APLICAÇÃO DE EXTRATO DE SEMENTE DE CAMU-CAMU (*Myrciaria dubia*) RICO EM COMPOSTOS ANTIOXIDANTES EM LEITE FERMENTADO

Stephanie Maiara de Oliveira (PIBIC), Daniel Granato (Orientador), e-mail: Granatod@gmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/ Engenharia de Alimentos.

Palavras-chave: frutas nativas, extrato liofilizado e iogurte funcional.

Resumo

O camu-camu (*Myrciaria dubia*) é uma fruta originaria da região amazônica, considerada fonte de compostos fenólicos, carotenoides, vitamina C e minerais. As sementes de camu-camu representam 40% do fruto, com isso o objetivo do estudo foi realizar a extração de compostos bioativos da semente de camu-camu, caracterizar a composição fenólica do extrato, determinar a atividade antioxidante in vitro, incorporar o extrato em diferentes proporções em uma matriz láctea (iogurte), avaliar os efeitos do extrato na capacidade redutora e antioxidante do iogurte e a aceitação sensorial do iogurte com 0,25 g/100 g de extrato. Realizou-se a extração com uma mistura ternaria de solventes, após o extrato ser liofilizado, o mesmo foi caracterizado com base em métodos de determinação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. Incorporou-se o extrato em uma matriz láctea (iogurte) em diferentes proporções e foi avaliado o efeito na capacidade redutora e antioxidante. Determinou-se a adição de 0,25 g/100 g de extrato liofilizado de semente de camu-camu para a análise sensorial. Posteriormente, a identificação e quantificação de compostos fenólicos no extrato otimizado de semente de camu-camu foi realizada por cromatografia liquida de alta eficiência (CLAE).

Introdução

Os compostos fenólicos são amplamente distribuídos em plantas e recentemente para a pesquisa eles ganharam muita atenção, por conta da sua atividade antioxidante e sua capacidade de eliminação de radicais livres com potenciais implicações benéficas na saúde humana. O camu-camu destaca-se por conta do seu alto conteúdo de vitamina C, além de conter outros compostos antioxidantes, como carotenoides, antocianinas e outros compostos fenólicos que são valiosos em termos nutricionais. As cascas e sementes de camu-camu representam cerca de 40% do fruto, porém esses subprodutos na maioria das vezes são descartados pela indústria sem aproveitamento. Por isso, o processamento desses subprodutos possui o potencial de se tornar um segmento do agronegócio. Houve um significativo aumento no número de pesquisas relacionadas a aplicação de componentes com propriedades funcionais e compostos de fontes naturais de diferentes tipos de alimentos, que é de grande valor para a indústria alimentícia, porque podem criar produtos diferenciados com alto valor agregado. Desta maneira, os produtos lácteos desempenham um papel fundamental, uma vez que eles estão incluídos na dieta da maioria da população do mundo. Objetivo do trabalho é caracterizar a composição fenólica e atividade antioxidante de um extrato de semente de Myrciaria dubia (camu-camu) e avaliar o efeito desse extrato nas características químico funcionais de iogurtes.

Material e Métodos

ISSN 1676-0093

Para obtenção do extrato otimizado amostras de sementes de camu-camu foram fornecidas por um produtor de Iguape, SP, e utilizou três solventes para a extração: 40,7% de água, 16% álcool etílico e 43,3% de propanona com proporção de 1:20 (m/v). O extrato foi filtrado, rotaevaporado e liofilizado. Para o extrato liofilizado o teor total de fenólicos e capacidade redutora foi determinado pelo método Azul da Prússia de Margraf et al. (2015), capacidade redutora do reagente Folin-Ciocalteu, teor de taninos condensados pelo método de Horszwald e Andlauer (2011), capacidade antioxidante de redução do ferro (FRAP) do extrato pelo método de Benzie e Strain (1996) e em quelar o íon Cu^{2+} por Santos, Brizola e Granato (2017), captura do radical DPPH descritas por Brand-Williams et al. (1995) e os compostos fenólicos identificados e quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os iogurtes foram processados conforme descrito por Perina et al. (2015) e as formulações teste com a adição de 0,25%, 0,50%, 0,75% e 1,00% de extrato e para controle o iogurte sem adição e para a análise sensorial o iogurte com adição de 0,25 g/100 g de extrato. A capacidade redutora, DPPH e FRAP foram avaliados com o sobrenadante da mistura de iogurte com 10 mL de álcool metílico. Para a composição proximal do iogurte foi realizado proteína bruta por Kjeldahl, umidade utilizado secagem em estufa a 105 ºC, cinzas com incineração em mufla a 550 ºC, teor de lipídeos totais utilizado extração a frio (Blygh-Dyer), carboidratos por diferença, pH e acidez de acordo com AOAC (2005). Para análise sensorial teve a aprovação do comitê de ética em pesquisa da UEPG (CAAE 65493717.9.0000.0105) e o iogurte foi submetido à análise de sabor, odor, consistência, cor e impressão global, utilizando uma escala hedônica de 9 pontos.

Resultados e Discussão

Com o extrato de semente de camu-camu otimizado liofilizado foram realizadas as análises de compostos fenólicos e atividade antioxidante in vitro e os resultados descritos na Tabela 1 e os valores dos compostos químicos quantificados por CLAE estão na Tabela 2.

Tabela 1 - Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato liofilizado de semente camu-camu obtido com 40,7% de água, 16% álcool etílico e 43,3% de propanona.

	Fenólicos totais (mg AGE/100 g)	Taninos (mg CTE/100 g)	Capacidade de quelar Cu^{2+} (% inibição)[1]	FCRC (mg AGE/ 100 g)	FRAP (mg AAE/100 g)	DPPH (mg AAE/100 g)
Extrato de semente de camu-camu	43598 ± 923	5766 ± 478	17 ± 2	21324 ± 547	48436 ± 6346	49798 ± 682

Nota: [1] valores de percentual (%) de formação de complexo violeta de pirocatecol-Cu^{2+}; FCRC = capacidade redutora do Folin-Ciocalteu; FRAP = capacidade antioxidante de redução do ferro; DPPH = capacidade antioxidante frente ao radical DPPH.

Em uma comparação com dados publicados por Fidelis et al. (2018) que utilizou extrato aquoso de casca da semente de camu-camu, utilizando FRAP, DPPH• e pela capacidade redutora de Folin-Ciocalteau (FCRC) os dados foram 7425±247 mg AAE/100 g, 2838±176 mg AAE/100 g e 8522±318 mg GAE/100 g, respectivamente. Ao observar a Tabela 2 é notável como os valores descritos no presente trabalho foram mais elevados por se tratar de extrato liofilizado de semente de camu-camu, processo que concentra os polifenóis na amostra.

Tabela 2 - Resultados dos compostos químicos em extrato liofilizado de semente de camu-camu quantificados por cromatografia líquida.

ISSN 1676-0093

Compostos fenólicos			
Ácidos fenólicos (mg/100 g)		**Flavonoides (mg/100 g)**	
Ácido gálico	473,18 ± 5,03	Quercetina	6,39 ± 0,10
Ácido siríngico	35,34 ± 0,61	Procianidina A2	200,16 ± 3,05
Ácido cafeico	42,38 ± 0,19	(+)-Catequina	130,00 ± 0,01
Ácido rosmarínico	17,26 ± 0,73	(-)-Epicatequina	144,29 ± 0,14
Ácido clorogênico	24,91 ± 0,23	Quercetina-3-rutinosídeo	20,75 ± 0,10
Ácido 2,4-di-hidroxibenzóico	73,73 ± 0,72		
Ácido ferúlico	14,96 ± 0,15	**Outros (mg/100 g)**	
Ácido 2-hidroxicinâmico	6,07 ± 0,07	*trans*-Resveratrol	20,75 ± 0,09
Ácido *p*-cumárico	20,14 ± 0,15	Ácido elágico	86,61 ± 0,31
Total identificado (mg/100 g) = 1432 ± 8			

Os compostos químicos já foram quantificados por cromatografia líquida em diferentes partes do fruto de camu-camu (polpa e casca) por outros autores, com a exceção de t-resveratrol, que foi identificado pela primeira vez em semente de camu-camu no trabalho de Fidelis et al. (2018). Em um trabalho com vinhos de uva de Machado e Guedes (2015) a quantificação de t-resveratrol o valor médio foi de 1,75 mg/100 g e no presente trabalho apresentou um teor de 20,75 mg/100 g. Mostra-se que o extrato liofilizado de semente de camu-camu pode ser uma fonte de t-resveratrol. Para avaliar o efeito da adição do extrato liofilizado de semente de camu-camu (ELC) nas propriedades antioxidantes e sensoriais de iogurte, um total de cinco concentrações de ELC foram testadas em relação à atividade antioxidante medida por três metodologias (FRAP, DPPH, e CRFC): 0 g/100 g (controle negativo), 0,25 g/100 g, 0,50 g/100 g, 0,75 g/100 g, e 1,00 g/100 g. Os resultados estão dispostos na Tabela 3 e é possível notar que houve dose-dependência em todas análises, ou seja, quanto maior a concentração do ELC, maior foi a atividade antioxidante in vitro observada.

Tabela 3 - Atividade antioxidante das amostras de iogurte adicionadas de diferentes concentrações de extrato de semente camu-camu (ELC).

% ELC	FRAP (mg AAE/100 g)	DPPH• (mg AAE/100 g)	CRFC (mg AGE/100 g)
0 g/100 g	6,48 ± 0,15^{e}	1,22 ± 0,09^{c}	8,42 ± 0,29^{d}
0,25 g/100 g	21,94 ± 1,63^{d}	10,19 ± 0,54^{b}	17,29 ± 0,69^{c}
0,50 g/100 g	35,13 ± 0,78^{c}	16,01 ± 2,16^{b}	19,75 ± 1,60^{c}
0,75 g/100 g	70,00 ± 5,29^{b}	51,87 ± 8,69^{a}	51,49 ± 4,6^{b}
1,00 g/100 g	101,81 ± 4,63^{a}	57,67 ± 3,79^{a}	56,89 ± 3,20^{a}

Nota: Letras diferentes na mesma coluna representam resultados estatisticamente diferentes pelo teste de Fisher ($p<0,05$).

Os valores médios de FRAP variaram de 6,48 a 101,81 mg AAE/100 g ($p<0,05$), DPPH• variou de 1,22 a 57,67 mg AAE/100 g ($p<0,05$) e Folin-Ciocalteu variaram de 8,42 a 56,89 mg AGE/100 g ($p<0,05$). O iogurte adicionado de 0,25 g/100 g de ELC apresentou 76,30±5,91 g/100 g de umidade, 4,03±0,31 g/100 g de proteínas, 0,91±0,01 g/100 g de cinzas, 17,79±6,16 g/100 g de carboidratos totais, e lipídeos totais de 0,97±0,01 g/100 g. O pH do iogurte foi 4,02±0,01 e a acidez total titulável foi de 0,99 g de ácido lático/100 g. Em uma análise sensorial prévia (dados não mostrados), selecionou-se o iogurte adicionado de 0,25 g/100 g de ELC e analisou com 75 consumidores não treinados (18-65 anos) e que consomem iogurte e/ou leite fermentado pelo menos duas vezes na semana. Os escores médios do grau de gostar de sabor, odor, consistência, cor, e impressão global foram de 7,6±1,1,

7,5±1,4, 7,1±1,5, 7,7±1,4 e 7,6±0,1 respectivamente. O índice de aceitação do iogurte foi de 84,3%, mostrando que a formulação desenvolvida tem potencial de sensorial. De acordo com os provadores participantes, 73 consideram iogurte como um alimento saudável, 74 consideram saudável adicionar extratos vegetais em iogurtes e 56 consumidores pagariam de R$ 2,00 a R$ 3,00 em 100 g de iogurte adicionado de ELC com propriedades antioxidantes.

Conclusão/ões

Ao realizar a liofilização concentrou os polifenóis e isso demonstrou elevados valores de atividade antioxidante e fenólicos totais. A concentração de extrato tem dose-dependência com atividade antioxidante e fenólicos. O presente estudo pode ser considerado uma iniciativa técnico-científica para implantar tal produto no mercado brasileiro, uma vez que a análise sensorial comprovou que a aceitação do iogurte com adicionado de 0,25 g/100 g de extrato (ELC) foi de 84%. Assim, os resultados deste estudo contribuem para incentivar e aumentar a produção, consumo e aproveitamento de subprodutos de camu-camu e seu uso como alternativa de alimento ou ingredientes promotores da saúde.

Agradecimentos

Ao Departamento de Engenharia de Alimentos e CTA/UEPG por tornar a execução do trabalho possível. Ao LABMU/UEPG pela disponibilização do uso de equipamentos para análises. Ao CNPq pela concessão de bolsa de Iniciação Científica.

Referências

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. **(18 th ed.) Gaithersburg**, 2005.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70–76, 1996.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, 25–30, 1995.

FIDELIS, M. et al. *In vitro* antioxidant and antihypertensive compounds from camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh, Myrtaceae) seed coat: A multivariate structure-activity study. **Food Chemical toxicology**, v. 120, p. 479–490, 2018.

HORSZWALD, A.; ANDLAUER, W. Characterisation of bioactive compounds in berry juices by traditional photometric and modern microplate methods. **Journal of Berry Research**, v. 1, p. 189–199, 2011.

MARGRAF, T. et al. Comparison between Folin-Ciocalteu and Prussian Blue assays to estimate the total phenolic content of juices and teas using 96-well microplates. **Journal of Food Science**, v. 80, p. C2397–C2403, 2015.

PERINA, N. P. et al. Effect of vegetal-oil emulsion and passion fruit peel-powder on sensory acceptance of functional yogurt. **Food Research International**, v. 70, p. 134–141, 2015.

SANTOS, J. S.; BRIZOLA, V. R. A.; GRANATO, D. High-throughput assay comparison and standardization for metal chelating capacity screening: A proposal and application. **Food Chemistry**, v. 214, p. 515–522, 2017.