99	7	6	11	11	26	7	13	23	4	2	9	27	4	7
30/04/99	21	5	8	12	62	4	5	8	7	3	11	10	4	18
01/05/99	8	4	8	10	10	13	5	124	4	2	9	5	4	9
02/05/99	8	4	13	8	78	3	6	5	4	5	4	4	0,53	5
03/05/99	13	7	11	10	6	5	71	111	3	6	21	6	7	27
04/05/99	5	6	9	8	33	12	4	4	5	4	8	7	4	8
05/05/99	8	10	10	6	21	6	8	16	2	3	16	6	12	13

Fonte: Marília, 2010.

TABELA 6. Valores verificados de turbidez, segundo as localidades de coleta.**TABLE 6.** Actual values of turbidity, depending on location of collection.

REGIÕES	JARDIM CONQUISTA		JARDIM CAVALARI		CENTRO		JARDIM AEROPORTO		STA. I ANTONIETA		PROLONG. PALMITAL		JARDIM TROPICAL	
	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00	7:00	19:00
HORÁRIO / DATA														
29/04/99	0,102	0,098	0,096	0,124	1,83	0,148	0,107	4,98	0,096	0,075	0,107	0,415	0,085	0,118
30/04/99	6,17	0,083	0,085	0,109	3,93	0,093	0,110	0,151	0,097	0,068	0,150	0,122	0,095	2,20
01/05/99	0,128	0,089	0,110	0,094	0,106	0,399	0,076	41,4	0,078	0,074	0,148	0,118	0,130	0,118
02/05/99	0,098	0,087	0,137	0,091	0,101	0,066	0,072	0,089	0,082	0,106	0,104	0,085	0,53	0,099
03/05/99	0,116	0,122	0,116	0,128	0,098	0,094	19,3	34,7	0,090	0,054	1,72	0,096	0,093	2,85
04/05/99	0,126	0,092	0,131	0,111	4,22	0,148	0,090	0,093	0,061	0,099	0,105	0,111	0,117	0,108
05/05/99	0,100	0,093	0,121	0,091	0,153	0,093	0,105	3,22	0,092	0,111	1,28	0,114	0,110	1,96

Fonte: Marília, 2010.

3.1 DISCUSSÃO

3.1.1 pH a 20°C

Em referência a Portaria número 518/ GM de 25 de março de 2004, apenas três amostras (3,06%) apresentaram valores de pH superiores a 8,50; sendo assim todas as amostras encontram-se no intervalo de 6,0 a 9,5 especificado pela

legislação, estando as amostras de acordo com as especificações do Padrão de Potabilidade, conforme ilustra a figura 3.1 abaixo.

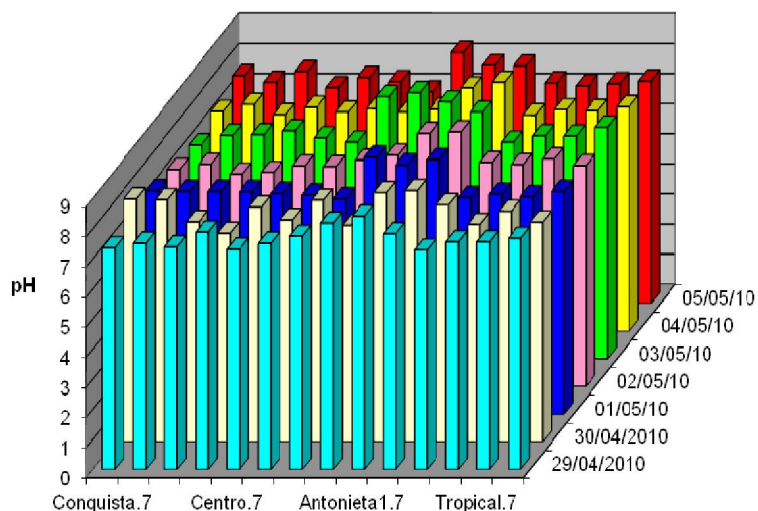


FIGURA 3. Valores de pH (20°C) em função das diferentes regiões de Marília.

PICTURE 3. pH (20 ° C) due to the different regions of Marília.

Fonte: Marília, 2010

3.1.2 Cloro Residual

A partir da concentração mínima permitida para qualquer ponto da rede de distribuição, nota-se que 29,6% das amostras coletadas apresentaram valores abaixo de 0,2mg/L de cloro residual livre, sendo que em 34,5% deste percentual não foi constatada a presença de cloro, e 70,4% das amostras estão dentro dos Padrões de Potabilidade, como pode ser visto na figura 3.2 abaixo.

Nesta determinação além do controle da adição, o teor de cloro residual vai depender de todo processo de tratamento, pois o cloro reage com impurezas orgânicas porventura presentes.

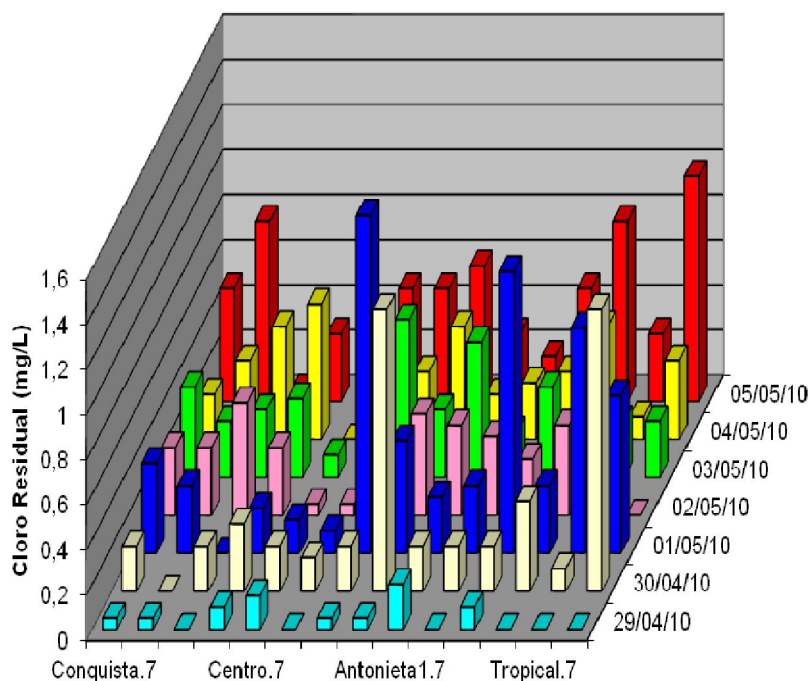


FIGURA 4. Valores de Cloro Residual em função das diferentes regiões de Marília.

PICTURE 4. Chlorine Residual values according to different regions of Marilia.

Fonte: Marília, 2010

3.1.3 Cor Aparente

Os valores encontrados nesta análise permitem dizer que 16,3% das amostras coletadas indicam valores acima do máximo permitido, bem como o restante das amostras atendem aos Padrões de Potabilidade.

Nota-se que, na região Centro, dos sete dias de coleta, cinco apresentaram valores de cor aparente acima do permitido às 7:00 horas, talvez devido a esta região apresentar tubulações antigas, nas quais podem aumentar a concentração de partículas (ferrugem – Fe^{+2} , Fe^{+3}) durante a noite.

É oportuno mencionar que no Jardim Aeroporto apresentaram os dois maiores valores de cor aparente 124uC e 111uC, nos dias 01 e 03/05/10, respectivamente, ambos às 19:00hrs, como mostra a figura 3.3 abaixo.

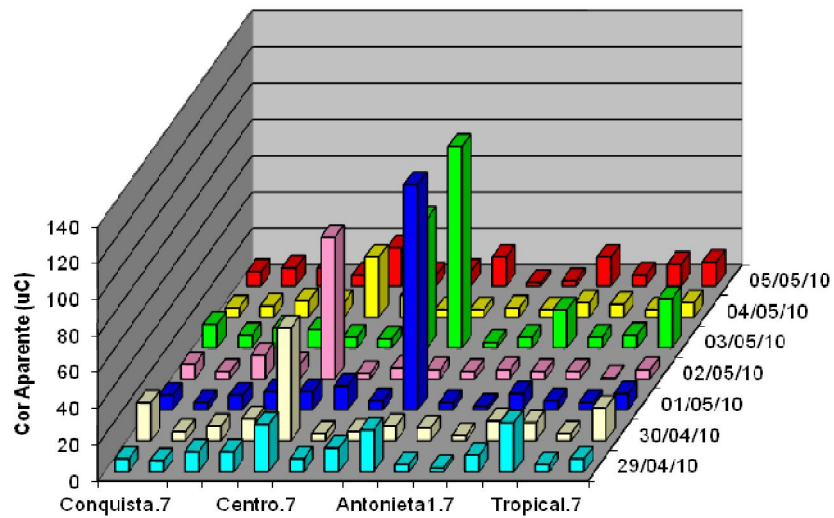


FIGURA 5. Valores de Cor Aparente em função das diferentes regiões de Marília.

PICTURE 5. Values of apparent color due to the different regions of Marília.

Fonte: Marília, 2010

3.1.4 Turbidez

No caso da turbidez, a análise dos resultados informa que apenas 4,1% das amostras coletadas estão acima do máximo permitido.

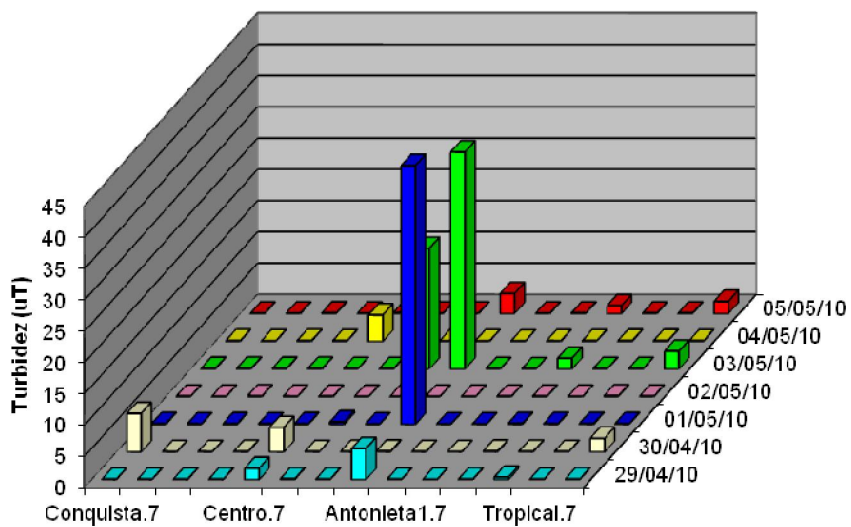


FIGURA 6. Valores de Turbidez em função das diferentes regiões de Marília.

PICTURE 6. Turbidity values according to different regions of Marília.

Fonte: Marília, 2010

4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, podemos verificar que o controle de qualidade da água oferecida à população mariliense tem garantido em média de 85% os padrões desejados no tangente a pH, cloro residual, cor aparente e turbidez.

5. REFERÊNCIAS

1. **ABNT - NB-592** - Projeto de estação de tratamento de água para abastecimento público - Rio de Janeiro ABNT. 1989, 19p.
2. American Water Works Association(AWWA). **Water Quality and Treatment, A Handbook of Community Water Supplies**, Mac Graw-hill, Inc., 4th Edition, USA, 1990.
3. ALVES, N.C.;ODORIZZI, A. C.; GOULART, F. C. Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento, Marília, SP. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, vol.36, nº 6, Dez. 2002.
4. DI BERNARDO, L. **Tratamento de água para abastecimento por filtração direta**. Rio de Janeiro, 2003, 498 p.
5. DI BERNARDO, L., DI BERNARDO, A., CENTURIONE FILHO, P. L. **Ensaio de Tratabilidade de água e dos resíduos gerados em estações de tratamento de água**. São Carlos: RIMA, 2002.
6. DI BERNARDO, L. **Métodos e Técnicas de Tratamento de Água**. Rio de Janeiro, v.1, 1993.
7. GARCIA, C.V., VARGAS, R.R., CASAS, J.J. **Control y Vigilancia de la Calidad del Agua de Consumo Humano**, CD-ROM, XXVI Congreso Interamericano de Ingenieria Sanitaria y Ambiental, Lima-Peru, 1998.
8. Instituto Adolfo Lutz (IAL). **Normas analíticas: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 4^a edição, São Paulo, 2005.
9. Ministério da Saúde. **Normas e Padrão de Potabilidade no Brasil**, Decreto nº 79367 – Portaria nº 56/BSB, Brasil, 1977.
10. Ministério da Saúde. **Normas e Padrão de Potabilidade de Águas Destinadas ao Consumo Humano**, Portaria nº 36/GM, Brasil, 1990.

11. Ministério da Saúde. **Normas de procedimentos e responsabilidades relativos ao controle de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.** Portaria nº 518/ GM, Brasil, 2004.

12. NASCIMENTO, L.V., SPERLING, M.V. **Os Padrões Brasileiros de qualidade das águas e os critérios para proteção da vida aquática, Saúde Humana e Animal,** CD-ROM, XXVI Congresso Interamericano de Ingenieria Sanitaria y Ambiental, Lima-Peru, 1998.

13. Schulten, H. R., **In : Humic Substances in the Environment and Implications on Human Health,** Eds. N. Senesi, Miano T. M., Elsevier, 43-54, 1994.

14. WHO. **Guidelines for drinking-water quality,** v.3, Second Edition, Geneva, 1997.

REAPROVEITAMENTO DO SORO DE LEITE BOVINO PARA PRODUÇÃO DE
BIOMASSA POR *KLUYVEROMYCES MARXIANUS* 229.

REUSE OF BOVINE WHEY FOR PRODUCTION OF BIOMASS
BY *KLUYVEROMYCES MARXIANUS* 229.

JUFNER CELESTINO VAZ TONI¹, KELY BRAGA IMAMURA¹, CLÁUDIA DORTA²

RESUMO

Um dos desafios da biotecnologia é o desenvolvimento de novos processos para o tratamento de resíduos agroindustriais, contribuindo para a diminuição dos problemas ambientais. O soro de leite é um subproduto riquíssimo em proteínas, gorduras e lactose de excelentes propriedades funcionais, nutricionais e tecnológicas, que pode ser utilizado como substrato para produção de biomassa microbiana. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi produzir biomassa microbiana de *Kluyveromyces marxianus* 229 que é rica em nutrientes a partir do soro de leite doce bovino e ainda uma forma de reduzir a poluição ambiental causada quando este é descartado em corpos receptores de água. Testou-se neste trabalho a influência de diferentes diluições de soro de leite doce de origem bovina no crescimento celular, concentração protéica e produção de biomassa. Desse modo, fez-se análises de carboidratos, proteínas, cinzas e pH do soro de leite bruto e do sobrenadante (do fermentado), verificando o crescimento microbiano e biomassa produzida, avaliando a proteína intracelular e massa seca. Após o cultivo da levedura *Kluyveromyces marxianus* 229 o maior crescimento celular em ciclos logarítmicos foi obtido no meio diluído 1:5. A maior obtenção de biomassa foi no meio diluído 1:4. Quanto a produção de proteína celular houve, no meio diluído 1:2, maior consumo de proteína pela levedura e conseqüentemente maior produtividade protéica. Quanto a concentração residual de lactose, não houve diferença estatística entre os quatro meios testados. No meio diluído 1:4 houve maior consumo de minerais. Este tipo de aproveitamento do soro de leite se mostrou eficiente, sendo uma alternativa viável para a diminuição da poluição ambiental, já que houve, a redução de cinzas, proteína e carboidrato neste subproduto.”

Palavras-Chave: Resíduos, levedura, crescimento e proteína .

¹ Graduados em Alimentos / Fatec - Faculdade de Tecnologia “Estudante Rafael Almeida Camarinha”

² Orientadora e Docente de Microbiologia / Fatec - Faculdade de Tecnologia “Estudante Rafael Almeida Camarinha”
Marília - SP - Brasil
Contato: kely_k1@.com

ABSTRACT

One of the challenges of biotechnology is the development of new processes for the treatment of industrial residues, contributing to the reduction of environmental problems. Whey is a byproduct rich in protein, lipids and lactose excellent functional properties, nutritional and technological, which can be used as substrate for microbial biomass production. Therefore, the objective was to produce microbial biomass *Kluyveromyces marxianus* 229 which is rich in nutrients from the sweet whey and bovine still a way to reduce environmental pollution when it is dropped into receiving bodies of water. This study tested in this study the influence of different dilutions of sweet whey from cattle in cell growth, protein concentration and biomass production. Thus analysis was made of carbohydrates, protein, minerals and pH of whey and the crude supernatant by checking the microbial growth and biomass produced by evaluating the intracellular protein and dry mass. After growing the yeast *Kluyveromyces marxianus* 229 cell growth in the largest log cycles was obtained between diluted 1:5. The greatest achievement of biomass was diluted 1:4 in the middle. As the production of cellular protein was diluted in the middle 1:2 higher intake of protein by the yeast protein and consequently increased productivity. As the residual concentration of lactose, there was no statistical difference among the four media tested. In the middle was diluted 1:4 higher intake of minerals. This type of utilization of whey was efficient, being a viable alternative to the reduction of environmental pollution, since there was a reduction of ash, protein and carbohydrate in this product.”

Keywords: Waste, yeast, growth and protein.

1. INTRODUÇÃO

No escopo das aplicações biotecnológicas, um dos presentes desafios da biotecnologia é o desenvolvimento de novos processos para o tratamento de resíduos agroindustriais, contribuindo para a diminuição dos potenciais problemas ambientais (SERPA, et al. 2009). Diferentes processos industriais produzem resíduos que necessitam de destino adequado (PELIZER et al. 2007), mas que na maioria das vezes são descartados sem nenhum tratamento prévio em corpos d'água (rios, lagos, mares), acarretando morte dos peixes e outros organismos aquáticos, comprometendo ainda, a estrutura físico-química dos solos, acentuando, a poluição ambiental (ALMEIDA & CABALLERO, 2004; DELLAMATRICE, 2005; OGRODOWSKI, 2006).

Dentre os setores que podem causar danos ambientais, encontram-se as indústrias laticínias e as queijarias. Da produção do queijo resulta o soro de leite, um subproduto riquíssimo em proteínas, gorduras e lactose de excelentes propriedades funcionais, nutricionais e tecnológicas, (PELEGRINE & CARRASQUEIRA, 2008) que podem ser utilizados como substrato para produção de proteína microbiana (CAZETTA et al., 2005).

O soro de leite, também conhecido como soro de queijo pode ser definido como um líquido opaco, amarelo-esverdeado, remanescente do processo de fabricação de queijos, após a precipitação da caseína por meio de coagulação ácida ou enzimática, retendo cerca de 55 % dos nutrientes contidos naturalmente no leite (ALVES & MARTINS, 2005; SGARBIERI, 2008 e LIRA, et al., 2009). Dependendo da sua forma de obtenção, o soro pode distinguir-se em dois tipos, sendo eles, o soro ácido, resultante da coagulação ácida, originando-se dos queijos tipo frescal, como o queijo Cottage, de menor utilização pelas indústrias, devido ao seu baixo conteúdo protéico e alto grau de cinzas; e o soro doce, procedente da coagulação enzimática, proveniente da produção de queijos como Cheddar, Mozzarella, Suíço, e Monterey (ORDOÑEZ, 2005; BONATO, et al. 2006; PELEGRINE & CARRASQUEIRA, 2008).

Com o avanço da tecnologia, a produção de queijos passou de um processo estritamente tradicional, onde existiam apenas pequenas queijarias, sem meios econômicos ou tecnológicos disponíveis para o reaproveitamento do soro de leite, (ALMEIDA & CABALLERO, 2004) para um processo industrial, onde as Indústrias de

grande porte o reutilizam para a produção de bebidas lácteas e principalmente no enriquecimento de seus próprios produtos, gerando em contrapartida, um bioproduto de interesse econômico. Mas, este tipo de reaproveitamento atinge apenas as grandes indústrias, que representam 15% do total de soro produzido, necessitando com isso de alternativas economicamente mais viáveis para o reaproveitamento deste subproduto. (OLIVEIRA, 2006; ROEPCKE & SOCCOL, 2007).

Pronunciado pela sua grande produção, elevada carga orgânica e principalmente por ser de difícil biodegradabilidade, o soro de queijo se torna um substrato atraente para utilização em processos fermentativos por microrganismos, devido ao seu alto teor de lactose (COSTA, 2008; DINIZ, 2009). Através da fermentação, por bactérias ou fungos, a lactose pode ser convertida em biomassa ou etanol, apresentando-se, desse modo, como uma alternativa mais simples e de menor custo para diminuição da poluição ambiental (SABRA, et al., 2004; DELLAMATRICE, 2005; COSTA, 2008).

As leveduras são fungos unicelulares muito estudados e utilizados em processos fermentativos, como a produção de etanol combustível ou bebidas alcoólicas. Estes fungos são raramente tóxicos ou patogênicos, e podem ser utilizadas em dietas humanas, pois em sua maioria apresentam-se segundo a FDA – Norte Americana (Food and Drug Administration) sob o Padrão – GRAS (Generally Recognized as Safe), ou seja, trata-se de um microrganismo seguro do ponto de vista da segurança alimentar e da saúde pública (OGRODOWSKI, 2006; BEKATOROU et al., 2006).

Dentre as diversas linhagens de leveduras existentes, e utilizadas para esse fim, a levedura *Kluyveromyces marxianus*, recebeu destaque e é comumente utilizada para diminuir a carga poluente do soro de queijo devido ao seu rápido crescimento em um meio com lactose como fonte carbonácea básica (DINIZ, 2009), por fazer parte da categoria de microrganismos de consumo humano seguro (Padrão GRAS) e principalmente por possuir a enzima B-galactosidase, fermentando naturalmente a lactose, hidrolisando-a em glicose e galactose, açúcares com melhores propriedades físicas, químicas e nutricionais (LACHANCE, 2007; FONSECA et al.; 2008). A *Kluyveromyces marxianus*, pode ainda sintetizar bioprodutos como enzimas hidrolíticas, produzir biomassa rica em proteínas, ribonucleotídeos e oligossacarídeos para indústria alimentícia (SILVEIRA, 2006).

Desse modo, a produção de biomassa através do cultivo de leveduras a partir do soro de queijo, é uma opção biotecnológica, que permite a produção de extratos de levedura perfeitamente passíveis de serem incluídos na alimentação humana (REVILLION et, al, 2000) transformando assim, um resíduo poluente em um subproduto estável de valor comercial (COSTA, 2008).

De acordo com Ogradowski, (2006) esta biomassa produzida pelas leveduras encontra-se apta a enriquecer vários setores alimentícios, como: embutidos, biscoitos, sopas, molhos, iogurtes, complemento nutritivo na formulação de alimentos saudáveis, complemento flavorizante e funcional, (REFFATTI, et al., 2007) no enriquecimento de pães, em produtos tipo snacks, alimentação animal, espessantes, realçadores de sabor e substituto de gorduras (MOHORCIC, et al., 2007).

Diante dessas considerações objetivou-se, neste trabalho, o emprego do soro de leite bovino em diferentes concentrações na produção de biomassa e proteína microbiana a partir da levedura *Kluyveromyces marxianus* 229, avaliando a influência do cultivo do microrganismo na diminuição da carga poluidora do soro.

2. METODOLOGIA

2.1. Obtenção do soro doce de leite Bovino:

Todo o experimento foi conduzido nos laboratórios de físico-química e microbiologia da Faculdade de Tecnologia de Alimentos, FATEC-Marília/SP.

O soro de leite bovino foi obtido a partir do leite em pó integral e industrializado, adquirido no comércio local, a partir da coagulação das caseínas a 35°C utilizando coalho produzido por cepa de *Aspergillus niger* (quimosina), obtido também, comercialmente.

* O seu uso na indústria alimentícia, é considerado seguro segundo o FDA (Food and Drug Administration).

2.2. Linhagem de microrganismos:

O microrganismo utilizado para estudo da produção de biomassa foi a linhagem da levedura *Kluyveromyces marxianus* 229 adquirida junto ao Departamento Bioquímico e Microbiológico da Unesp de Rio Claro-SP. Com o objetivo de manter viáveis as células da levedura, realizou-se repiques a cada 20 dias, em média, desde a sua obtenção; incubando-as em tubo de ensaio com ágar inclinado contendo meio de cultura PCA (Plate Count Agar) em incubadora, a 28°C por 24 horas, conforme o indicado no Manual e Métodos de Análises microbiológicas (Silva, et al., 2007).

2.3. Diluições:

Baseando-se em estudo anterior (MURARI et al. 2011) testou-se as diluições 1:2; 1:3; 1:4 e 1:5, de soro doce bovino em água destilada, a fim de selecionar qual a melhor concentração deste para a obtenção mais eficiente de biomassa pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229.

2.4. Análise Centesimal e Física do soro de leite bruto:

Análise de cinzas

A análise de cinzas (utilizando mufla 550°C), foi realizada conforme descrito no Instituto Adolfo Lutz, (2005).

Determinação de proteínas

A determinação de proteínas foi realizada pelo método de Biureto, com leitura em espectrofotômetro (FEMTO MOD 700S) a 540nm segundo Instituto Adolfo Lutz, (2005), acrescentando iodeto de potássio à solução de NaOH 10%.

Determinação de carboidratos

A determinação de carboidratos foi realizado pelo método de ADNS, ácido 3,5-dinitrossalicílico, com leitura em espectrofotômetro a 540nm de acordo com o indicado por Miller (1959).

2.5. Obtenção da Biomassa microbiana:

2.5.1. Fermentação do soro de leite Bovino:

Padronizou-se o pH dos meios de cultura (soro de leite) para 3,50 antes da esterilização em autoclave a 121°C por 5 minutos para evitar a reação de Maillard com ácido sulfúrico 1 mol/L, e este também serve de fonte de enxofre, conforme o indicado por Ogradowski (2006).

A levedura *Kluyveromyces marxianus* foi cultivada em soro de leite nas diferentes diluições descritas no item 2.3.

As fermentações foram conduzidas em incubadora (MARCONI MA R20) com agitação orbital a 180 rpm a 28°C. Iniciando-se a fermentação em tubos de ensaio com uma quantidade de soro de leite diluído de 5 mL e concentração de inóculo na ordem de 10^6 cel/mL. Após 48 horas de fermentação o meio fermentado contido nos tubos de ensaio foi transferido para frascos erlenmeyers contendo 30 mL do soro de leite estéril e após 24 horas estes foram passados, para frascos erlenmeyers contendo 300 mL do soro estéril. Totalizando 120 horas de fermentação.

Após o término das fermentações foram feitas coletas de amostras para a contagem através da câmara de Neubauer das leveduras nos soros fermentados. Estes foram submetidos a centrifugação (3500 rpm por 10 minutos), obtendo-se o sobrenadante e a biomassa microbiana. A biomassa total obtida de cada diluição foi lavada com solução de EDTA 0,05% e água destilada, centrifugada novamente e em seguida pesada em balança semi-analítica (VEHAKA AG-200) para a realização das análises de proteína e biomassa seca.

2.6. Análise de crescimento Microbiano:

2.6.1 Contagem através de plaqueamento em profundidade e em câmara de Neubauer:

A contagem do inóculo inicial foi realizada através de plaqueamento em profundidade em meio PCA, conforme descrito no Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos, 2007. A contagem das células após a fermentação do soro de leite pela levedura *Kluyveromyces marxianus* foi realizada através da técnica de contagem em câmara de Neubauer, utilizando corante azul de metileno.

2.6.2. Biomassa Seca:

Para a caracterização da biomassa seca obtida após a fermentação foram realizadas análises de massa seca (estufa 105°C), conforme o descrito pela AOAC (Association of Analytical Chemistry, Official methods of Analysis), 2002.

2.7. Proteína Intracelular, obtida por digestão da célula:

A análise de proteínas por *Kjeldahl* baseou-se na *metodologia da ANFAR (Métodos Analíticos de Controle de Alimentos para uso Animal, 1992)*, adaptada pelo método de *Kjeldahl modificado (Instituto Adolfo Lutz, 2005)*, a partir da hidrólise prévia da célula de levedura seguida de quantificação protéica.

2.8. Sobrenadante após a fermentação:

Para a caracterização do sobrenadante obtido pós fermentação foram realizadas análises de Cinzas (mufla 550°C), conforme Instituto Adolfo Lutz, (2005), Proteínas pelo método de Biureto, com leitura em espectrofotômetro (FEMTO MOD 700S) a 540nm) como descrito no Instituto Adolfo Lutz (2005), e Carboidratos (ADNS, ácido 3,5-dinitrossalicílico, com leitura em espectrofotômetro a 540nm) segundo Miller, (1959).

2.9. Análise estatística:

Todos os procedimentos foram realizados em triplicata, para todas as amostras. Os dados amostrais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey e Kramer através do programa GRAPHPAD INSTAT (Rutgers University, Camden, New Jersey, 1995). Os tratamentos foram considerados significativos para $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análise Centesimal e Física do Soro de Leite

Tabela 1. Caracterização dos parâmetros físicos e químicos do soro de leite doce bovino obtido antes da fermentação.

Table 1. Characterization of physical and chemical parameters of the bovine sweet whey obtained before fermentation.

Parâmetros	Soro Doce Bovino			
	Diluição 1:2	Diluição 1:3	Diluição 1:4	Diluição 1:5
pH Inicial	6,20 ± 0,10	6,19 ± 0,10	6,18 ± 0,10	6,16 ± 0,10
Carboidratos	3,2% ± 0,10	2,5% ± 0,05	1,9% ± 0,01	1,6% ± 0,04
Proteínas	0,59% ± 0,03	0,44% ± 0,005	0,35% ± 0,005	0,29% ± 0,01
Cinzas	0,54% ± 0,07	0,445% ± 0,005	0,44% ± 0,01	0,26% ± 0,03

*Base seca

De acordo com Antunes, (2003), o soro de leite é considerado um subproduto de elevado valor nutricional, sendo composto por aproximadamente 4,6% lactose, 0,8% de proteína, 0,5% de gordura, 0,5 - 0,8% de matéria mineral e 0,2 - 0,8% de ácido láctico.

O pH do soro de leite doce bovino, encontrou-se semelhante ao da literatura, apresentando-se em torno de 6,0. Valores semelhantes foram discutidos por Murari, et al. (2011) ao analisarem o soro doce de leite bovino e bubalino.

O teor protéico encontrou-se semelhante ao descrito por Antunes, (2003), embora abaixo do citado pelos autores Murari, et al. (2011), que encontraram valores de 2,00% de proteína, utilizando metodologia de quantificação protéica diferente do presente estudo.

Em relação à concentração de carboidratos, o soro de leite doce bovino apresentou resultados maiores quando comparados com Murari, et al. (2011), que encontraram 1,5% de lactose no meio 3x diluído.

O soro doce bovino apresentou teor de cinzas maior (0,54%) quando comparado ao trabalho de Murari et al. (2011), que encontraram 0,20%, resultado que pode ter sido influenciado pela diferença na padronização do leite industrializado utilizado.

Todos os resultados apresentados na Tabela 1 foram diminuindo sua concentração conforme a diluição do meio, o que era esperado.

3.2. Cultivo da levedura *Kluyveromyces marxianus* 229 em meios formulados com soro doce de leite bovino.

Tabela 2. Concentração inicial, final e consumo de lactose em meios formulados com soro de leite e fermentados por *Kluyveromyces marxianus* 229.

Table 2. Initial concentration, final and consumption of lactose in media formulated with whey and fermented by *Kluyveromyces marxianus* 229.

Diluições	Concentração Inicial (Soro de leite) (%)	Concentração Final (Sobrenadante) (%)	Consumo Total (%)
1:2	3,2 ± 0,10	0,043 ± 0,002	98,60
1:3	2,5 ± 0,05	0,032 ± 0,0005	98,72
1:4	1,9 ± 0,01	0,0265 ± 0,001	98,60
1:5	1,6 ± 0,04	0,023 ± 0,002	98,56

A Tabela 2 mostra que não houve diferença estatística entre os quatro meios testados, quanto ao consumo de lactose realizado pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229, após a fermentação (Tukey, P>0,05).

Murari et al. (2011), também trabalhando com soro doce de leite bovino (não diluído, diluído 1:1 e 1:2) para o cultivo de *Kluyveromyces marxianus* 229 obtiveram como melhor resultado o consumo de 96,8% da lactose no soro diluído 1:2.

Tabela 3. Concentração inicial, final e consumo de proteína em meios formulados com soro de leite e fermentados por *Kluyveromyces marxianus* 229.

Table 3. Initial concentration, final and consumption of protein in media formulated with whey and fermented by *Kluyveromyces marxianus* 229.

Diluições	Concentração Inicial (Soro de leite) (%)	Concentração Residual (Sobrenadante) (%)	Consumo (%)
1:2	0,59 ± 0,03	0,20 ± 0,005	66,10 ± 0,005
1:3	0,44 ± 0,005	0,18 ± 0,005	59,09 ± 0,005
1:4	0,35 ± 0,005	0,14 ± 0,005	60,00 ± 0,005
1:5	0,29 ± 0,01	0,11 ± 0,005	62,06 ± 0,03

Na diluição 1:2 a concentração inicial de proteína foi 103% maior quando comparada a diluição 1:5 (Tabela 3). Na menor diluição a célula produziu maior quantidade de proteína e teve um consumo protéico 6,5% maior quando comparado a diluição 1:5 e 10% maior quando comparado a diluição 1:4, sendo essa diferença significativa (Tukey, $p < 0,05$). Murari et al. (2011), mostraram resultado semelhante ao consumo protéico em soro de leite diluído 1:2. Esse fato pode ser explicado, pois, de acordo com Rech, (1998), em um meio com maior concentração de substratos, a levedura pode realizar proteólise mais intensamente a fim de suprir suas necessidades metabólicas.

Tabela 4. Concentração inicial, final e consumo de minerais em meios formulados com soro de leite e fermentados por *Kluyveromyces marxianus* 229.

Table 4. Initial concentration, final and consumption ash in media formulated with whey and fermented by *Kluyveromyces marxianus* 229.

Diluições	Concentração Inicial (Soro de leite) (%)	Concentração Residual (Sobrenadante) (%)	Consumo (%)
1:2	0,54 ± 0,07	0,22 ± 0,02	59,25 ± 0,005
1:3	0,445 ± 0,005	0,16 ± 0,04	64,04 ± 0,005
1:4	0,44 ± 0,01	0,11 ± 0,02	75,00 ± 0,005
1:5	0,26 ± 0,03	0,12 ± 0,02	53,84 ± 0,005

De acordo com a Tabela 4, na diluição 1:4 houve o maior consumo de conteúdo mineral pela *Kluyveromyces marxianus* 229, sendo este de 75%. Nesta diluição o consumo de minerais foi 39% maior, quando comparado à diluição 1:5.

Sendo assim, o reaproveitamento do soro de leite doce bovino, se mostrou eficiente, sendo uma alternativa viável para a diminuição da poluição ambiental, já que houve, redução de cinzas, proteína e carboidrato neste subproduto, conforme o indicado nas tabelas, 2; 3 e 4.

Tabela 5. Crescimento Celular Inicial; Final e Crescimento Total em ciclos logarítmicos da levedura *Kluyveromyces marxianus* 229 após ser cultivada em diferentes diluições de soro bovino.

Table 5. Initial cell growth; endl and total logarithmic cycles in the yeast *Kluyveromyces marxianus* 229 after being grown in different dilutions of bovine serum.

Diluições	Inóculo Inicial (Soro de Leite) (x10 ⁶ .UFC/ mL)	Inóculo Final (Sobrenadante) (x10 ⁸ UFC/ mL)	Crescimento Total (Ciclos Logarítmicos)
1:2	1,63	1,98	2,28
1:3	1,44	1,99	2,24
1:4	1,15	2,03	2,29
1:5	1,49	1,27	2,10

O inóculo inicial do soro de leite doce bovino foi na ordem de 10⁶ células/mL e após a fermentação o inóculo atingiu a ordem de 10⁸ células/mL de meio. Resultado

proporcional foi encontrado por Silva & Castro-Gomes (1995), onde houve um aumento de 10^7 células/g do produto para 10^9 células/g, durante o processo fermentativo.

A Tabela 5 mostra a média do crescimento do número de células microbianas pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229. O maior valor absoluto expresso em ciclos logarítmicos foi obtido na diluição 1:4. Entretanto, a diluição 1:5 corresponde a apenas 83% de solutos no meio de cultivo quando comparada com 1:4, assim o crescimento proporcional para a maior diluição seria de 1,9 ciclos logarítmicos. Dessa forma, é possível verificar que houve aumento de 10% do valor esperado no crescimento na diluição 1:5 quando comparada a diluição 1:4. Quanto ao parâmetro crescimento celular a maior diluição do soro doce bovino foi mais viável do que a 1:4. A alta concentração de substrato pode ser inibidora para o crescimento microbiano, desse modo, quanto mais diluído o meio, melhor o crescimento celular (URGEL et al., 2001). Fazendo o mesmo tipo de comparação entre os meios 1:5 e 1:2, era esperado que na maior diluição fosse encontrado apenas 50% de 2,28 ciclos logarítmicos de crescimento (1,14), entretanto, houve aumento de 84% do crescimento celular esperado na maior diluição (2,10 ciclos logarítmicos).

A agitação de 180rpm em incubadora orbital auxiliou o crescimento exponencial de células de *Kluyveromyces marxianus*, pois de acordo com Souza & Ribeiro, (2004), a agitação implica em um maior crescimento celular uma vez que as leveduras são microrganismos anaeróbios facultativos, e no metabolismo aeróbio o saldo energético é maior.

Murari et al. (2011), obtiveram maior crescimento do número de células de *Kluyveromuces marxianus*, de 3,52 ciclos logarítmicos, no meio diluído 1:2, resultado este maior do que o encontrado no presente estudo, que pode ser justificado, devido a incubação ter sido conduzida sob uma agitação de 350rpm.

Tabela 6. Biomassa seca total e Produtividade de Biomassa Seca após o cultivo em soro de leite doce bovino de *Kluyveromyces marxianus* 229.

Table 6. Total biomass and productivity of dry biomass after culturing in sweet whey bovine of *Kluyveromyces marxianus* 229.

Diluições	Total de Biomassa seca (%)	Produtividade de Biomassa seca (g/L)
1:2	23,1011 ± 0,26	1,91
1:3	23,1011 ± 0,10	1,84
1:4	23,1197 ± 0,34	1,93
1:5	21,9272 ± 0,45	1,56

A Tabela 6 mostra que o maior valor absoluto de produtividade de biomassa seca foi obtido em meio 1:4 diluído. Neste parâmetro, na diluição 1:5 houve uma diminuição de 2,5% da produtividade de biomassa seca esperada (1,6) em relação a diluição 1:4, mostrando o emprego desta última diluição ser mais viável. Fazendo o mesmo tipo de comparação, entre as diluições 1:4 e 1:2, houve um aumento do valor esperado de 103% na maior diluição, ou seja, com uma concentração menor de soro tem-se uma maior produtividade de biomassa seca de levedura.

Após 10 horas de fermentação, Santiago et al. (2004), obtiveram uma concentração celular de 4,0g/L utilizando *Kluyveromyces marxianus* em soro de leite, resultado maior do que o obtido neste estudo, esta diferença pode ser justificada pelo maior inóculo inicial utilizado (10^7 cel/ g do produto), já que em crescimento celular por ciclos logarítmicos foi semelhante ao atual trabalho.

Ogrodowski (2006), obteve resultados de 8,0 e 11,0 g/L de biomassa seca com concentração inicial de 5 e 12%, respectivamente, de lactose no soro de leite, utilizando sistema em batelada alimentada e biorreator. Sendo este resultado também maior ao obtido no atual estudo que trabalhou com menores concentrações de lactose e alimentação em batelada pelo sistema "in vitro", diferentes condições de cultivo e linhagem de levedura.

Os resultados obtidos no presente estudo foram semelhantes ao encontrado por Grba, et al., (2002), ao trabalharem com *Kluyveromyces marxianus*, sendo este de 1,55 g/L, considerado pelo autor uma produtividade de biomassa baixa justificada pela concentração inicial de lactose, também ter sido baixa.

Belem & Lee (1998), também encontraram resultados semelhantes, ao trabalharem com *Kluyveromyces fragilis* em fermentação de soro de leite por batelada alimentada, sendo este de 2,4 g/L.

Tabela 7. Proteína intracelular total e a Produtividade de proteína após o cultivo em soro de leite doce bovino de *Kluyveromyces marxianus* 229.

Table 7. Productivity total intracellular protein and protein after culturing in sweet whey bovine of *Kluyveromyces marxianus* 229.

Diluições	Total de Proteína Intracelular * (%)	Produtividade de Proteína Intracelular * (g/L)
1:2	27,6 ± 3,07	0,53
1:3	18,30 ± 0,86	0,34
1:4	14,15 ± 1,85	0,27
1:5	16,46 ± 2,10	0,26

*baseado na massa seca

A Tabela 7 mostra a média da produtividade de proteína intracelular pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229. O maior valor absoluto foi obtido na menor diluição, entretanto, o aumento da diluição dos meios foi proporcional aos menores valores de produtividade protéica obtidos. No meio 1:2 houve maior consumo de proteína pela levedura como citado anteriormente e conseqüentemente maior produtividade, assim quanto a este parâmetro isolado compensaria o emprego desta diluição. Entretanto, nos parâmetros crescimento celular e produtividade de biomassa, as diluições 1:4 e 1:5 mostraram-se mais vantajosas.

Os resultados encontrados no presente estudo diferenciaram-se dos resultados encontrados por Murari et al. (2011), que obtiveram, utilizando cepa de *Kluyveromyces marxianus*, uma produção de proteína intracelular de 4,5 g/L. Sendo este resultado maior, ao obtido no presente trabalho, devido a concentração inicial de proteína do soro no trabalho de Murari et al. (2011) ser 10 vezes maior, resultando em uma produtividade protéica também maior.

Em estudo conduzido por Anupama & Ravindra, (2000) obteve-se, utilizando cepa de *Sacharomyces cerevisiae*, uma produção de proteína da biomassa de 2,29

g/L. Resultado este maior, ao obtido no presente estudo, justificado pela concentração protéica inicial 30% maior.

A reutilização do soro de leite bovino para produção de biomassa reduz o seu descarte em corpos d'água e conseqüentemente auxilia para a diminuição da poluição ambiental, ademais a biomassa microbiana produzida pode ser incorporada em vários tipos de produtos alimentícios como embutidos cárneos, sopas, massas e molhos por ser de baixo teor de lactose e alto teor protéico.

4. CONCLUSÕES

A levedura *Kluyveromyces marxianus* 229, em meios de cultivos formulados com soro de leite doce bovino, em diferentes diluições, apresentou crescimento celular e produção de biomassa satisfatória de acordo com o sistema de fermentação utilizado (Batelada Alimentada) nos meios de cultura mais diluídos. A produtividade protéica foi maior meio 1:2 diluído, pois houve neste meio maior consumo protéico.

Este tipo de aproveitamento do soro de leite se mostrou eficiente, sendo uma alternativa viável para a diminuição da poluição ambiental, já que houve, a redução de cinzas, proteína e carboidrato neste subproduto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, E.S.; CABALLERO, N.D.. Tratamento do efluente da indústria de queijos por processos biológicos e químicos. Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, *Tese de Doutorado*. Instituto de Química, Dezembro de 2004.

ALVES, R.L.D.; MARTINS, D.D.S. Projeto da Rede de Captação Logística do Soro de Queijo Produzido no Estado de Minas Gerais. *Tese de mestrado*. VIÇOSA, 2005.

ANFAR – *Métodos Analíticos de Controle de Alimentos para uso Animal-Ministério da Agricultura e Reforma Agrária*; São Paulo, 1992.

ANTUNES, A.J. *Funcionalidade de Proteínas do Soro de Leite Bovino*, editora Manole, p. 22, 2003.

ANUPAMA, M., RAVINDRA, P. Value-added food: single cell protein. *Biotechnology Advances*, New York, v.18, n.6, p.459-479, 2000.

AOAC. Association of Analytical Chemistry, Official methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry. 15. ed., 2002.

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

BELEM, M. A. F.; LEE, B. H. Production of bioingredients from *Kluyveromyces marxianus* grown on whey: an alternative. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.38, n.7, p.565-598, 1998.

BONATO, E.P., HELENO, G.J.B e HOSHINO, N.A. - Leites Fermentados, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico - *Departamento de Engenharia Química e Alimentos* – Florianópolis, 2006.

COSTA, A.M.G. Desempenho de Filtro Anaerobio no Tratamento de Efluente Formulado com Diferentes Concentrações de Soro de Queijo; Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Viçosa – *Ciência e Tecnologia em Alimentos*, Minas Gerais, 2008.

CAZETTA, L.M; CELLIGOI, M.A.P. C - Aproveitamento do melaço e vinhaça de cana-de-açúcar como substrato para produção de biomassa protéica e lipídica por leveduras e bactéria - *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, Londrina, v. 26, n. 2, p. 105-112, jul./dez. 2005.

DELLAMATRICE, P.M. Biodegradação e Toxicidade de Corantes Têxteis e Efluentes da Estação de Tratamento de Águas Residuárias de Americana, SP. *Tese de Doutorado*. Escola Superior de Agronomia “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP. Piracicaba, 137 p 2005.

DINIZ, R.H.S. Metabolismo de Lactose em *Kluyveromyces marxianus* UFV-3 e *Kluyveromyces lactis* JA6. *Universidade Federal de Viçosa*, Minas Gerais, 2009.

FONSECA, G. G.; HEINZLE, E.; WITTMANN, C.; GOMBERT, A. K. The yeast *kluyveromyces marxianus* and its biotechnological potential. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2008.

GRBA, S.; STEHLIK-TOMAS, V.; STANZER, D.; VAHEIÉ, N.; SKRLIN, A. Selection of yeast strain *Kluyveromyces marxianus* for alcohol and biomass production on whey. *Chemistry Biochemistry Engeneering*, v.16, n.1, p.13-16, 2002.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ- Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz. v.1: Método químicos e físicos para análises de alimentos, 4. ed. São Paulo, ed. MS. p. 102 – 125., 2005.

LACHANCE, M. A. Current status of *Kluyveromyces* systematic. *FEMS Yeast Research*, 2007.

LIRA, et al. Microfiltração do soro de leite de búfala utilizando membranas cerâmicas como alternativa ao processo de pasteurização. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 2009.

MILLER, G.H. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* v.31, p.426-429, 1959.

MOHORCIC, M.; FRIEDRICH, J.; RENIMEL, I.; ANDRÉ, P.; MANDIN, D.; CHAUMONT, J. Production of melanin bleaching enzyme of fungal origin and its application in cosmetics. *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 2007.

MURARI, C.S.; VIDOTTI, D.; DORTA, C.; OTOBONI, A.M.M.B. Emprego do soro de leite bovino e bubalino para produção de biomassa pela levedura *Kluyveromyces marxianus* 229. *Revista Analytica*, p 48 a 64, março, 2011.

OLIVEIRA, V. M. Formulação de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro: caracterização físico-química, análises bacteriológicas e sensoriais. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal Fluminense. Niterói, Rio de Janeiro, 2006.

OGRODOWSKI, R. Produção de Biomassa a partir do Soro de Queijo para Obtenção de Ribonucleotídeos. *Tese de Doutorado* - Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

ORDÓÑEZ, J. A. *Tecnologia de alimentos*, vol.II /Alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed, p 279, 2005.

PELEGRINE, D. H. G. & CARRASQUEIRA, R. L. Aproveitamento do soro do leite no enriquecimento nutricional de bebidas. *Braz. J. Food Technol.*, VII BMCFB, 2008.

PELIZER, L. H.; PONTIERI, M. H.; MORAES, I. de O. Utilização de resíduos agroindustriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. *J. Technol.Manag. Innov.*, 2007.

RECH, R. Aproveitamento do soro de queijo para a produção de lactase por *Kluyveromyces marxianus*. *Tese de Mestrado*, Faculdade de Engenharia Química, UFRGS. 1998.

REFFATTI, P.F.; AGUIAR, C.M., BARRETO-RODRIGUES, M. Estudo da Bioconversão de Resíduos Agroindustriais Lignocelulósicos por *Lentinula Edodes*: Produção e Caracterização de Proteína Unicelular. Universidade Federal do Paraná. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, Ponta Grossa Paraná, v.01, n 01: p 1-8, 2007.

REVILLION, J.P.; BRANDELLI, A.; AYUB, M.A.Z. Production of yeast extracts from whey for food use: market and technical considerations; *Cienc. Tecnol. Aliment.*, vol.20, no.2, p.246-249, 2000.

ROEPCKE, C. B. S. & SOCCOL, C. R. Desenvolvimento de Bioprocesso para Produção de Biomassa de Levedura Rica em Zinco Orgânico. Curitiba, 2007.

SABRA, G. Aproveitamento biotecnológico do soro de queijo para produção de proteína microbiana por *Kluyveromyces marxianus*, *Dissertação de Mestrado*, Universidade de Mogi das Cruzes, 2004.

SANTIAGO, P.A.; MARQUEZ, L.D.S.; CARDOSO, V.L.; RIBEIRO, L.J. ESTUDO DA PRODUÇÃO DE β -GALACTOSIDASE POR FERMENTAÇÃO DE SORO DE QUEIJO COM *Kluyveromyces marxianus*. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 24(4): 567-572, out.-dez. 2004.

SERPA, L. PRIAMO, W. L.; REGINATTO, V. Destino Ambientalmente Correto a Rejeitos de Queijaria e Análise de Viabilidade Econômica. 2nd International Workshop | *Advances in Cleaner Production*, 2009.

SGARBIERI, V.C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. *Revista de Nutrição*, 2008.

SILVA, C.A. da & CASTRO-GÓMEZ, R.J.H. Estudo de um processo fermentativo utilizando soro de leite e a levedura *Kluyveromyces fragilis*. Semina: Ci. Agr., Londrina, v.16, n.1, p. 17-21. 1995.

Silva, et al., Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 3 ed. – São Paulo:, 552p., 2007.

SILVEIRA, R.F. - Produção de Etanol por Leveduras em Biorreatores com Células Livres e Imobilizadas Utilizando Soro de Queijo. 2006. 131f. *Dissertação Mestrado*– Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 2006;

SOUZA, G.D.B. & RIBEIRO, E.J. *Influência da aeração na síntese de b-galactosidase por fermentação com Kluyveromyces marxianus*. Universidade Federal de Uberlândia, 2004.

URGEL, A. L., AQUARONE, E., BORZANI, W.,SCHIMIDELL,W., Biotecnologia Industrial- Processos fermentativos e enzimáticos, ed. Blucher, vol. 3, p. 12, São Paulo, 2001.

SELEÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS FERMENTADORES DE XILOSE

Caroline JULIANI¹, Cláudia DORTA², Fernanda Bassetto BRONZATTO¹

¹ Alunos / Fatec Marília / Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza/ Marília / SP / Brasil

² Professora / Fatec Marília / Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza / Marília / SP / Brasil

Endereço para correspondência: claudiadorta@bol.com.br

RESUMO

O bagaço de cana e outros subprodutos agroindustriais são uma importante fonte de materiais celulósicos e hemicelulósicos, que podem ser quebrados em açúcares fermentescíveis, com predomínio de glicose e xilose. A glicose é convertida em etanol com alta eficiência por leveduras como a *Saccharomyces cerevisiae*. Entretanto, estas leveduras e a grande maioria dos micro-organismos não são capazes de produzir etanol a partir da xilose. O presente estudo procurou isolar micro-organismos fermentadores deste açúcar (xilose) a partir de matérias primas como madeira em decomposição (zona rural de São Manuel-SP), rúmen de boi (Região de Marília – SP), compostagem (Região de Marília-SP) e silagem de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) (Região de Marília-SP). Assim, alíquotas destes materiais foram semeadas em meios sólidos e líquido contendo xilose, como única fonte de carboidrato. Os micro-organismos destes cultivos foram pré-identificados por microscopia óptica e coloração de Gram. Foram observados no decorrer da pesquisa o consumo de xilose e concentração etanólica do mosto de fermentação. Os micro-organismos isolados foram bactérias Gram-positivas, as quais apresentaram consumo de xilose significativo, mas não produziram etanol na fermentação, podendo este consumo ter resultado em diversos produtos como xilitol, glicerol, ácidos orgânicos e produção de biomassa celular.

Palavras-chave: fermentação, pentoses, álcool, seleção microbiana.

MICROORGANISMS SELECTION FERMENTERS OF THE XYLOSE

ABSTRACT

The sugar cane bagasse and other agro-products are an important source of cellulosic and hemicellulose materials, which can be broken down, predominantly, into glucose and xylose fermentable sugars. Glucose is converted to ethanol with high efficiency by yeasts such as *Saccharomyces cerevisiae*. However, these yeasts and most of the micro-organisms are not able to produce ethanol from xylose. This study attempted to isolate fermenting micro-organisms of this sugar (xylose) from raw materials such as decaying wood (rural area of San Manuel-SP), cattle rumen (region of Marília - SP), composting (Marília-Region SP) and sugar cane silage (the region of Marília-SP). Thus, rates of these materials were grown on solid media and liquid containing xylose as the only source of carbohydrate. Microorganisms of these cultures were pre-identified by optical microscopy and Gram staining. During the research it was observed the xylose consumption and ethanol concentration of grape must fermentation. The micro-organisms isolated were gram-positive bacteria, which showed significant consumption of xylose, but there wasn't an ethanol production during fermentation, which may have resulted in many consumer products such as xylitol, glycerol, organic acids and production of cell biomass.

Keywords: fermentation, pentose, alcohol, microbial selection.

INTRODUÇÃO

Na última década, o interesse em biocombustíveis tem crescido significadamente em todo mundo. O Brasil foi o pioneiro no desenvolvimento de tais fontes alternativas de energia desde 1975, que em seguida foram repetidas por outros países europeus e mais intensamente pelos Estados Unidos. Atualmente, Estados Unidos e Brasil são os países que produzem maior quantidade de etanol como biocombustível, com tecnologias estabelecidas a partir do milho (glicose) e da cana-de-açúcar (sacarose), respectivamente. Aliado ao problema da poluição gerada por combustíveis fósseis e o aumento do preço do petróleo, tem-se proposto o uso desses biocombustíveis, principalmente o etanol (RODRÍGUEZ et al., 2009).

Toda a produção mundial de biocombustíveis baseia-se hoje nas chamadas tecnologias de primeira geração, o que significa produção de etanol a partir de açúcares ou amidos (cana, beterraba, milho, trigo, mandioca) e biodiesel de óleos vegetais ou gordura animal (soja, mamona, dendê, sebo, óleo de fritura). Estão em desenvolvimento várias tecnologias que utilizam os materiais lignocelulósicos como matérias-primas (resíduos agroflorestais, madeira de florestas plantadas, culturas energéticas de curto ciclo, lixo urbano), que são mais baratos mais abundantes e podem ser produzidos nas mais variadas condições de solo e clima (LEITE e LEAL, 2007).

A necessidade de potencializar a redução de custos aliado ao desenvolvimento tecnológico do etanol a partir do material lignocelulósico deve-se estes processos que são de grande importância para que o etanol se transforme, no futuro, em uma opção energética forte: os países de regiões temperadas não teriam outro modo de tornarem-se produtores, com custos aceitáveis (MACEDO, NOGUEIRA; 2004).

O material lignocelulósico é composto aproximadamente de 50% de celulose, 25% de hemicelulose e 25% de lignina e para liberar açúcares fermentescíveis é necessária sua hidrólise (PANDEY et al., 2000). A celulose é composta por moléculas de glicose. A lignina é um polímero tridimensional, composto por unidades de fenilpropano de alto peso molecular depositado na forma amorfa ao redor das microfibrilas de celulose e atua como barreira microbiana da parede celular (JUNIOR, 1991) e a hemicelulose é um heteropolímero ramificada contendo hexoses (15%), pentoses (85%), ácidos urônicos e geralmente este é acetilado (RODRÍGUEZ et al., 2009). A hidrólise da hemicelulose fornece pentoses sendo a xilose o açúcar predominante, podendo compreender de 20% a 40% do total de carboidratos dos resíduos agrícolas (CARRION, 2010), carboidratos estes não diretamente fermentescíveis por leveduras industriais, sendo a biotransformação destas em etanol um dos desafios mais importantes a resolver no âmbito científico e tecnológico (ROSSEL, 2006).

Neste trabalho foram feitas tentativas de isolamento de micro-organismos fermentadores de xilose em etanol originados de diferentes materiais.

MATERIAL E MÉTODOS

1 Linhagens de micro-organismos

Linhagens de bactérias e leveduras foram isoladas do rúmen bovino proveniente de um frigorífico da região de Marília-SP, de madeira em decomposição que foi adquirida em uma área rural em São Manuel-SP, da silagem de cana de uma fazenda na região de Marília-SP e da compostagem retirada de uma horta localizada na cidade de Marília-SP.

2 Isolamentos de micro-organismos fermentadores de xilose do rúmen bovino

O rúmen bovino foi estriado em placas de petri com 20mL de meio de cultura (xilose 1%(p:v), Agar Nutriente 1,5%(p:v), peptona 0,5%(p:v), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,1%(p:v), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,001%(p:v), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,024%(p:v), K_2HPO_4 0,1%(p:v) e $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,003%(p:v)). Foi adicionado ao meio de crescimento solução de cloranfenicol (500 ppm) para inibir o crescimento de bactérias ou solução de cetoconazol (600 ppm) para inibir o crescimento de fungos. As placas foram incubadas a 30°C por 72 horas.

3 Isolamentos de micro-organismos fermentadores de xilose da silagem de cana, madeira em decomposição e de material de compostagem.

Foram inoculados 13g de silagem de cana, madeira em decomposição e material de compostagem em Erlenmeyers de 500mL contendo 300mL de meio de cultura (peptona 0,5%(p:v), MgSO_4 0,035%(p:v), K_2HPO_4 0,05%(p:v), Na_2HPO_4 0,05%(p:v), MnSO_4 0,001%(p:v), ZnSO_4 0,001%(p:v)), e incubado em agitador orbital (Mod. 140 Marconi) a 32°C com agitação a 170 rpm por 48 horas.

Após o cultivo, os meios fermentativos foram estriados em meio seletivo xilose (xilose 1%(p:v), peptona 0,5%(p:v), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,1%(p:v), $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0,1%(p:v), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,024%(p:v), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,001%(p:v), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,003%(p:v), Agar Nutriente 1,5%(p:v)), Cloranfenicol (500 ppm) ou cetoconazol (600 ppm) e as placas incubadas a 32°C por 62 horas.

4 Processo Fermentativo

Os micro-organismos obtidos no isolamento a partir das matérias primas (silagem de cana, rúmen bovino, madeira em decomposição e compostagem) foram submetidos a um processo fermentativo em meio contendo: xilose 2%(p:v), peptona 0,5%(p:v),

MgSO₄ 0,035%(p.v), K₂HPO₄ 0,05%(p:v), Na₂HPO₄ 0,05%(p:v), MnSO₄ . H₂O 0,01%(p:v), ZnSO₄ . 7H₂O 0,02%(p:v), com volume final de 8mL, pH 6,3 e incubados a 32°C por 48 horas. Em seguida foram coletadas amostras para a análise microbiológica e o meio fermentado foi centrifugado (1000g por 30 minutos) e o sobrenadante retirado para análise de concentração etanólica, pH e AR (açúcar redutor).

5 Métodos analíticos

5.1 Técnicas analíticas para análise microbiológica

5.1.1 Pré-identificação dos micro-organismos

A análise morfológica dos micro-organismos foram realizadas através de visualização em microscópio óptico (Marconi modelo MA107 série 06H15017) usando as objetivas 40x e 100x.

Após o isolamento, as bactérias obtidas no meio xilose foram submetidas à coloração de Gram. Esta técnica usada foi a adaptada por Freitas & Picoli 2007.

5.1.2 Método de contagem de microrganismos

A contagem microbiana foi feita no tempo zero de fermentação e também após cada processo fermentativo através de plaqueamento em superfície em meio meio xilose 0,2%(p:v) e em microscopia óptica em câmara de Neubauer usando as objetivas de 40x e 100x, respectivamente.

5.1.3 Determinação de açúcares redutores por ADNS

O consumo de xilose foi quantificado por ADNS (ácido dinitrossalicílico). Para esta determinação retirou-se 0,5mL da amostra diluída e adicionou volume igual de solução ADNS nos tubos de ensaio e estes foram fervidos durante 5 minutos. A amostra foi esfriada e em seguida adicionado 4mL de água destilada. (MILLER, 1959). Em seguida foi feita uma curva de calibração com diferentes concentrações de xilose (P.A. Labsynth). A leitura em espectrofotômetro (FEMTO MOD 600S) foi feita a 540nm. Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem (%).

5.1.4 Determinação da concentração de etanol

A concentração de etanol foi medida através de através do equipamento Desímetro (DMA-M) que realiza medição digital da densidade. A medida é baseada no método de tubo em U oscilante que foi criado pelo Dr. Hans Stabinger e Hans Dr. Leopoldo, no Instituto de Pesquisa Joanneum uma primeira introdução no mercado por Anton Paar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 Linhagens Microbianas

As linhagens microbianas isoladas de todas a fontes testadas, foram apenas bacterianas.

As linhagens isoladas do rúmen após o crescimento em meios sólidos contendo xilose foram treze: oito bastonetes Gram-positivos (R1, R2, R3, R4, R7, R9 e R11) e cinco cocos Gram-positivos (R5, R6, R8 e R10); todas as colônias apresentaram uma coloração branca. Segundo Costa (2006), as populações bacterianas do rúmen incluem micro-organismos digestores de celulose, de amido, de hemicelulose, fermentadores de açúcar, utilizadores de ácidos orgânicos, metanogênicos, bactérias proteolíticas e lipolíticas. O rúmen apresenta grande diversidade de espécies bacterianas, sendo que os gêneros predominantes são *Bacteróides*, *Prevotella*, *Fibrobacter*, *Ruminococcus*, *Succinomonas*, *Methanobacterium*, *Butyrivibrio*, *Selenomonas*, *Succinivibrio*, *Streptococcus*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, entre outras. A comunidade bacteriana desempenha papel fundamental na fermentação, podendo atingir até 10^{10} células por mL ou por g de disgesta.

As linhagens isoladas da silagem de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) após o crescimento em meio sólidos contendo xilose foram quatro: um bacilo Gram-positivo produtor de biofilme (S2), um bastonete Gram-positivo (S1) e dois estreptococos Gram-positivos (S3 e S4); as colônias apresentaram coloração variada algumas brancas e algumas amarelas. Segundo resultados da literatura existe na natureza o predomínio de bastonetes Gram-positivos produtores de xilanases e fermentadores de xilose. Partindo destes resultados parte dos microrganismos obtidos de bagaço de cana, provavelmente, são capazes de produzirem enzimas como hemicelulases, xilanases, celulases ou mesmo ligninases,

para extrair dos polímeros nutrientes assimiláveis como dissacarídeos e monossacarídeos (MORAES, PEREZ e DORTA, 2010). Segundo PANDEY et al. 2000, há uma variedade de micro-organismos que podem ser isolados a partir da matéria prima do bagaço de cana como *Candida tropicalis*, *Clostridium saccharoperbutylacetonicum*, *Klebsiella oxytoca*, *Pichia stipitis*, *Pleorotus sp. P7*, *Trichoderma reesei*, *Xanthomonas sp.*

As linhagens isoladas da madeira em decomposição após o crescimento em meio sólido contendo xilose foram três, sendo os três bastonetes curto Gram-positivos (M1, M2 e M3); todas as colônias apresentaram uma coloração branca.

As cepas isoladas da compostagem após crescimento em meio sólido contendo xilose foram três: dois bastonetes Gram-positivos (C1 e C3) e um bacilo gram-positivo (C2); as colônias apresentaram várias colorações sendo branca, púrpura e púrpura brilhante.

2 Crescimento Celular

Houve o crescimento de 11 linhagens bacterianas isoladas do rúmen de boi após 48 horas de fermentação em meio com xilose. O maior número de células foi obtido pelas linhagens R4, R7, R8 e R10, sendo representado por aumento de até 5,80 ciclos logarítmicos. (Tabela 1).

Tabela 1: Crescimento celular das linhagens bacterianas do rúmen do boi após 48 horas de fermentação em meio com 2% (p:v) de xilose.

Tipo de bactéria	Contagem inicial UFC/mL	Contagem final UFC/mL	Crescimento em ciclos logarítmicos
R1	43 X 10 ⁴	44,7 X 10 ⁸	4,02
R2	88 X 10 ⁴	49,20 X 10 ⁸	3,74
R3	200 x10 ⁴	45,6 X 10 ⁸	3,36
R4	196 X 10 ⁴	259,5 X 10 ⁸	5,80
R5	144 X 10 ⁴	180 X 10 ⁸	4,10
R6	96 X 10 ⁴	186 X 10 ⁸	4,29
R7	108 X 10 ⁴	2265 X 10 ⁸	5,32

R8	25 X 10 ⁴	202,8 X 10 ⁸	4,91
R9	340 X 10 ⁴	129,6 X 10 ⁸	3,58
R10	140 X 10 ⁴	367,2 X 10 ⁸	4,42
R11	224 X 10 ⁴	249,6 X 10 ⁸	4,04

Na Tabela 2 pode-se observar o crescimento das 4 linhagens bacterianas da silagem após 48 horas de fermentação em meio com 2% de xilose, havendo um aumento de até 5,46 ciclo logarítmico representado pela linhagem S3.

Tabela 2: Crescimento celular das linhagens bacterianas isoladas da silagem após 48 horas de fermentação em meio com 2% (p:v) de xilose.

Tipos de Bactéria	Contagem Inicial UFC/mL	Contagem Final UFC/mL	Crescimento em ciclos logarítmicos
S1	1,3X10 ⁴	14,6x10 ⁸	5,05
S2	388,5x10 ⁴	8,7x10 ⁸	2,35
S3	0,5X10⁴	14,5x10⁸	5,46
S4	22,9X10 ⁴	7,05x10 ⁸	2,49

Na madeira em decomposição, houve crescimento de 3 linhagens bacterianas após 48 horas de fermentação com meio xilose. A linhagem M3 foi a que obteve o maior número de células chegando a um aumento de até 5,36 ciclos logarítmicos (Tabela 3).

Tabela 3: Crescimento celular das linhagens bacterianas isoladas da madeira em decomposição após 48 horas de fermentação em meio com 2% (p:v) de xilose.

Tipo de Bactéria	Contagem Inicial 10⁴ X UFC/mL	Contagem final 10⁸ X UFC/mL	Crescimento em ciclos logarítmicos
M1	6,1X10 ⁴	24,8x10 ⁸	4,61
M2	7,4X10 ⁴	12,8x10 ⁸	4,23
M3	0,4X10 ⁴	9,2x10 ⁸	5,36

Existiu crescimento de 3 linhagens bacterianas isoladas da compostagem após 48 horas de fermentação em meio com xilose. A linhagem C1 foi a que obteve maior número de células chegando a um aumento de até 4,37 ciclos logarítmicos.

Tabela 4: Crescimento celular das linhagens bacterianas isoladas da compostagem após 48 horas de fermentação de fermentação em meio com 2% (p:v) de xilose.

Tipo de Bactéria	Contagem Inicial UFC/mL	Contagem final UFC/mL	Crescimento em ciclos logarítmicos
C1	3,4X10 ⁴	8,1x10 ⁸	4,37
C2	84,3X10 ⁴	3,8x10 ⁸	2,65
C3	54,4X10 ⁴	12,5x10 ⁸	3,36

Comparando o crescimento celular de todas as bactérias isoladas das diferentes fontes estudadas, a que obteve maior crescimento foi a R4 (do Rúmen).

3 Consumo de xilose

A figura 1 mostra a porcentagem de xilose consumida no meio após fermentação das onze linhagens bacterianas isoladas do rúmen bovino. A diferença da linhagem que mais consumiu xilose (R7) com a que menos consumiu (R10) foi de 56%. Ao comparar a Figura1 com a Tabela1 é possível observar que as linhagens que obtiveram maior crescimento não foram as que tiveram maior consumo de xilose, mostrando que estes microrganismos provavelmente convertem também outros nutrientes, como proteínas, em energia; ou mesmo que podem desviar mais xilose para a conversão de metabólitos como xilitol, entre outros, do que para biomassa, o que seria interessante se dentre estes fosse o etanol.

As Figuras 2, 3 e 4 mostram a porcentagem de xilose consumida no meio após fermentação das quatro linhagens bacterianas isoladas da silagem, três da madeira e três da compostagem, respectivamente. Assim, como observado para as linhagens isoladas do rúmen de boi, aquelas que tiveram um maior consumo de xilose, não tiveram o maior número de células.

O maior consumo de xilose ultrapassou 90% e foi obtido por C3, linhagem isolada da compostagem, mostrando uma boa adaptação metabólica desta para o consumo de xilose.

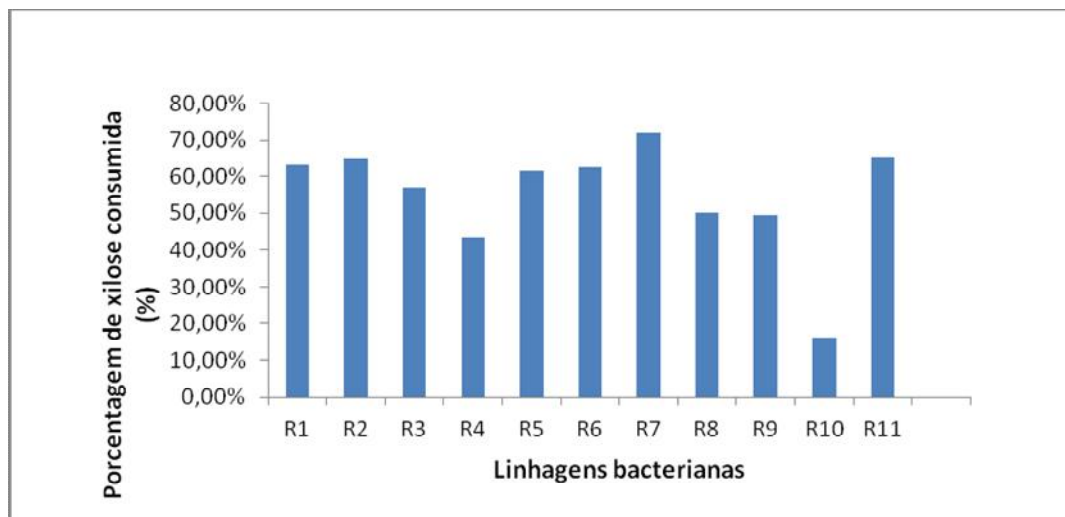


Figura 1. Porcentagem de xilose consumida no processo fermentativo de onze linhagens bacterianas isoladas do rúmen bovino.

Segundo BIER, et al. 2007 em seu trabalho pode ser observado que leveduras produtoras de xilitol mostraram inicialmente um consumo de xilose acelerado nas primeiras 24h de fermentação utilizando-se o pH 6,0, mostrando também que em pH 6,0 estas são eficientes para a produção de biomassa e na variação da concentração de xilose tornando-as constantes após 24h de fermentação. Em relação ao trabalho realizado, os parâmetros citados acima foram idênticos aos obtidos a este considerando o pH do meio de 6,3. Mostrando que não houve produção de etanol e que o consumo de xilose foi significativo, estes podem ter produzido diferentes metabólitos podendo ser um deles a produção de xilitol, assim através de um maior controle de pH e temperatura do meio os microrganismos irão resultar em diferentes produtos, podendo estes serem observados mais criteriosamente em pesquisas futuras.

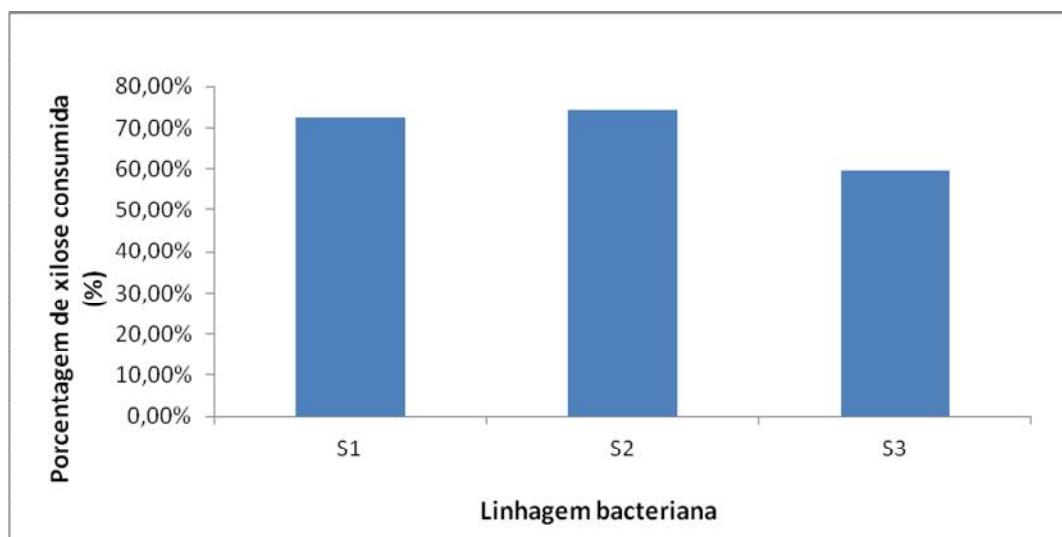


Figura 2. Porcentagem de xilose consumida no processo fermentativo de três linhagens bacterianas isoladas da silagem.

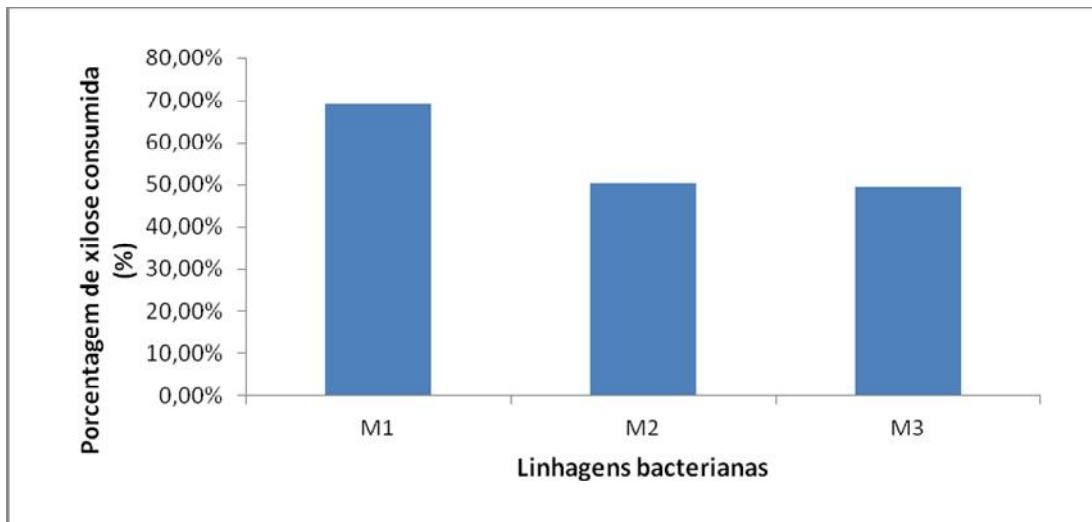


Figura 3. Porcentagem de xilose consumida no processo fermentativo de três linhagens bacterianas isoladas da madeira.

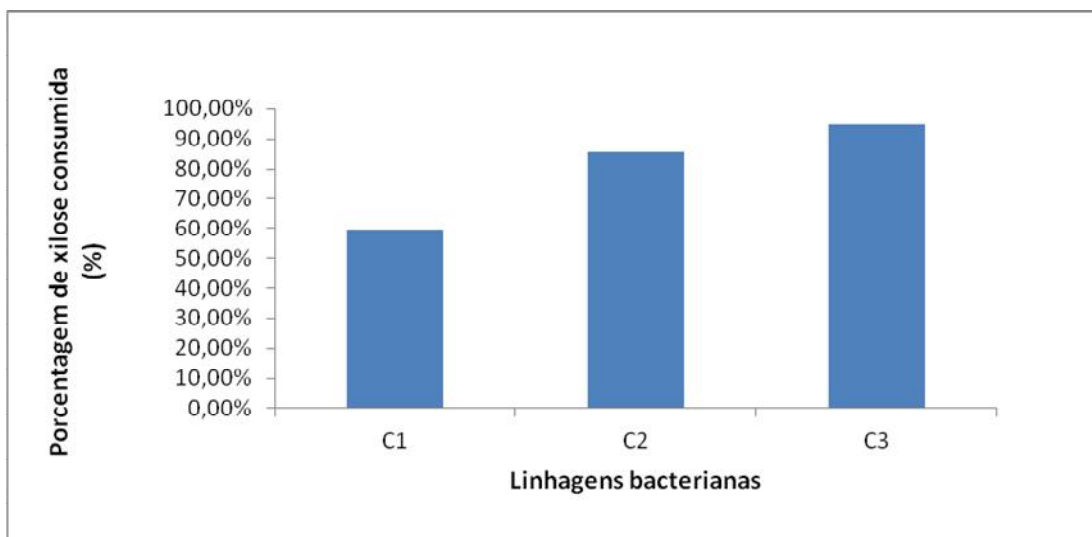


Figura 4. Porcentagem de xilose consumida no processo fermentativo de três linhagens bacterianas isoladas da compostagem.

4 Concentração etanólica

Nenhuma das linhagens bacterianas isoladas produziu etanol em quantidades significativas após a fermentação de xilose. Apesar de algumas linhagens apresentarem grande consumo de xilose, estas não conseguiram convertê-la em

etanol. Segundo a literatura, a xilose também pode ser fermentada pelos microorganismos para obtenção de xilitol, ácidos orgânicos, glicerol e produção de biomassa (MATOS et al., 2003; PANDEY, 2000) o que provavelmente pode ter ocorrido neste trabalho. Seria interessante submeter o mosto fermentado pelas diferentes linhagens isoladas a análise destes outros metabólitos, já que estes também têm importância econômica e aplicação em indústrias de alimentos, químicas e farmacêuticas. Por exemplo, a linhagem C3, poderia ser uma boa produtora destes outros metabólitos economicamente importantes, já que foi a que mais consumiu o açúcar e não produziu tanta biomassa.

Segundo Moraes, Perez e Dorta (2010), no trabalho realizado por estes, as linhagens de bactérias Gram-positivas isoladas de bagaço de cana-de-açúcar mostraram maior potencial fermentativo e seu rendimento etanólico foi semelhante ao de outros pesquisadores. Entretanto, o nosso trabalho mostrou que algumas bactérias Gram-positivas tiveram potencial fermentativo significativo, mas sem um rendimento etanólico.

CONCLUSÃO

Mesmo não havendo produção de etanol, algumas bactérias mostraram boa adaptação metabólica para o consumo de xilose, sendo estas capazes de utilizar esta pentose para a produção de biomassa e metabólitos diferentes de etanol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIER, M. C. J. et al. **Crescimento e consumo de Xilose de *Candida guilliermondii* na fermentação submersa utilizando-se bagaço de cana-de-açúcar**. Evidência, Joaçaba, v. 7, n. 2, p. 119-130, jul./dez. 2007.

CARRION, L. M. Isolamento de Leveduras Fermentadoras de Pentoses e Aplicação no Processamento do Bioetanol Celulósico. **Tese de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos**, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, SP, ago/2010.

COSTA, L. E. O. Resistência a Antibióticos em Bactérias Comensais de Bovino de Leite. **Universidade Federal de Viçosa (UFV)** – Minas Gerais, 2006. (http://www.tede.ufv.br/tesesimplificado/tde_arquivos/36/TDE-2007-02-06T143539Z-336/Publico/texto%20completo.pdf). Site acessado em 01 de maio de 2011 às 15h30min.

FREITAS, V.R; PICOLI, S.U. Coloração de Garm e as suas variações na sua execução **NewsLab** Ed. 82, p. 124-128, 2007.

JUNIOR, A. P. Produção de Biomassa Microbiana a partir de Hidrolisado Hemicelulósico de Bagaço de Cana-de-açúcar. **Tese de Mestrado em Tecnologia de Fermentações – Curso de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímica Farmacêutica**, Universidade de São Paulo Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 1991.

LEITE, R. C. C.; LEAL, M. R. L. V. O Biocombustível no Brasil. **Novos Estudos CEBRAP**, No 78 São Paulo July, 2007. (http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010133002007000200003&script=sci_arttext&lng=en). Site acessado em 12 de fevereiro de 2011 às 14h25min.

MACEDO, I. C.; NOGUEIRA, L. A. H. Prospecção Tecnológica Biocombustível: Avaliação da Expansão de Etanol no Brasil. **Centro de Gestão e Estudos Estratégicos - Ciência Tecnologia e Inovação**, Brasília 2004.

MATOS, G. S.; FELIPE, M. G. A.; SILVA, S. S. Formação de xilitol, etanol e glicerol por *Cândida guilliermondii* FTI 20037 durante a fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar **SINAFERM, Anais de trabalhos completos**, 2003.

MILLER, G.H. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* v.31, p.426-429, 1959.

MORAES, D. C.; PEREZ, C. A.; DORTA, C. Seleção de Microrganismos Fermentadores de Xilose. **Revista Analytica**, ano 8 N° 47, p. 59-67, Junho/Julho 2010.

PANDEY, A. et al. Biotechnological potencial of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v.74, p.69-80, 2000.

RODRÍGUEZ, O. E. C. et al. Etanol Carburante. **Bio Tecnología**, Año 2009, Vol. 13 No. 3.

ROSSELL, C. E. V. **Fermentação do Hidrolisado**. III Workshop Técnico sobre Hidrólise para Produção de Etanol. 2006. (<http://www.inovacao.unicamp.br/etanol/report/Hidrolise%20Rossel%20Fermenta%E7%E3o%20do%20Hidrolisado.pdf>). Site acessado em 12 de fevereiro de 2011 as 13h00min.