

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

TESE DE DOUTORADO

**Estudo dos Cianogênicos em Casca de Maracujá através de bioensaio e
quantificação de amostras por processos térmicos diferentes.**

M.Sc. Elisabete Maria da Graça Costa do Nascimento

Fevereiro 2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

**ESTUDO DOS CIANOGÊNICOS EM CASCA DE MARACUJÁ ATRAVÉS DE
BIOENSAIO E QUANTIFICAÇÃO DE AMOSTRAS POR PROCESSOS TÉRMICOS
DIFERENTES.**

M.SC. ELISABETE MARIA DA GRAÇA COSTA DO NASCIMENTO

Orientador:

Dr. José Luis Ramírez Ascheri

Co-orientador:

Dr. Carlos Wanderlei Piler de Carvalho

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de concentração em Ciência de Alimentos.

**Seropédica, RJ
Fevereiro de 2016**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA
UFRRJ**

641.34425
N244e
T

Nascimento, Elisabete Maria da Graça Costa do, 1959-

Estudo dos cianogênicos em casca de maracujá através de bioensaio e quantificação de amostras por processos térmicos diferentes / Elisabete Maria da Graça Costa do Nascimento - 2016.

78 f.: il.

Orientador: José Luis Ramírez Ascheri.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.


Inclui bibliografias.

1. Maracujá - Teses. 2. Maracujá - Processamento - Teses. 3. Alimentos - Toxicologia - Teses. 4. Tecnologia de alimentos - Teses. I. Ramírez Ascheri, José Luis, 1955-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

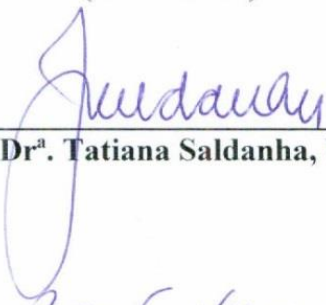
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento

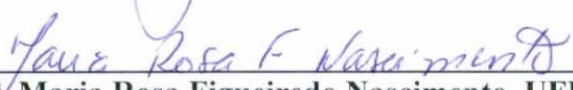
Tese aprovada em 26/02/2016



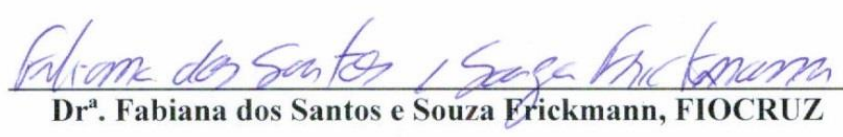
Dr. José Luis Ramirez Ascheri
(Orientador)



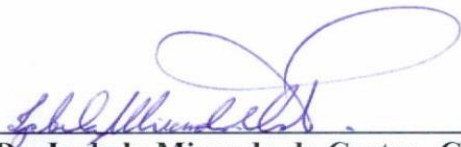
Prof. Dr. Tatiana Saldanha, UFRRJ



Prof. Dr. Maria Rosa Figueiredo Nascimento, UFRRJ



Dr. Fabiana dos Santos e Souza Erickmann, FIOCRUZ



Dr. Izabela Miranda de Castro -CTAA

Dedico

Dedico essa tese a todos que já chegaram a certa idade e sonham um dia voltar aos estudos. Esse trabalho foi a última parte da realização desse sonho.

AGRADECIMENTOS

A JESUS, meu mais presente orientador, por me dar motivação, perseverança, saúde e pela alegria de conquistar mais esse título acadêmico!

Ao Dr. Ascheri e ao Dr. Carlos Piler pela orientação e pela grande amizade.

À Dr. Cristina Takeiti, por pensar em mim quando surgiu uma chance de bolsa fora do país, me dando uma força sobrenatural. Pela amizade e por sempre torcer por mim.

À Dr. Melicia pela ajuda, conselhos e amizade.

Aos Dr. Antonio Mulet e Dr. Juan Cárcel e toda equipe ASPA meus agradecimentos por me receberem tão gentilmente e me orientarem com tanta dedicação durante o trabalho na Universidade Politécnica de Valencia na Espanha.

À Universidade Politécnica de Valencia pela oportunidade dada de fazer um trabalho junto a Equipe ASPA.

Ao Programa Brasileiro de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE) da Capes que me proporcionou ampliar meus conhecimentos cruzando fronteiras.

Ao governo Dilma, por apoiar os projetos da Capes e da educação brasileira.

À bolsa CAPES/EMBRAPA sem a qual não seria possível toda essa jornada.

À Embrapa por disponibilizar seus laboratórios e pessoal para ajudar nesse trabalho.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação da UFRRJ, na pessoa da querida Dr. Maria Ivone, agradeço a amizade e estímulo.

Agradeço em especial a minha família (marido Jailton e filhas Elisabete e Isabel) por me incentivarem, mesmo tendo ficado 7 meses longe deles, na Espanha.

Agradeço aos meus cunhados Deliane e Pastor Josimir os quais, sem suas orações, não haveria chegado até aqui.

Agradeço ao artista plástico Marcelo Cunha pela inspiração que é para minha vida.

Agradeço ao meu irmão Mário Luís por toda ajuda e presença forte em minha vida.

Agradeço a minha irmã Cleuza por suas orações em meu favor.

Agradeço à Igreja Adventista de Valencia (Valencia Vives) na pessoa da Irmã JulianRosário López Peña, que me recebeu em sua casa na Espanha durante 7 meses e que, desde o primeiro dia que cheguei a Espanha, cuidou de mim como uma filha.

Minha Biografia

Duas bicicletas.

Não foi tão difícil para quem já havia feito graduação trabalhando como marceneira. No segundo período da graduação precisava de mais tempo ainda para estudar. Então tive que mudar completamente a maneira de sustento e passei a fazer transporte escolar pra faculdade onde estudava. Saía bem de madrugada de casa com a Kombi da marcenaria para reunir todos os 10 alunos e levá-los comigo à universidade. Até que um dia... ufa! Passei no processo de financiamento estudantil da Caixa Econômica (FIES). Aos domingos, apenas trabalhava como cabeleireira e com esse dinheiro dava até para pagar a natação.

Após a graduação prestei concurso para a pós-graduação na UFRRJ. A universidade mais linda do mundo! Passei! Sem bolsa ... rrsrrsrrs

Agora começo a contar o caso das “duas bicicletas”. Com uma, ia da Pedra de Guaratiba a Campo Grande, e com a outra, ia da portaria principal no P1 até a sala da Pós-Graduação em Alimentos. A volta era sempre mais cansativa. Pedalar mais 14 km retornando não foi mole. Mas havia algo pior que isso. As matérias que estudava eram de outro planeta! Das galáxias! Na primeira prova, onde havia decorado toda a apostila, caiu algo diferente de tudo. Conclusão: a pior nota da minha vida!

Nesse dia descobri que eu era e sou incapaz. Três pessoas chegaram a me aconselhar desistir da pós, e uma delas me disse até para voltar pra marcenaria, pois numa conversa “entrevistadora” sabia de onde eu tinha vindo. Mas como fazer alguém desistir se esse alguém encara pedalar duas bicicletas na ida e na volta de casa a universidade? Duas bicicletas...

As duas bicicletas me fizeram aumentar a nota! Mas tive que me desfazer delas quando finalmente consegui uma bolsa de estudo. As bicicletas já haviam cumprido “parte” do seu trabalho. Agora eu andava de moto!

Ah, mas passou rápido... O mestrado acabou, a bolsa também, mas as bicicletas não. Voltei a pedalar.

No ano seguinte, meu amigo Carlos Piler me convidou para o doutorado. Já com bolsa! Mas eu comecei, assim mesmo, indo pra Embrapa de bicicleta, pois quando pensava na magnitude que era se tornar doutora em um tema, precisaria da força da bicicleta.

No terceiro ano um desafio maior: ficar 7 meses na Espanha fazendo parte do doutorado. A primeira coisa que pensei: se ficar difícil, **não dá** pra voltar de bicicleta.

Mas lá, ia pra universidade de bicicleta, pois aliesse transporte é muito comum.

Agora cheguei ao final e estou muito nervosa e insegura. Pra relaxar, gostaria de ir de bicicleta no dia da defesa. Mas não dá não! Não por ser longe. Já fiz 85 km num dia só e o trajeto seria só a metade. Mas hoje preciso trilhar esse caminho de “joelhos”. Agradecida por toda força, por todo incentivo, por cada realização dos artigos, congressos, seminários, provas. Preciso agradecer muito, pela alegria de ter acreditado que seria possível, apesar de todas as dificuldades. Agradecer por não desistir. Agradecer por não me revoltar quando me roubaram as duas bicicletas na Rural! Elas se foram, mas eu ainda estou aqui, para receber o título de DOUTORA.

RESUMO

NASCIMENTO, Elisabete Maria da Graça Costa. Estudo dos Cianogênicos em Casca de Maracujá através de bioensaio e quantificação de amostras por processos térmicos diferentes. 76 p. (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

O Brasil é o maior produtor e consumidor de maracujá do mundo e sua produção vem crescendo a cada ano devido à boa aceitação do seu suco. O suco de maracujá representa uma pequena parte do fruto e a casca dele apresenta um problema para o meio ambiente, perda de material rico em fibras e perda do que ele pode representar como ganho para economia do país. O objetivo desse estudo foi apresentar uma possibilidade segura para aproveitamento e processamento da casca do maracujá. Para isso foi feito uma secagem com aplicação do ultrassom (SCUS) sobre cianogênicos. Foi feito um bioensaio com *Artemia salina* para determinar e avaliar a dose letal para 50% da população de *A. salina* (DL_{50}). Foram quantificados os glicosídeos cianogênicos Amigdalina e Prunasina em amostra de farinha de cascas de maracujá vendidos no mercado do Rio de Janeiro, em amostras processadas por liofilização (L), processadas por secagem convectiva (SC) e amostras submetidas ao processo de extrusão termoplástica (ET). Grandes benefícios têm sido encontrados no uso da casca do maracujá como ingrediente como a diminuição dos níveis de glicose no sangue e de colesterol, ação anti-inflamatória e outras. O teor de fibra alimentar foi quantificado por vários autores e variaram de 35 a 90% e esses achados têm incentivado o desenvolvimento de diversos produtos como, por exemplo, cereal matinal, *cookie diets*, biscoitos doces, massa alimentícia, barra de cereais e doces em calda adicionados da farinha da casca de maracujá, e outros, porém poucos estudos consideram a quantificação dos cianogênicos residuais como parte importante da avaliação. A toxicidade cianogênica de alguns vegetais já foi bem estabelecida por estudos epidemiológicos e a exposição a alimentos que contém glicosídeos cianogênicos de forma aguda ou crônica pode causar neuropatologias, bócio, cretinismo endêmico e algumas vezes morte. Assim, foi realizado como estratégia para o estudo processamentos nas melhores condições para se obter a segurança quanto aos níveis tóxicos de cianogênicos e a preservação dos compostos bioativos nos processos testados. Para quantificação dos glicosídeos Amigdalina e Prunasina foi utilizada cromatografia líquida de alta eficiência. Os testes para avaliar a atividade antioxidante foram feitos através do método pela redução do ferro (Ferric-Reducing Ability Power (FRAP)) e pela medida dos compostos fenólicos totais frente ao reagente Folin Ciocalteu. O resultado da secagem com ultrassom acoplado nas mais baixas temperaturas testadas afetou a cinética acelerando o processo e preservou melhor a capacidade antioxidante. A microestrutura revelou também que durante o processo de secagem o enrugamento das células da matriz se comportam mais uniformemente acontecendo na mesma direção e na secagem sem o uso do ultrassom as células mostram um enrugamento mais desorganizado. Os resultados para o bioensaio com *A. salina* mostraram que a DL_{50} para cianeto de potássio foi de $2,83 \text{ mg kg}^{-1}$ e para cascas de maracujá *in natura* de $397,30 \text{ mg kg}^{-1}$. Os resultados da quantificação de Amigdalina e Prunasina para os processos de secagem de cascas de maracujá mostraram que apenas a amostra com secagem com ultrassom acoplado na temperatura de 40°C e uma comercial tiveram níveis abaixo dos padrões brasileiros da ANVISA. A conclusão geral foi que não existem estudos suficientes que comprovem que a utilização da farinha de casca de maracujá é inócua à saúde humana e que uma exposição aos cianogênicos, mesmo que em baixos níveis, pode oferecer um problema de saúde pública para o Brasil.

Palavras-chave: *Passiflora edulis*, casca de maracujá, glicosídeos cianogênicos.

ABSTRACT

NASCIMENTO, Elisabete Maria da Graça Costa. Estudo dos Cianogênicos em Casca de Maracujá através de bioensaio e quantificação de amostras por processos térmicos diferentes. 76 p. (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Brazil is the largest producer and consumer in the world passion fruit and their production is growing every year due to the good acceptance of its juice. Passion fruit juice is a small part of the fruit and the peels presents a problem for the environment, loss of material rich in fiber and loss than may pose as a gain for the economy. The aim of this study was to present a safe possibility for exploitation and processing of passion fruit peel. For this was done drying with application of ultrasound (SCUS) on the drying kinetics and also tested the antioxidant property and quantified the cyanogenic glycosides. Bioassay with *Artemia salina* was undertaken to determine and assess the lethal dose for 50% of the population of *A. salina* (LD₅₀). The cyanogenic glycosides Amygdalin and prunasin in passion fruit peel flour sample sold in the Rio de Janeiro market were quantified in samples processed by Lyophilization (L), processed by convective drying (SC) and samples submitted to the thermoplastic extrusion process (ET). Major benefits have been found in the use of passion fruit peel as an ingredient as the decrease of glucose levels in blood and cholesterol, anti-inflammatory action and other. The dietary fiber content was quantified by various authors and ranged 35-90% and these findings have encouraged the development of several products, for example, breakfast cereal, diets cookie, sweet biscuits, pasta, cereal bars and candies in syrup added flour of the passion fruit peel, and others, but few studies consider the quantification of residual cyanogenic as an important part of the evaluation. The cyanotic toxicity of some plants has been well established by epidemiological studies and exposure to cyanogenic glycosides food, from acute or chronic form, can cause neuropathology, goiter, cretinism endemic and sometimes death. It was carried out as a strategy for studying processes in the best conditions to obtain security for toxic levels of cyanogenic and preservation of bioactive compounds in the tested processes. For quantification of Amygdalin glycosides and prunasin were used high-performance liquid chromatography. The tests to evaluate the antioxidant activity were made using the method for the reduction of iron (Ferric-Reducing Ability Power (FRAP)) and by the measure of total phenolic compounds against the Folin Ciocalteu reagent. The result of drying with ultrasound coupled at the lower temperatures tested affected the kinetic accelerating the process and preserved better antioxidant capacity. The microstructure also revealed that during the drying process wrinkling of matrix cells behave more evenly going in the same direction and drying without the use of ultrasound cells show a more disorganized wrinkling. The results for *A. salina* bioassay showed that the LD₅₀ for potassium cyanide was 2.83 mg kg⁻¹ and passion fruit peels *in natura* 397.30 mg kg⁻¹. The results of the quantification Amygdalin and prunasin for passion fruit peels drying process showed that only the sample with ultrasound coupled drying at a temperature of 40°C and had only one commercial levels below Brazilian ANVISA standards. The general conclusion was that there are not enough studies to prove that the use of passion fruit peel flour is harmless to human health and that exposure to cyanogenic, even at low levels, can provide a public health problem in Brazil.

Keywords: *Passiflora edulis*, passion fruit peels, cyanogenic glycoside.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Produção de maracujá no Brasil entre os anos de 1989 a 2015. (Adaptado de Meletti, 2011).....	5
Figura 2 Glicosídeos cianogênicos Amigdalina (A) e Prunasina (B).....	7
Figura 3 Corte das cascas de maracujá nas dimensões (0.044 X 0.024 X 0.007 ± 0.001 m).	19
Figura 4 Esquema do secador assistido com ultrassom: 1. Ventilador; 2. Unidade de aquecimento; 3. Anenômetro; 4. Válvula de três vias; 5. Termo-par; 6. Tambor onde ficam as amostras; 7. Material acoplado; 8. Braço pneumático; 9. Transdutor ultrassônico; 10. Cilindro vibrante; 11. Amostra; 12. Balança; 13. Unidade de impedância; 14. Waltímetro; 15. Gerador de ultrassom de alto desempenho; 16. PC.....	20
Figura 5 Suporte para amostras.	21
Figura 6 Transporte da umidade na direção considerada pelo modelo de secagem da casca de maracujá.	22
Figura 7 Cinética de secagem experimentais da casca do maracujá realizada sem (AIR) e com (AIR + US) aplicação de ultra-som (21,7 kHz; 75W) a 1m/s e temperatura de 40, 50, 60, 70°C.	27
Figura 8 Modelos NER e RE calculados versus umidade experimental de cascas de maracujá durante a secagem a 40°C e 1m/s.	30
Figura 9 Relação entre a difusividade efetiva identificada do Modelo RE e a temperatura de secagem das cascas de maracujá sem ((AIR) e com (AIR+US) aplicação de ultrassom (21.7 kHz, 75 W).	32
Figura 10 Capacidade antioxidante (A) e compostos fenólicos totais (B) das cascas de maracujá em diferentes temperaturas sem (AIR) e com (AIR+US) aplicação de ultrassom (21,7 kHz; 75W). Mínimo intervalo significativo a um nível de confiança de 95%.	34
Figura 11 Estruturas micrográficas da casca de maracujá.....	37
Figura 12 Efeito da aplicação de ultrassom sobre as estruturas de cascas de maracujá.....	38
Figura 13 Curva de sobrevivência de Artemia salina em solução de cianeto de potássio.	45
Figura 14 Curva de sobrevivência de Artemia salina em solução de casca de maracujá in natura.....	45
Figura 15 Espectros obtidos com a injeção dos extratos de amigdalina e prunasina	53
Figura 16 Cromatograma revelando os picos (A) de Amigdalina, (B) desconhecido e (C) de Prunasina com seus respectivos espectros ao lado.....	58

LISTA DE TABELA

Tabela 1 Teores de fibra alimentar da casca do maracujá amarelo	6
Tabela 2 Teores de cianogênicos na casca do maracujá (<i>in natura</i>).	8
Tabela 3 Tempo de secagem para alcançar a perda de 80% do peso inicial de amostras de cascas de maracujá (AIR) e (AIR + US) (21,7 kHz, 75 W).....	27
Tabela 4 Difusividade efetiva (De) identificada com o modelo NRE para a secagem de casca de maracujá a 1 m/s em diferentes temperaturas, (AIR) e (AIR + US) (21,7 kHz, 75 W).....	29
Tabela 5 Difusividade efetiva (De) e Coeficiente de transferência de massa (k) identificados no Modelo (RE) para secagem de cascas de maracujá a 1m/s em diferentes temperaturas sem (AIR) e com (AIR+US) aplicação de ultrassom (21.7 kHz, 5 W).....	31
Tabela 6 Capacidade antioxidante (AC) e Compostos fenólicos totais (CFT) quantificados nos extratos frescos e secos de diferentes condições de operações (temperatura e aplicação de ultrassom) de cascas de maracujá.	35
Tabela 7. Informações toxicológicas da ficha de informações de segurança de produtos químicos*.....	46
Tabela 8 Temperatura de processamento por extrusão termoplástica e velocidade do parafuso dos tratamentos T1, T2, T3 e T4	51
Tabela 9 Curvas analíticas de amigdalina e prunasina	52
Tabela 10 Quantificação dos glicosídeos cianogênicos da casca do maracujá <i>in natura</i> e processada	55
Tabela 11 Teste de Scott Knott para as amostras (dispostas da menor conteúdo para maior).....	56

SUMÁRIO

Ficha Catalográfica.....	iii
Folha de Aprovação da Banca	iv
Dedicatória	v
AGRADECIMENTOS	vi
Biografia	vii
Resumo	viii
Abstract	ix
Lista de Figuras	x
Lista de Tabelas	xi
Sumário	xii
CAPÍTULO I- INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1 Justificativa	1
1.1 Objetivo Geral.....	2
1.1.1 Objetivos específicos	2
1.2 Disposição da Tese	2
CAPÍTULO II	3
BENEFÍCIOS E PERIGOS DO APROVEITAMENTO DA CASCA DE MARACUJÁ (PASSIFLORA EDULIS) COMO INGREDIENTE NA PRODUÇÃO DE ALIMENTOS.....	4
2 Introdução	4
2.1 Produção do Maracujá	5
2.2 As Fibras e os Compostos Bioativos da Casca do Maracujá e Seus Efeitos Sobre a Saúde.....	5
2.3 Toxicidade da Casca Do Maracujá	7
2.4 Produtos Elaborados com a Casca do Maracujá.....	111
2.5 Diminuição de Substâncias Anti-Nutricionais e Tóxicas Através do Processamento por Extrusão Termoplástica	112
2.6 Conclusão.....	13
2.7 REFERÊNCIAS.....	14
CAPÍTULO III	17
3 EFEITO DA APLICAÇÃO DE ULTRASSOM SOBRE A CINÉTICA DE SECAGEM E PROPRIEDADE ANTIOXIDANTE DA CASCA DE MARACUJÁ.....	17
3.1 INTRODUÇÃO	18
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.2.1 Matéria-prima.....	19
3.2.2 Secagem dos Experimentos	19
3.2.3 Modelagem Matemática.....	21
3.2.4 Determinação da Propriedade Antioxidante das Cascas de Maracujá.....	23
3.2.4.1 Capacidade antioxidante (CA) pelo método FRAP.....	23
3.2.4.2 Conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT) – Método Folin-Ciocalteau.....	25

3.2.5	Degradação de AC e CFT.	25
3.2.6	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	25
3.2.7	Análise estatística.....	26
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
3.3.1	Cinética de Secagem dos Experimentos	26
3.3.2	Influência da temperatura do ar	26
3.3.3	Influência da aplicação do ultrassom	27
3.3.4	Modelagem cinética de secagem.....	28
3.3.5	Influência da secagem sobre a bioatividade da casca de maracujá.....	31
3.3.5.1	Atividade antioxidante(AC).....	32
3.3.5.2	Compostos fenólicos totais (CFT).....	33
3.3.6	Microestrutura.....	36
3.4	Conclusão.....	38
3.5	REFERÊNCIAS.....	39
CAPÍTULO IV		43
4	BIOENSAIO PELO TESTE DA ARTEMIA SALINA (T.A.S.) PARA DETERMINAÇÃO DA TOXIDADE DE CASCAS DE MARACUJÁ.....	43
4.1	INTRODUÇÃO	44
4.2	MATERIAL E MÉTODO	44
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.4	CONCLUSÃO	46
4.5	REFERÊNCIAS.....	46
CAPÍTULO V		48
5	EFEITO DOS DIFERENTES PROCESSOS DE SECAGEM NA REDUÇÃO DOS GLICOSÍDIOS AMIGDALINA E PRUNASINA EM CASCAS DE MARACUJÁ AMARELO.....	49
5.1	INTRODUÇÃO	49
5.2	MATERIAIS E MÉTODOS	50
5.2.1	Matéria-prima.....	50
5.2.2	Processos	50
5.2.2.1	Secagem convectiva.....	50
5.2.2.2	Processo por extrusão termoplástica das cascas de maracujá moídas	50
5.2.2.3	Processo de secagem com ultrassom acoplado	51
5.2.3	Extração glicosídica.....	51
5.2.4	Quantificação dos glicosídeos por CLAE	51
5.2.4.1	Extração e separação do padrão cromatográfico.....	51
5.2.4.2	Curva dos padrões amigdalina e prunasina.....	52
5.2.4.3	Metodologia de quantificação por CLAE.....	52
5.3	Análise estatística	53
5.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.4.1	Conteúdo de cianogênicos na casca <i>in natura</i>	53
5.4.2	Conteúdo de cianogênicos no processo de liofilização.....	54
5.4.3	Conteúdo de cianogênicos na secagem convectiva.....	54
5.4.4	Conteúdo de cianogênicos no processo de Extrusão Termoplástica (ET)	56
5.4.5	Conteúdo de cianogênicos no processo de secagem com Ultrassom acoplado (US)	58

5.4.6	Conversão da amigdalina em prunasina.....	59
5.4.7	Risco do consumo de alimentos cianogênicos	60
5.5	CONCLUSÃO	60
5.6	REFERÊNCIAS.....	60
	CONCLUSÃO GERAL	63
	SUGESTÃO PARA ESTUDOS FUTUROS.....	63
	ANEXOS – TRABALHOS PUBLICADOS.....	64

CAPÍTULO I- INTRODUÇÃO GERAL

1 Justificativa

O Brasil é um país fértil de clima propício para o cultivo de frutas tropicais e a produção destas tem se destacado como uma das principais atividades agroindustriais. Indústrias deste ramo, ao processarem as frutas para extraírem sucos e outros produtos, têm gerado significativas quantidades de resíduos e assim mais da metade do que se planta no Brasil é perdido ao longo da cadeia produtiva.

As cascas, albedos, membranas carpelares, sementes, aparas e vesículas de suco que vão para o lixo são alguns dos resíduos de frutas e hortaliças que possuem grande potencial como fonte de fibra alimentar. É um material abundante, de baixo custo e com boas propriedades para adição e agregação de valor em outros alimentos.

O maracujá é uma fruta típica de países de clima tropical como o Brasil. Para obtenção do suco de maracujá, as indústrias extratoras aproveitam somente a polpa, que representa cerca de 40% do peso do fruto. Os restantes são a casca e sementes que podem causar sérios problemas ao ecossistema e à saúde das populações próximas ao descarte.

Tratar esse problema é contribuir para a economia do país, para a preservação do meio ambiente e minimizar os distúrbios de saúde que são originados em boa parte por falta de certos cuidados com a alimentação.

A importância dos compostos funcionais presentes em alguns resíduos vegetais tem ampliado as pesquisas para viabilizar seu aproveitamento na alimentação humana. As características bioativas dos compostos fotoquímicos destas espécies na alimentação são determinadas pela existência de antioxidantes, como carotenóides, compostos fenólicos e fibras que estão relacionados à redução do risco de desenvolvimento de doenças.

Os benefícios da fibra estão diretamente associados à redução de doenças crônicas não transmissíveis como diabetes, doenças cardiovasculares e a prevalência de obesidade que são problemas atuais que a sociedade ocidental tem enfrentado marcados pela má-alimentação e estilo de vida. A casca do maracujá se tornou uma alternativa na tendência mundial de desenvolvimento de produtos com ingredientes que apresentam benefícios à saúde, porém a casca do maracujá contém compostos que exercem papel tóxico para o organismo humano pela sua conversão em ácido cianídrico.

A evolução da ciência dos alimentos apresenta um novo perfil ao uso de novas tecnologias. A tecnologia de extrusão termoplástica, por exemplo, é uma maneira de cozinhar o alimento possibilitando modificação nas matérias primas, dando-lhes novas formas e características funcionais. A extrusão também possibilita misturar ingredientes a base de grãos, materiais amiláceos, proteínáceos e fontes vegetais que poderão enriquecer o produto final. Durante o processo, ocorrem mudanças que caracterizam as vantagens de se trabalhar com esse sistema. Como exemplos de tais mudanças são observados a desnaturação de proteínas, a destruição de fatores antinutricionais, a inativação de enzimas, redução da carga microbiana entre outras. Sendo assim, a técnica de extrusão pode diminuir ou mesmo inativar os compostos tóxicos da casca do maracujá.

O aproveitamento de resíduos vegetais como a casca do maracujá para repor fibra alimentar através da adição de um material amiláceo podendo ter como resultado uma farinha instantânea que se tornará uma bebida é perfeitamente viável, quer do ponto de vista do benefício à saúde, denominadas de propriedades funcionais fisiológicas, quer das tecnológicas, que visam melhorar as características dos alimentos. Porém o produto final deve proporcionar segurança toxicológica para o consumidor. A utilização destes ingredientes se tornou a força motriz para o desenvolvimento de novos produtos na área de alimentos.

1.1. Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho é estudar a segurança toxicológica da casca do maracujá em possíveis alternativas para o aproveitamento dos coprodutos resultantes do processamento do maracujá na extração do suco, transformando-os em produtos de maior valor agregado e seguro.

1.1.1 Objetivos específicos

- Secagem da casca do maracujá para uso na extrusão e quantificação dos Glicosídeos Cianogênicos (GC).
- Estudar a secagem da casca do maracujá por método convencional e com ultrassom aplicado, avaliando sua atividade antioxidante.
- Fazer teste toxicológico (bioensaio) com a casca de maracujá *in natura*, através do teste da *Artemia salina*.
- Quantificar GC em outros processos de secagem das cascas de maracujá

1.2 Disposição da Tese

A tese foi disposta em cinco capítulos. O primeiro capítulo tratando da justificativa e objetivos. O segundo capítulo foi uma revisão bibliográfica onde as propriedades benéficas e a toxicidade das cascas do maracujá foi descrita. O terceiro capítulo narra o uso do ultrassom na secagem das cascas de maracujá e seus efeitos sobre o tempo e a difusividade efetiva. Também foi avaliada a atividade antioxidante em amostras secas com e sem ultrassom acoplado ao sistema de secagem. O quarto capítulo aborda sobre o bioensaio com *Artemia salina*. Nesse teste foi calculada a DL_{50} para cianeto de potássio e para as cascas de maracujá *in natura*. O quinto capítulo quantifica os glicosídeos cianogênicos de várias amostras tratadas por diversos tratamentos térmicos em comparação com a casca *in natura*.

CAPÍTULO II

BENEFÍCIOS E PERIGOS DO APROVEITAMENTO DA CASCA DE MARACUJÁ (PASSIFLORA EDULIS) COMO INGREDIENTE NA PRODUÇÃO DE ALIMENTOS

RESUMO

A produção do maracujá amarelo cresce no Brasil e o descarte inadequado das cascas representa tanto um problema para o meio ambiente, como a perda de ingrediente rico em fibras. O seu uso é fonte de renda para o produtor rural. Esta revisão traz os estudos que têm sido realizados sobre o aproveitamento da casca do maracujá, considerando-se os aspectos nutricionais e, também, uma alternativa segura, em termos toxicológicos, para o aproveitamento desse resíduo. Muitos autores avaliaram a casca do maracujá e detectaram teores de fibra alimentar de 35 a 90%; e os benefícios do seu consumo foram identificados por meio de testes in vivo em ratos e em humanos. Em função de interesse, incentivou-se o desenvolvimento de produtos enriquecidos em fibra alimentar utilizando esse resíduo como componente da formulação. Há muito tempo foram identificados glicosídeos cianogênicos no maracujá, exceto nas sementes. Os efeitos tóxicos de alimentos com cianogênicos são observados em países africanos, onde é comum o consumo da mandioca brava sem o tratamento adequado. O processo de extrusão termoplástica tem sido estudado como ferramenta útil na redução de substâncias tóxicas e sua utilização será importante para processar as cascas e reduzir cianogênicos aos níveis aceitáveis pela legislação.

Palavras-chave: Fibra alimentar, extrusão termoplástica, glicosídeos cianogênicos.

Título resumido: Benefícios e perigos da casca do maracujá.

ABSTRACT

The production of yellow passion fruit has increased in Brazil, and the inadequate disposal of peels has resulted in environment issue, and also a loss of fibers-rich ingredients. Its use contributes to increase the farmer income. This review analyzes the studies which have been performed on the use of passion fruit peel, considering the nutritional aspects, and to propose safe alternatives for employing this residue. Several investigators have assessed the dietary fiber contents in passion fruit peel which ranged from 35 to 90%, and the in vivo tests in mice and humans have identified the benefits of its consumption. Owing to this concern, it has strengthened the development of products enriched with dietary fiber as an ingredient in the formulation. A long time ago, the cyanogenic glycosides have been identified in passion fruit, except in the seeds. The toxic effects of foods containing cyanogenic compounds have been observed in African countries, where the cassava without adequate treatment has commonly been consumed. The thermoplastic extrusion procedure has been considered as a useful tool for reducing toxic components, and its use will be important for processing peels and to reduce cyanogens to the acceptable levels in accordance with the food regulation.

Keywords: Dietary fiber, thermoplastic extrusion, cyanogenic glycosides

2. Introdução

O Brasil produz diariamente toneladas de resíduos sólidos orgânicos resultantes da indústria de alimentos comprometendo todo o ecossistema ao redor, uma vez que são materiais altamente poluentes, (OLIVEIRA; BENELLI; AMANTE, 2009). Boa parte desses resíduos é gerada pelas indústrias extratoras de sucos, que ao processarem as frutas, descartam cascas, albedos, sementes, aparas e vesículas, (PELIZER e PONTIERI, 2007).

O maracujá (*Passiflora edulis* f. *edulis* e *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* O. Deg.) sofre muita perda durante o processamento, pois somente 30% de todo o peso do fruto é aproveitado, que é a polpa utilizada para a extração do suco.² Nos últimos anos, é tema de pesquisa a busca do uso desses resíduos no desenvolvimento de produtos de maior valor agregado como, por exemplo, farinhas com alto teor de fibras (LEORO, 2007; SANTOS et al., 2011; QUARESMA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2002; SPANHOLI, 2009; MATSUURA, 2005).

O aproveitamento de resíduos vegetais como fonte de fibra alimentar por meio de sua incorporação como ingrediente em produtos alimentícios tem grande potencial de viabilidade do ponto de vista nutricional, econômico e também ecológico. Porém, o produto final deve proporcionar segurança toxicológica para o consumidor. Portanto, o objetivo desta revisão bibliográfica é avaliar a utilização do epicarpo e do albedo do maracujá (chamado simplesmente de “casca”) como ingrediente, visto que muitos produtos têm sido desenvolvidos sem a avaliação da toxicidade da casca deste fruto e, assim, fomentar a pesquisa desse material com critérios de segurança. Esta pesquisa avaliou os dados levantados no período de 1983 a 2015.

2.1 Produção do Maracujá

O maracujá vem da palavra “maraú-va” que para os indígenas significa “fruto de sorver” que expressa “beber vagarosamente” ou ainda “polpa que se toma de sorvo”. Na língua Tupi a expressão é marakuia, que significa “fruto na cuia”. O tipo amarelo é formado de pedúnculo, epicarpo (que é a casca amarela mais exterior), mesocarpo (que é a parte branca da casca também denominada albedo), endocarpo ou polpa (que contém o arilo carnoso) e as sementes. Nas indústrias de sucos, ocorre o aproveitamento apenas do arilo carnoso, sendo as sementes, o albedo e o epicarpo dispensados, tornando-se importante problema ambiental, (ITAL, 1994).

Apesar do gênero *Passiflora* possuir um grande número de espécies (mais de 400), o cultivo comercial do Brasil está baseado em duas espécies - maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *edulis* e *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* O. Deg.) - devido ao maior rendimento do seu fruto em suco, (MELETTI, 2011).

A boa aceitação do seu suco e a valorização do preço da fruta fresca fez com que a produção de maracujá tivesse um crescimento exponencial (**Figura 1**) mesmo depois de enfrentar dificuldades cíclicas de comercialização e problemas fitopatológicos entre os anos de 1996 e 2009 (MELETTI, 2011).

Em 2010, a produção brasileira de maracujá foi de 920.158 ton., sendo seu cultivo realizado em pequenas propriedades com necessidade de fixação da mão de obra rural e empregando em torno de quatro pessoas por hectare (MELETTI, 2011). Apesar da queda da produção nos últimos anos, o Brasil ainda é o maior produtor e consumidor de maracujá.

Na indústria de processamento do suco do maracujá, o descarte ou o destino dos resíduos vegetais representam um crescente problema, devido ao aumento da produção a cada ano, uma vez que esses resíduos constituem a maior parte do peso do fruto, cerca de 60 a 70% total, (ITAL, 1994).

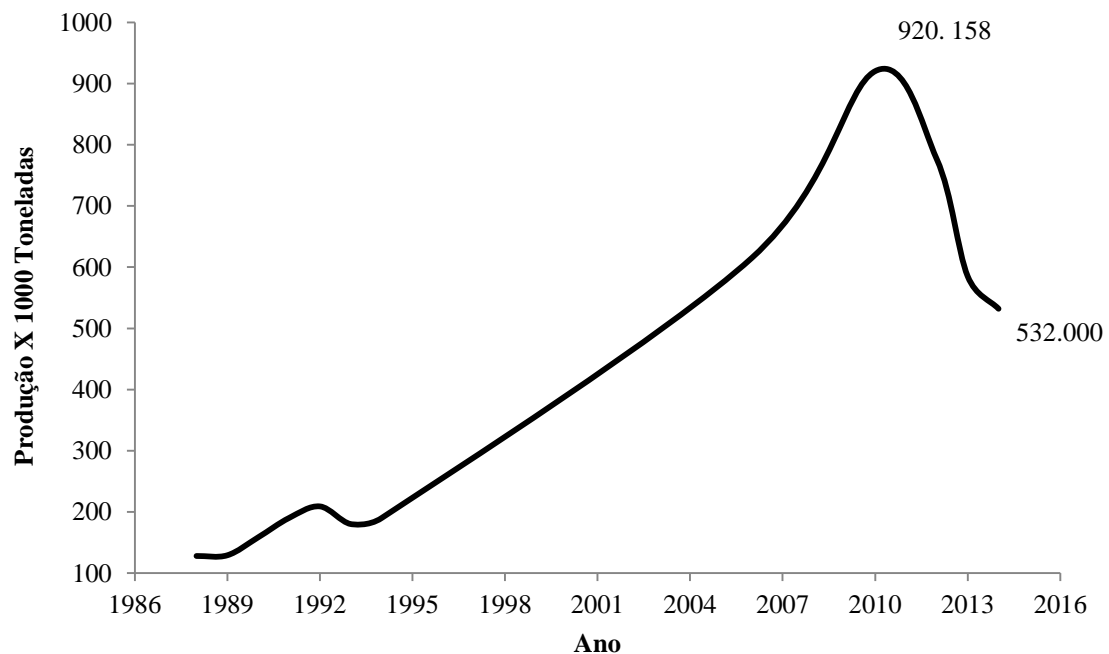


Figura 1 Produção de maracujá no Brasil entre os anos de 1989 a 2015. (Adaptado de Meletti, 2011).

2.2 As Fibras e os Compostos Bioativos da Casca do Maracujá e Seus Efeitos Sobre a Saúde

O albedo do maracujá já foi caracterizado por vários autores como sendo rico em fibras. Como mostrado na (Tabela 1), o teor de fibra alimentar da casca do maracujá varia de 35,03 a 90,32% e essa diferença pode estar relacionada às diferentes metodologias analíticas empregadas.

Segundo posicionamento da “American Dietetic Association” de 2002 (MARLETT, 2002), o consumo de fibras alimentares deve ser de 20 a 35g por dia ou 10 a 14g de fibras/1000 kcal. Na prática, essa quantidade não é alcançada pela maioria dos brasileiros, (SHILS et al. 2009).

A fibra alimentar apresenta efeitos benéficos à saúde, sendo responsável por auxiliar na redução do risco de certas patologias crônicas como, por exemplo, as doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade, câncer do cólon entre outras (SHILS et al. 2009). Esses achados têm levantado especial interesse em pesquisa por vegetais ricos em fibras, principalmente nas sociedades ocidentais onde a alta prevalência dessas doenças tem sido observada, devido ao grande consumo de alimentos a base de produtos processados refinados (YAPO; KOFFI, 2008).

Tabela 1 Teores de fibra alimentar da casca do maracujá amarelo

Teor de fibra na casca do maracujá (g/100g)	Referência
57,32	Córdova et al. (2005)
71,10	Matsuura (2005)
90,32	Santana et al (2007)
64,11	Leoro (2007)
73,50	Yapo e Koffi (2008)
70,67	Souza et al. (2008)
64,71	Gilciléia Inácio (2011)

As fibras alimentares dos vegetais podem ser consideradas como a parte resistente à hidrólise enzimática no trato gastrointestinal humano e são classificadas de acordo com sua hidrossolubilidade. A parte insolúvel da fibra (celulose, alguns tipos de hemicelulose, e lignina) permanece intacta em todo o trato gastrointestinal humano e atua aumentando a necessidade de mastigação, bolo fecal e o estímulo da motilidade intestinal (Shils et al, 2009). Pectinas e algumas hemiceluloses, gomas e mucilagens são partes da fibra que são hidrossolúveis e tendem a formar géis em contato com a água. Elas apresentam atividade hipocolesterolêmica e reduzem também os níveis de triglicerídeos sanguíneos e são também parcialmente metabolizadas por bactérias presentes na flora intestinal, (SHILS et al. 2009).

Os componentes da fibra alimentar do maracujá (*Passiflora edulis*) foram quantificados por Matsuura, (2005) encontrando 30,7% de celulose, 27,8 de pectina, 1,6% de hemicelulose e 1,1% de lignina (todos em base seca).

Janebro et al., (2008) estudando a farinha da casca do maracujá, mostrou que os níveis glicêmicos apresentados pelos pacientes após o uso de 30g diárias durante 60 dias são compatíveis com uma ação positiva no controle da glicemia. Foi verificado também um aumento do colesterol HDL nos mesmos 43 pacientes estudados.

Outros estudos têm mostrado que a pectina – abundante no maracujá - abaixa efetivamente o colesterol sem afetar o nível de HDL (MARGIS; COSNER; SILVEIRA, 2003). Silva et al., (2011) mostrou que, além do efeito hipocolesterolêmico, a pectina da casca de maracujá administrada em doses adequadas apresentou ação anti-inflamatória e propriedade hipoglicemiante em ratos diabéticos. Ainda segundo este estudo, a pectina contém um composto bioativo que tem potencial no tratamento alternativo do diabetes tipo 2.

A ação vasodilatadora dos polifenóis na *Passiflora edulis* foi observada no estudo de (ICHIMURA et al., 2006). Uma análise quantitativa mostrou que o extrato da casca da *Passiflora edulis* contém 20 µg/g de peso seco de luteolina e 41 µg/g de peso fresco de luteolina-6-C-glicosídeo. Segundo os autores, esses compostos mostraram ter efeito anti-hipertensivo em ratos. Também foi encontrado nesse extrato o ácido gama-aminobutírico (GABA) que é o principal neurotransmissor inibidor da transmissão pré-sináptica no sistema nervoso central (SNC). A falta da síntese do GABA ou o bloqueio de seus neurotransmissores no SNC, resulta em estimulação intensa, manifestada através de convulsões generalizadas.

Esse mesmo autor participando de outro estudo (KOZAKAI et al., 2005) já havia elucidado que a luteolina inibiu a expressão de genes de secreção endotelial (ET-1 Endothelin-1,) responsável pela secreção de várias substâncias vasoativas. ET-1 é um potente vasoconstritor regulador da pressão arterial e no trabalho de Kozakai foi mostrado que a luteolina pode inibir potencialmente a secreção e expressão gênica de ET-1 em células endoteliais aórticas de suínos.

O trabalho de (WATSON et al., 2008) demonstrou que o extrato da casca do maracujá roxo apresenta atividade antioxidante e antiinflamatória nos bioflavonoides e esses achados poderão ser úteis em outros tipos de terapia. Com a administração deste extrato, observou-se melhora dos sintomas clínicos em pacientes com asma, diminuição do chiado no peito, da tosse e melhora da falta de ar, além de ausência de possíveis efeitos colaterais.

Em outro estudo, trinta e três pacientes com osteoartrose no joelho receberam um preparado de extrato de casca de maracujá, sendo demonstrado melhora significativa nas funções físicas após 30 dias. Após 60 dias de administração percebeu-se melhora na rigidez e na dor. Os autores concluíram que os efeitos benéficos podem ser atribuídos às propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias contidas nas cascas de maracujá (FARID et al., 2010).

2.3 Toxicidade da Casca Do Maracujá

Embora os produtos à base de plantas sejam geralmente considerados seguros, sua toxicidade não pode ser descartada devido à ocorrência de constituintes cianogênicos em diversas espécies, como por exemplo, nas passifloras.

A casca do maracujá possui glicosídeos cianogênicos que são substâncias de defesa próprias dos vegetais para agirem contra seus predadores. Os dois cianogênicos que aparecem em maior quantidade nas cascas do maracujá são a Amigdalina e a Prunasina, (**Figura 2**). Os glicosídeos cianogênicos estão localizados nos vacúolos da célula vegetal e as enzimas que os degradam a ácido cianídrico ficam localizadas na parede celular. Quando, de alguma forma, o tecido vegetal é rompido, a enzima entra em contato com o glicosídeo desdobrando-o até ácido cianídrico como mostra a Figura 3.

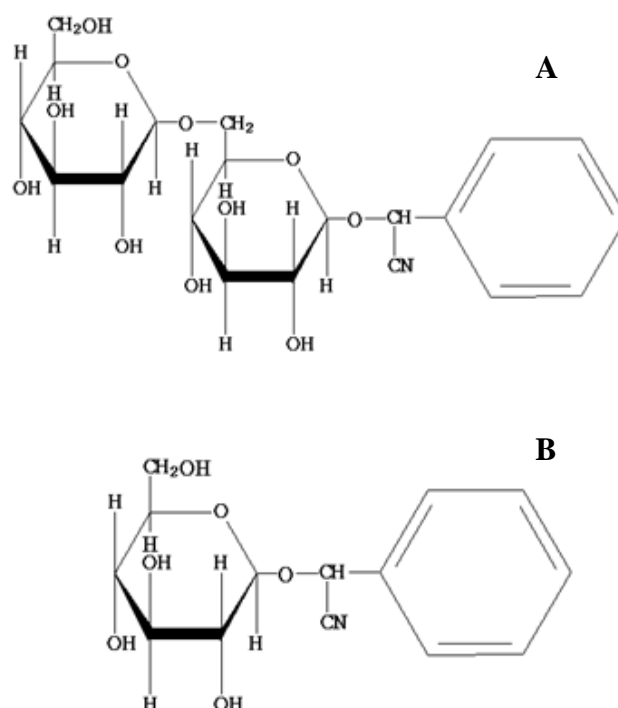


Figura 2 Glicosídeos cianogênicos Amigdalina(A) e Prunasina (B).

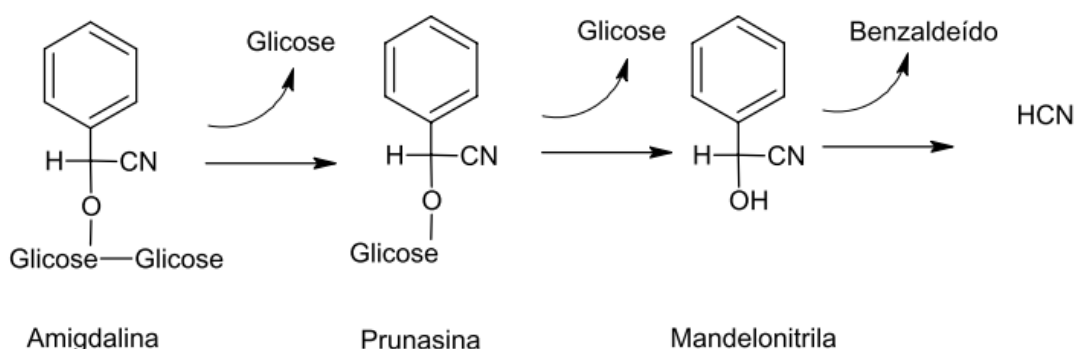


Figura 3 Reação enzimática da degradação do glicosídeo cianogênico amigdalina à prunasina, à mandelonitrila e ácido cianídrico.

Na circulação sanguínea, o cianídrico libera o íon cianeto, que liga-se fortemente ao ferro III no citocromo oxidase mitocondrial, responsável pelo transporte de elétrons na respiração celular. Assim, a via metabólica da fosforilação oxidativa (acontecendo na crista mitocondrial), onde é gerado o maior aporte de ATP, é então paralisada a respiração celular. Por essa razão, o intoxicado passa por um processo de asfixia celular que, dependendo da quantidade de cianeto no sangue, pode levar à morte (CHASSAGNE et al., 1996).

Glicosídeos cianogênicos estão presentes em uma vasta quantidade de vegetais sendo muito comuns em mandioca brava. Na casca de maracujá, muitos trabalhos vêm identificando e quantificando os compostos cianogênicos presentes. Um resumo destes pode ser visto na Tabela 2 e Tabela 3.

Rosenthalerem 1991 foi o primeiro a investigar e relatar a presença desses compostos em *P. edulis*. Chassagner e Crouzet, (1998) identificaram 5 glicosídeos cianogênicos nas cascas de maracujá (amigdalina, prunasina, sambunigrina e dois isômeros de amigdalina). Francisco, Helena e Pinotti, (2000) estudaram as flores e as folhas de *P. edulis* e relataram que essas espécies foram consideradas potencialmente cianogênicas no campo. Christensen e Jaroszewski (2001) também identificaram a presença de glicosídeos cianogênicos em *P. edulis*; Seigler et al., (2002) identificou em folhas de *P. edulis* novos cianogênicos; Ueatrongchit et al., (2010) separou e purificou a enzima hidroxinitrila liase de folhas de *P. edulis*; e Miller e Tuck, (2013) identificaram cianogênicos tanto em plantas como em frutos de *P. edulis*.

Outros autores quantificaram os glicosídeos cianogênicos em *P. edulis*. Spencer e Seigler, (1983) encontraram níveis significativos presentes em todas as partes, exceto nas sementes. Eles utilizaram a metodologia de Lambert, (1975) que consiste na hidrólise enzimática para determinar ácido cianídrico (AOAC, 1998).

Tabela 2 Teores de cianogênicos na casca do maracujá (*in natura*).

Teor de cianogênicos(mg/kg)	Referências
65,00 – 594,00	Spencer e Seigler (1983)
286,00	Chassagne et al. (1996)
117,00	Matsuura (2005)
784,30*	Leoro (2007)
74,67 – 231,67	Gilciléia Inácio (2011)

*Farinha de casca de maracujá

Tabela 3 Identificação dos glicosídeos cianogênicos em cascas de maracujá

Identificação dos glicosídeos	Ano
Rosenthaler	1991
Chassagne & Crouzet	1998
Francisco, Helena e Pinotti	2000
Christensen&Jaroszewski	2001
Seigler et al	2002
Ueatrongchit et al	2010
Miller & Tuck	2013

Existem vários métodos para quantificar analiticamente o ácido cianídrico (HCN) em alimentos. Para estudar a degradação e remoção de cianogênicos e monitorar os níveis residuais na obtenção de produtos, separar, quantificar os glicosídeos cianogênicos e o ácido cianídrico é um pré-requisito. Os métodos analíticos conhecidos mostravam-se inconvenientes, sem precisão e repleto de erros sistemáticos. Essers no ano de 1995 afirmou que o método mais promissor era o método enzimático desenvolvido por Cooke em 1978, sendo adequado para quantificação de cianogênicos, cianohidrinás e ácido cianídrico (ESSERS; JURGENS; NOUT, 1995) (RODNEY D. COOKE, 1978). Porém, ele mesmo fez uma ressalva de que esse método não foi comparado com o método oficial AOAC de 1984.

Chassagne et al., (1996) identificou e quantificou por CG/MS os compostos cianogênicos em *Passiflora edulis* e *P. edulis flavicarpa*. Foi encontrado no suco a quantidade de 125,6 ppm e nas cascas 285,7 ppm para *P. edulis* e 173,6 ppm para o suco e 366,1 ppm na casca de *P. edulis flavicarpa*. Foi concluído que uma vasta quantidade de compostos cianogênicos são normalmente encontrados em *P. edulis* SIM e *P. edulis flavicarpa* e que o mais importante composto presente é a prunasina representando 80% dos glicosídeos cianogênicos encontrados nas cascas.

Matsuura, (2005) quantificou os compostos cianogênicos pelo método da hidrólise ácida com ácido sulfúrico e reação de cor usando os ácidos isonicotínico e barbitúrico segundo (BRADBURY, 1999). Ele encontrou níveis de 117 mg/kg de casca de maracujá fresco. Em seu trabalho foi avaliado os teores de compostos cianogênicos em diferentes formas de processamento de albedo de maracujá amarelo, envolvendo cozimento. Foi observado que o cozimento do albedo sob pressão reduziu de forma rápida, porém com teores acima de 10 ppm. O cozimento em água, em pressão atmosférica e por tempo prolongado (120 minutos) reduziu os teores a níveis inferiores a 10 ppm. Porém no processo onde o albedo foi branqueado imerso em salmoura seguido de cozimento em água em pressão atmosférica foi o mais eficaz.

Bradbury et al., (1999) desenvolveu um método simples, rápido e de baixo custo com papel reativo para determinar os níveis totais de cianogênicos em mandioca e produtos de mandioca. O método desenvolvido por Bradbury consistia em uma preparação da enzima da casca da mandioca (linamarase) em contato com a amostra que reage com um papel impregnado de solução de ácido pícrico. Após a reação, a leitura da cor do papel eluída em água é feita em espectrofotômetro a 510 nm.

A Organização Mundial da Saúde estabeleceu um limite seguro de 10 ppm de cianeto total. Segundo Burns et al., (2012) esse limite máximo tem sido adotado na Austrália pela “Food Standards Austrália e Nova Zelândia”, enquanto 40 ppm é o limite permitido na Indonésia. A dose letal mais baixa publicada de HCN em humanos após administração oral é de 0.57 mg/kg de peso corpóreo (RTECS, 2004) em WHO, 2014. A ANVISA em Resolução de 2000 estabeleceu 4 ppm de HCN presente em farinhas de cereais, porém em 2005 essa resolução foi revogada e até agora não se estabeleceu outro limite para HCN em alimentos.

O efeito tóxico de cianeto em humanos depende do tamanho do corpo, do estado nutricional, da dose ingerida e do tempo de ingestão. A dose letal aguda de cianeto para humanos é de 0,5 a 3,5 mg/kg do peso corpóreo (HALSTROM F, MOLLER KD, 1945). Para uma criança de 20 kg, uma quantidade de 40 a 270 g de produtos com altos teores de cianeto já pode ser considerada letal.

Segundo o trabalho de Leoro, (2007), o farelo de maracujá após sofrer processamento (lavagem, corte, retirada da polpa, trituração das cascas, secagem, moagem e obtenção do farelo) apresentou 748,3 mg/kg de compostos cianogênicos totais. Spencer e Seigler, (1983) encontraram teores de compostos cianogênicos na faixa de 65 a 594 mg/kg de fruto fresco, enquanto Chassagne et al., (1996) reportaram teores de aproximadamente 286 mg/kg em casca de maracujá “in natura”.

Entre os vegetais que apresentam compostos cianogênicos, a mandioca brava é o mais estudado. Sua toxicidade já foi bem estabelecida por estudos epidemiológicos. Assim, uma correlação com outros vegetais, ainda não amplamente estudados, pode ser interessante.

A exposição aguda a alimentos que contém alto teor de glicosídeos cianogênicos pode causar náuseas, vômitos, diarreia, vertigem, fraqueza e por vezes pode levar à morte (BURNS et al., 2012).

O estudo de Cliff, (2011) faz ligação da intoxicação crônica com cianeto encontrado em pacientes de paraparesia espástica que consumiam produtos de mandioca processados de forma inadequada. Fatores da dieta como a falta de alimentos ricos em aminoácidos sulfurados, que são metabólicos da detoxicação dos efeitos do cianeto no organismo, e a dependência quase total da mandioca como alimento nos períodos de seca também contribuíram para desencadeamento da doença no norte de Moçambique em 1981.

O Ministério da Saúde de Moçambique investigando a mesma epidemia concluiu que esse tipo de paraparesia espástica está ligado a países tropicais que consomem mandioca ou produtos da mandioca como principal fonte de energia (MINISTRY OF HEALTH, 1984). Os habitantes desses locais se expõem de maneira mais acentuada ao risco de intoxicação alimentar por cianeto.

Konzo é o nome da síndrome de paralisia espástica simétrica. Acontece de forma abrupta e irreversível, com uma predileção por crianças e mulheres jovens e está invariavelmente associada ao consumo de alimentos contendo glicosídeos cianogênicos processados inadequadamente. Segundo Hipólito N e Cliff J., (2011) apesar de numerosos estudos epidemiológicos, clínicos e bioquímicos que visam elucidar os mecanismos etiológicos desta doença, sua etiologia permanece desconhecida, e ainda não há tratamento conhecido.

Essa doença continua a ser predominante em áreas endêmicas, provocando uma incapacidade significativa e aumento da mortalidade. E, infelizmente, segundo os estudiosos, o konzo continuará a ser um grave problema de saúde nos países da África caso nenhuma atitude seja tomada (HIPÓLITO N e CLIFF J., 2011).

Para a casca de maracujá existem poucos estudos com relação à sua toxicidade *in vivo*. Medeiros et al. (2009) em um ensaio clínico concluíram que a farinha do albedo da *Passiflora edulis* pode ser usada com segurança em pacientes portadores de dislipidemias. No entanto, esses resultados referem-se à dose utilizada no estudo (10 g três vezes ao dia, diariamente durante 8 semanas, sendo adicionado a um suco, refresco, sopa ou outro alimento). Nessas condições, não foram observadas alterações que pudessem comprometer seu uso como alimento com a saúde.

Segundo autores, o uso além do relatado, deve ser minuciosamente investigado. Maluf et al., (1991) estudando as folhas de *Passiflora edulis* destacaram que, apesar dessa espécie ser utilizada na medicina popular como tratamento hipnótico e sedativo, foi verificado

significativo efeito depressor não específico do sistema nervoso central. Além disso, a toxicidade hepatobiliar e pancreático para animais e humanos foram detectados.

O Departamento de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (FDA) no ano de 2002 informaram 15 casos de toxicidade ocasionados devido ao consumo de medicamentos fitoterápicos contendo em sua formulação vários ingredientes e entre eles *Passiflora edulis*. Houve relatos de batimento cardíaco irregular e taquicardia, dor de cabeça intensa, diarreia, pneumonia, fraqueza nas extremidades superiores e hemorragia intracerebral com dificuldade na fala. Entretanto muitos ingredientes estavam envolvidos e a toxicidade relatada não pode ser atribuída apenas a *Passiflora edulis*.

Sena, (2009) fez um levantamento de 31 trabalhos disponíveis na literatura sobre possíveis propriedades neurofarmacológicas de espécies de *Passiflora*. Desses, apenas 6 trabalhos foram realizados entre a década de 70 e 90 e os 25 artigos restantes foram publicados após 2000. A maioria das investigações diz respeito às espécies *P. incarnata* (17 artigos), seguido pela espécie *P. edulis* (10 artigos). Com relação à parte da planta usada, 14 artigos relatam os efeitos neurofarmacológicos de extratos obtidos a partir das folhas. Existem poucos estudos sobre as propriedades neurofarmacológicas de outras partes da espécie *P. edulis* segundo a autora.

2.4 Produtos Elaborados com a Casca do Maracujá

Seguindo a tendência mundial de desenvolvimento de produtos com ingredientes que apresentam benefícios à saúde, como por exemplo, o enriquecimento dos produtos com fibras, a casca de maracujá torna-se uma alternativa interessante para ser explorada como um melhorador da qualidade do carboidrato de produtos industrializados que pode ser avaliado segundo o índice glicêmico dos alimentos. Segundo alguns autores, alimentos com baixo índice glicêmico promovem menor elevação da glicemia pós-prandial, devido à sua lenta taxa de digestão e absorção. Por outro lado, os alimentos com alto índice glicêmico proporcionam um maior aumento da glicemia por serem absorvidos mais rapidamente (CARVALHO; FEDERAL; ROLFS, 2008).

A fim de avaliar o índice glicêmico de um cereal matinal elaborado com a utilização da casca do maracujá como ingrediente rico em fibras, Leoro, (2007) estudou a influência de alguns parâmetros do processo de extrusão. Os extrudados produzidos mostraram uma redução de 50% no índice glicêmico *in vitro* comparado ao pão branco. Apesar de a autora ter verificado a importância da adição da casca do maracujá na diminuição do índice glicêmico do produto, ela ressaltou que a diminuição dos níveis de cianeto não foi considerada adequada, não alcançando os níveis aceitáveis de acordo com a legislação brasileira (4ppm) e também da OMS (10ppm).

O uso de extrato seco da casca de maracujá com intuito de proporcionar uma melhora na tolerância à glicose em dietas de indivíduos diabéticos também tem sido estudado. Coutinho., (2007) elaboraram *cookie dieta* base de farinha de casca de maracujá-amarelo e analisaram a aceitação por parte dos consumidores. As melhores amostras, na opinião dos provadores, foram as que apresentaram menor teor de casca. Porém, a mais conveniente para lanches especificamente dietéticos seria a que apresentou cinco vezes mais a quantidade de fibra. Não foram analisados os níveis de cianogênicos no produto elaborado.

Com o objetivo da utilização da casca do maracujá como ingrediente rico em fibras, Santos et al., (2011) elaboraram biscoitos doces com farinha de albedo de maracujá. Para 1 (um) kg de biscoito foram utilizados 35% de trigo, 9% de farinha de maracujá e outros ingredientes convencionais para formulação de biscoitos, como açúcar, gordura e água. A avaliação físico-química dos biscoitos mostrou que em cada 100 g de produto havia 4,67 %

de fibra e 4,97 % de proteína. Os autores também não avaliaram os níveis de cianogênicos nos biscoitos.

A fim de avaliar a possibilidade da utilização deste coproduto do maracujá amarelo Quaresma et al., (2009) investigaram sua incorporação como ingrediente em barras de cereais. Além de casca de maracujá, também foram adicionados aveia em flocos, flocos de arroz e de milho, lecitina de soja e outros ingredientes coadjuvantes. As barras apresentaram teores de fibra alimentar total variando de 6,6 a 10,4%. Foi verificada a presença de polifenóis totais tanto no resíduo de maracujá como nas barras. A barra de cereal que apresentou maior quantidade de polifenóis foi a formulação de maior teor de casca adicionada. Os autores também não testaram os níveis de cianogênicos finais presentes nas barrinhas.

Santos et al., (2011) elaboraram biscoitos a partir de mandioca, casca de maracujá e farinha de trigo buscando obter um produto com elevado valor nutritivo, boas características sensoriais e de custo acessível. Com a adição de 17% de farinha de casca de maracujá pode-se obter um biscoito considerado como fonte de fibra segundo o descrito na portaria n. 27 de 1998 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e, com aceitação por parte dos provadores na análise sensorial. No entanto, também não foi estudado o teor dos cianogênicos no biscoito elaborado.

Oliveira et al., (2002) estudou o aproveitamento da casca do maracujá amarelo para produção de doces em calda e sua aceitabilidade entre consumidores de diferentes faixas etárias. Foi constatado que a casca do maracujá constitui boa matéria-prima para produção de doce em calda e é aceitável por várias faixas etárias de consumidores além de ser um alimento alternativo de baixo custo para população de baixa renda. O autor concluiu que esse resíduo pode se constituir em uma interessante complementação financeira aos pequenos empreendedores. Não foram testados teores de cianogênicos no produto.

Spanholi, (2009) elaboraram um produto com propriedades funcionais a partir do albedo de maracujá e avaliou a viabilidade de utilização de diferentes concentrações da farinha de albedo de maracujá na elaboração de massa alimentícia. Segundo autores, a massa adicionada de 10% de farinha de albedo de maracujá teve melhor aceitação. Nesse estudo também não foi testado níveis de cianogênico nos produtos.

Matsuura, (2005) desenvolveu barras de cereais adicionadas de casca de maracujá. A adição de até 7,8% de albedo de maracujá na formulação das barras não alterou a aceitação sensorial do produto. O autor tratou o albedo do maracujá de forma a alcançar uma redução dos cianogênicos a níveis inferiores a 10 ppm.

Com este levantamento, percebe-se que entre os muitos produtos que estão sendo desenvolvidos com a casca de maracujá, poucos estudos consideram a quantificação dos cianogênicos residuais como parte importante do estudo.

2.5 Diminuição de Substâncias Anti-Nutricionais e Tóxicas Através do Processamento por Extrusão Termoplástica

A extrusão termoplástica para processar alimentos é uma excelente forma de modificar coprodutos da indústria alimentícia se transformá-los em ingredientes alimentares para ser adicionado em uma ampla variedade de produtos. (NASCIMENTO et al., 2012) utilizou o resíduo resultante da extração do óleo de gergelim para elaborar biscoitinhos extrudados. O produto final se mostrou enriquecido com fibras, proteína, cálcio e com boa aceitação pelos consumidores.

Alguns trabalhos mostraram que o processo de extrusão termoplástica também é muito eficaz em diminuir e inativar fatores antinutricionais e outras substâncias tóxicas. Como exemplo disso o trabalho de Mukhopadhyay et al., (2003) mostrou diminuição de até 61% dos taninos do gergelim, mesmo trabalhando em temperaturas não muito altas (97°C),

em extrusora de parafuso único e com umidades altas (32 – 48%). Para o processo de extrusão termoplástica esses parâmetros não são considerados como tratamento severo.

Kelkar et al., (2012) com o objetivo de reduzir a presença de lecitinas tóxicas e oligossacarídeos causadores de flatulências utilizaram extrusão termoplástica para reduzir os efeitos desses compostos em farinha de feijão. Segundo os autores, houve uma significativa redução comparada ao cozimento tradicional por vapor. Eles ainda acrescentaram que os resultados poderiam ser melhores se a razão feijão-água fosse maior.

Através do processamento por extrusão termoplástica também é possível acrescentar aditivos para diminuir as substâncias tóxicas presentes. Mulla et al., (2011) acrescentaram diferentes aditivos (ácido cítrico, glicina, L-lisina, cloreto de cálcio, lactato de cálcio, biotina, tiamina) e verificaram a redução de 65% na formação de acrilamida em salgadinhos extrudados sem, no entanto, alterar as propriedades sensoriais dos salgadinhos.

Ascheri et al.⁴⁸ processaram pinhão manso por extrusão termoplástica e observaram redução de 55% em relação ao teor inicial de ésteres de forbol que são os principais compostos tóxicos presentes.

Leoro, (2007) processou casca de maracujá por extrusão termoplástica para elaborar cereal matinal a base de milho. O material foi processado em extrusora mono rosca de laboratório (Brabender). Os parâmetros de extrusão foram: parafuso com taxa de compressão de 3:1, rotação de 130 rpm, temperatura da última zona de extrusão variando de 120 a 160°C, umidade entre 18 e 28% e adição de farelo de maracujá de 0 a 30%. Os resultados para os teores de compostos cianogênicos totais ficaram entre 0 e 254 mg/kg sendo influenciado pelos teores de farelo adicionado e umidade de processamento. O autor mencionou que em baixo teor de umidade possivelmente ocorreu um rompimento da molécula de glicosídeo devido ao alto cisalhamento e alta-pressão dentro da extrusora, liberando o HCN.

Pequenas modificações no equipamento (tipo da extrusora, matriz, rosca, entre outras) e na matéria-prima podem levar a diferentes resultados finais da qualidade conforme descreve (CLERICI, M.T.P.S.; AHMED, 2008). A umidade de processamento é um dos parâmetros que mais influencia a modificação dos materiais. Desta forma poderá se obter produtos completamente diferentes, apenas variando a umidade inicial da matéria-prima. Se a umidade for alta, o produto final terá um menor cozimento, exercerá menor pressão sobre a matriz, reduzirá a geração de calor e a transformação do produto também será diminuída.

Assim o processo de extrusão termoplástica parece ser bastante eficaz na redução de compostos antinutricionais e na inativação de substâncias tóxicas presentes. Com a combinação de calor, força mecânica, pressão e teor de umidade pode-se transformar os materiais de forma que se pode chegar à redução total da parte tóxica do produto e, ao mesmo tempo, preservar seus nutrientes e conferir qualidade e segurança no produto final.

2.6 Conclusão

Como mostrado nos diversos estudos, a casca do maracujá, apresenta alto teor de fibras, tornando-se um ingrediente promissor para enriquecimento de formulações. Apesar dos benefícios à saúde atribuídos ao consumo de fibras, a utilização segura deste coproduto deve ser mais bem investigado, uma vez que esse material apresenta toxicidade pela presença dos compostos cianogênicos. Não há pesquisa suficiente atestando e comprovando sua inocuidade após diferentes tipos de processamento, inclusive por extrusão termoplástica.

Com o aprofundamento das pesquisas científicas e a aplicação de tecnologia adequada poderá ser possível o aproveitamento deste coproduto cujo uso poderá gerar produtos seguros e com alto valor agregado e, ao mesmo tempo, diminuir os danos ao meio ambiente.

2.7 REFERÊNCIAS

ANDO, N.; CRISTIANE, P.; FRANCY, Z.; MAURÍCIO, R.; WAGNER, A. S. C.; MÔNICA, R. C. ELABORAÇÃO DE COOKIE DIET COM FARINHA DE CASCA DE MARACUJÁ-AMARELO. Anais do XVI EAIC - Encontro Anual de Iniciação Científica - PIBIC/CNPq. **Anais...**Guarapuava - PR: 2007

AOAC. Copyright 1998 AOAC INTERNATIONAL. **Official Method 915.03 Hydrocyanic Acid in Beans Titrimetric**, v. 601, n. 1915, p. 1998, 1998.

ASSOCIATION, A. D. Position of the American Dietetic Association: Health Implications of Dietary Fiber. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 108, n. 10, p. 1716–1731, 2008.

BRADBURY, M. G.; EGAN, S.V.; BRADBURY, J. H. Picrate paper kits for determination of total cyanogens in cassava roots and all forms of cyanogens in cassava products. **J. Sci Food Agric**, v. 79, p. 593–601, 1999.

BURNS, A. E. J. HOWARD BRADBURY, TIMOTHY R. CAVAGNARO, ROSLYN M. GLEADOW, 2012. Total cyanide content of cassava food products in Australia. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 25, n. 1, p. 79–82.

CARVALHO, G. Q.; FEDERAL, U.; ROLFS, P. H. Índice glicêmico : uma abordagem crítica acerca de sua utilização na prevenção e no tratamento de fatores de risco cardiovasculares Glycemic index : a critical analysis of its use as a tool. v. 21, n. 5, p. 577–587, 2008, Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Nutrição e Saúde..

CHASSAGNE, D. JEAN C. CROUZET, CLAUDE L. BAYONOVE, RAYMOND L. BAUMES, 1996. Identification and Quantification of Passion Fruit Cyanogenic Glycosides. **Agriculture Food Chemistry**, p. 3817–3820.

CLERICI, M.T.P.S.; AHMED, A. E. Características Tecnológicas de Farinhas de Arroz Pré-Gelatinizadas Obtidas por Extrusão Termoplástica. **Ciênc. agrotec., Lavras**, v. 32, n. n5, p. 1543–1550, 2008.

ESSERS, A. J. A.; JURGENS, C. M. G. A.; NOUT, M. J. R. Contribution of selected fungi to the reduction of cyanogen levels during solid substrate fermentation of cassava. **International Journal of Food Microbiology**, v. 26, p. 251–257, 1995.

FARID, REZA, ZAHRA REZAIEYAZDI, ZAHRA MIRFEIZI, MOHAMAD REZA HATEF, MAHYAR MIRHEIDARI, HASSAN MANSOURI, HABIB ESMAELLI. 2010. “Oral Intake of Purple Passion Fruit Peel Extract Reduces Pain and Stiffness and Improves Physical Function in Adult Patients with Knee Osteoarthritis.” **Nutrition Research (New York, N.Y.)** 30 (9). Elsevier Inc.: 601–6. doi:10.1016/j.nutres.2010.08.010.

FERNANDO CÉSAR AKIRA URBANO MATSUURA. **ESTUDO DO ALBEDO DE MARACUJÁ E DE SEU APROVEITAMENTO EM BARRA DE CEREAIS**. [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, 2005.

HIPÓLITO, NZWALO; CLIFF, J. Konzo : From Poverty , Cassava , and Cyanogen Intake to Toxic-Nutritional Neurological Disease. **Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 6, p. 1–8,

2011.

ICHIMURA, T. et al. Antihypertensive effect of an extract of *Passiflora edulis* rind in spontaneously hypertensive rats. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 70, n. 3, p. 718–21, mar. 2006.

INFANTE, J. et al. AGROINDUSTRIAS DE FRUTAS TROPICAIS. **Braz. J. Food Nutr., Araraquara**, v. 24, n. 1, p. 87–91, 2013.

KELKAR, S. et al. Use of low-temperature extrusion for reducing phytohemagglutinin activity (PHA) and oligosaccharides in beans (*Phaseolus vulgaris* L .) cv . Navy and Pinto. **Food Chemistry**, v. 133, n. 4, p. 1636–1639, 2012.

KOZAKAI, T. et al. Luteolin inhibits endothelin-1 secretion in cultured endothelial cells. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 69, n. 8, p. 1613–5, ago. 2005.

LAMBERT, JACK L.; RAMASAMY, JOTHL ; PAUKSTELLS, J. V. Stable Reagents for the Colorimetric Determination of Cyanide by Modified Konig Reactions. **Analytical Chemistry**, v. 47, n. 6, p. 916–918, 1975.

LEORO. **DESENVOLVIMENTO DE CEREAL MATINAL EXTRUSADO ORGÂNICO À BASE DE FARINHA DE MILHO E FARELO DE MARACUJÁ**. [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, 2007.

LIGIA MOREIRAS SENA. **ATIVIDADE NEUROFARMACOLÓGICA DO PERICARPO DOS FRUTOS DE *Passiflora edulis* VARIEDADE flavicarpa DEGENER (MARACUJÁ) EM CAMUNDONGOS : ENVOLVIMENTO DE FLAVONOIDES C-GLICOSÍDEOS**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, 2009.

LÓPEZ-VARGAS, JAIRO H, JUANA FERNÁNDEZ-LÓPEZ, JOSÉ ÁNGEL PÉREZ-ÁLVAREZ, MANUEL VIUDA-MARTOS. 2014. “Quality Characteristics of Pork Burger Added with Albedo- Fi Ber Powder Obtained from Yellow Passion Fruit (*Passiflora edulis* Var . *Fl Avicarpa*) Co-Products” 97: 270–76. doi:10.1016/j.meatsci.2014.02.010.

LÓPEZ-VARGAS, JAIRO H., JUANA FERNÁNDEZ-LÓPEZ, JOSÉ A. PÉREZ-ÁLVAREZ, MANUEL VIUDA-MARTOS. 2013. “Chemical, Physico-Chemical, Technological, Antibacterial and Antioxidant Properties of Dietary Fiber Powder Obtained from Yellow Passion Fruit (*Passiflora Edulis* Var. *Flavicarpa*) Co-Products.” **Food Research International** 51 (2). Elsevier Ltd: 756–63. doi:10.1016/j.foodres.2013.01.055.

LÚCIA HELENA PELIZER, MÁRCIA HELENA PONTIERI, I. DE O. M. UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS AGRO-INDUSTRIAS EM PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS COMO PERSPECTIVA DE REDUÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL. **J.Techonol. Manag Innov.**, v. 2, n. 1, p. 118–127, 2007.

MARGIS, R.; COSNER, A. F.; SILVEIRA, R. D. O. Relação entre estressores , estresse e ansiedade. **R. Psiquiatr. RS, 25 (Suplemento 1)**, n. suplemento 1, p. 65–74, 2003.

MARIA, L.; MELETTI, M. AVANÇOS NA CULTURA DO MARACUJÁ NO BRASIL 1. **Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP**, v. E. 083-091, 2011.

MINISTRY OF HEALTH, M. Mantakassa : an epidemic of spastic paraparesis associated with chronic cyanide intoxication in a cassava staple area of Mozambique . 2 . Nutritional factors and hydrocyanic acid content of cassava products *. **World Health Organization**, v. 62, n. 3, p. 485–492, 1984.

NASCIMENTO, E. M. D. G. C. DO et al. Use of sesame oil cake (*Sesamum indicum* L.) on corn expanded extrudates. **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 434–443, jan. 2012.

OLIVEIRA, L. F. DE et al. APROVEITAMENTO ALTERNATIVO DA CASCA DO MARACUJÁ-AMARELO (*Passiflora edulis* F . FLAVICARPA) PARA PRODUÇÃO DE DOCE EM CALDA 1. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 3, p. 259–262, 2002.

OLIVEIRA, D. A.; BENELLI, P.; AMANTE, E. R. **Valorização de Resíduos Sólidos : Casca de Ovos como Matéria-Prima no Desenvolvimento de Novos Produtos**2 INTERNATIONAL WORKSHOP ADVANCES IN CLEANER PRODUCTION Key Elements for a Sustainable World: Energy, Water and Climate Change. **Anais...**2009

QUARESMA, IVONETE, BRENDA CRISTINA, FREITAS DE OLIVEIRA, ALESSANDRA SANTOS LOPES, SILVA PENA. 2009. “OBTENÇÃO DE BARRA DE CEREAIS ADICIONADA DO RESÍDUO INDUSTRIAL DE MARACUJÁ *.” **Revista Alimentação E Nutrição de Araraquara**.

RAJU, I. N., K. K. REDDY, C. K. KUMARI, E. B. REDDY, S. D. RAO, C. D. REDDY, AND R. R. WATSON. 2013. “Efficacy of Purple Passion Fruit Peel Extract in Lowering Cardiovascular Risk Factors in Type 2 Diabetic Subjects.” **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**.

RODNEY D. COOKE, G. G. B. AND J. M. B. PURIFICATION OF CASSAVA LINAMARASE. **Phytochemistry**, v. 17, p. 381–383, 1978.

SANTOS, A A O, A J A O SANTOS, A R ALVES, F C SANTANA, J V SILVA. 2011. “Elaboração de Biscoitos a Partir Da Incorporação de Produtos Da Mandioca E Casca de Maracujá (*Passiflora Edulis Flavicarpa*) Na Farinha de Trigo.”**Scientia Plena**7: 1–7.

SILVA, D. C. et al. Pectin from *Passiflora edulis* Shows Anti-inflammatory action as well as Hypoglycemic and Hypotriglyceridemic Properties in Diabetic Rats. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 10, p. 1118–1126, 2011.

SPANHOLI, L. V. R. DE O. Utilização de farinha de albedo de maracujá (*Passiflora edulis flavicarpa* degener) no preparo de massa alimentícia. **Alim. Nutr. Araraquara**, v. 20, p. 599–603, 2009.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S. Cyanogenesis of *Passiflora edulis*. **J. Agric. Food Chem.**, v. 2, p. 794–796, 1983.

VETTER, J. **Plant cyanogenic glycosides**. [s.l: s.n.]. v. 38

WATSON, RONALD ROSS, SHERMA ZIBADI, HOUSHANG RAFATPANAH, FARAHZAD JABBARI, RAMIN GHASEMI, JAVAD GHAFARI, HADI AFRASIABI, LAI YEAP FOO, AND REZA FARIDHOSSEINI. 2008. “Oral Administration of the Purple Passion Fruit Peel Extract Reduces Wheeze and Cough and Improves Shortness of Breath in Adults with Asthma.” **Nutrition Research (New York, N.Y.)** 28 (3): 166–71. doi:10.1016/j.nutres.2008.01.003.

YAPO, B. . M.; KOFFI, K. O. L. K. Dietary Fiber Components in Yellow Passion Fruit RindsA Potential Fiber Source. **Jounal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 3, p. 5880–5883, 2008.

CAPÍTULO III

3 EFEITO DA APLICAÇÃO DE ULTRASSOM SOBRE A CINÉTICA DE SECAGEM E PROPRIEDADE ANTIOXIDANTE DA CASCA DE MARACUJÁ

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da temperatura e da aplicação do ultrassom sobre a cinética de secagem e propriedade antioxidante da casca de maracujá. Para isso, a secagem dos experimentos (1ms^{-1}) foi feita nas temperaturas de 40, 50, 60 e 70°C sem e com a aplicação de ultrassom (21,7 kHz, 30,8 kW/m³). Dois modelos difusionais baseados na segunda lei de Fick foram utilizados para descrever matematicamente a cinética de secagem considerando ou não a resistência externa ao transporte da água. A capacidade antioxidante e os compostos fenólicos totais das cascas de maracujá seca foram avaliados. O aumento da temperatura e a aplicação do ultrassom reduziu significativamente o tempo de secagem. O modelo mostrou que a aplicação de ultrassom aumentou a difusividade e o coeficiente de transferência de massa, particularmente na temperatura mais amena testada, 40 e 50°C. Sob essas condições, a aplicação de ultrassom também reduziu a perda do conteúdo de compostos fenólicos e manteve a atividade antioxidante da casca de maracujá seca.

Palavras-chave: Ultrassom, secagem convectiva, resistência a transferência de massa, difusividade, antioxidantes.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of temperature and ultrasound application on drying kinetics and antioxidant potential of passion fruit peel. To this end, drying experiments (1ms^{-1}) were carried out at 40, 50, 60 and 70°C without and with ultrasound application (21,7 kHz, 30.8 kW/m³). Two diffusion models based on Fick's second law were used to mathematically describe the drying kinetics considering or not the external moisture transport resistance. The antioxidant capacity and the total phenolic content of dried passion fruit peels were assessed. The increase in temperature and the application of ultrasound significantly reduced the drying time. Modeling showed that the application of ultrasound increased both the effective diffusivity and the mass transfer coefficient, particularly at the mildest temperatures tested, 40 and 50°C. Under these conditions, ultrasound application also reduced the loss of total phenolic content and maintained the antioxidant activity of dried passion fruit peel.

Keywords: Ultrasonics, Convective drying, mass transfer resistance, diffusivity, antioxidants.

3.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um país conhecido pelo cultivo de frutas tropicais e tem se tornado um dos principais produtores de maracujá amarelo, e sua maior proporção comercializada é o suco. Em decorrência da extração do suco é gerado considerável conteúdo de resíduo que representam 65-70% de cascas e sementes, (OLIVEIRA et al., 2002). Os resíduos sólidos, além de criar potenciais problemas ambientais, representam perdas de energia e matérias-primas que podem conter substâncias com alto valor agregado, como é o caso da casca do maracujá.

A busca de compostos naturais eficazes e não tóxicos com atividade antioxidante tem sido intensificado nos últimos anos (LOBO, V., PATIL, A., PHATAK, A., CHANDRA, N., 2010). Esta opção pode representar uma forma de reutilizar os resíduos do processamento do fruto, que é ao mesmo tempo altamente benéfica e economicamente vantajosa. Na verdade, o maracujá contém pequenas frações de proteínas (4,6%) e de gordura (0,6%), mas tem sido relatado que é rico em fibras (35-90% de matéria seca) e compostos com atividade antioxidante. Nesse sentido, flavonoides tais como quercetin, luteolina ou cianidina 3-O-glicosídeo (FARID et al., 2010) com alta atividade antioxidante (RAJU et al., 2013) tem sido identificada por uma série de autores os quais tem proposto seu uso como uma fonte de ingrediente para o desenvolvimento de alimentos funcionais (CONTRERAS-CALDERÓN et al., 2011; INFANTE et al., 2013; LÓPEZ-VARGAS et al., 2013; MARTÍNEZ et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2002; QUARESMA et al., 2009).

A secagem da matéria prima é uma etapa comumente da extração de compostos antioxidantes, pois permite que a matéria-prima se estabilize fazendo fácil o armazenamento e evitando a interferência da água no processo de extração (GARCIA-PEREZ et al., 2012). A secagem com ar quente é um dos mais utilizados métodos de secagem de vegetais. Entretanto, mudanças físicas e químicas tomam lugar durante o processo, afetando a qualidade da desidratação do produto em termos nutricionais e nas características sensoriais. O longo tempo de processo necessário para a desidratação e a elevada temperatura usualmente empregada são os principais fatores que não apenas influenciam os parâmetros de qualidade, o conteúdo de vitamina (LABUZA, 1985), a atividade antioxidante (AHMAD-QASEM et al., 2013a), mas também faz da secagem convectiva uma das operações que mais demanda energia (MUJUMDAR e DEVAHASTIN, 2000). A aplicação de ultrassom de alta intensidade durante a secagem pode intensificar a operação, reduzindo o tempo de processo e/ou decrescer a temperatura de tratamento (CÁRCEL, et al., 2014). As ondas ultrassônicas de alta frequência causam um estresse mecânico dentro do produto sólido produzindo micro agitações na interface sólido-gasosa que pode afetar o transporte interno e externo da umidade (CÁRCEL et al., 2012, 2014, GALLEGO-JUÁREZ, 2007), sendo a estrutura porosa a mais suscetível aos efeitos do ultrassom que as estruturas densas (OZUNA et al., 2014). Nesse sentido, a casca de maracujá apresenta estrutura porosa semelhante a casca de laranja, principalmente a lâmina do albedo, a qual é suscetível a secagem assistida com ultrassom (GARCIA-PEREZ et al., 2012).

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da temperatura de secagem com e sem a aplicação de ultrassom sobre a cinética de secagem e sobre a atividade antioxidante.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Matéria-prima

Amostras de maracujá de origem Colombiana foram compradas no mercado de Valencia, Espanha. Os frutos foram selecionados segundo o semelhante grau de maturidade. As peças foram cortadas de forma retangular com uma lâmina afiada nas dimensões de (0.044 X 0.024 X 0.007 ± 0.001 m) (**Figura 3**). A umidade inicial das amostras foi medida com secadora à vácuo a 70°C e 200 mmHg até peso constante de acordo com o método n° 934.06 (AOAC, 1997).



Figura 3 Corte das cascas de maracujá nas dimensões (0.044 X 0.024 X 0.007 ± 0.001 m).

3.2.2 Secagem dos Experimentos

Um secador com ultrassom acoplado (Figura4) descrito em detalhes por Riera et al., 2011, foi utilizado para realizar os experimentos. O sistema é provido de uma câmara de secagem cilíndrica vibrante com um transdutor piezoelétrico (21,8,kHz). Uma unidade de impedância correspondente permite a saída de impedância do gerador para ser sintonizado na frequência da ressonância do transdutor do sistema com um melhor rendimento elétrico. Um campo de ultrassom de alta intensidade (até 154,3 dB (decibéis)) produz som dentro do tambor de secagem no interior da câmara enquanto o ar quente ventila. As amostras foram

colocadas aleatoriamente usando um suporte de amostra personalizado que permite o fluxo de ar passar de forma homogênea ao tratamento de ultrassom (Figura 5).

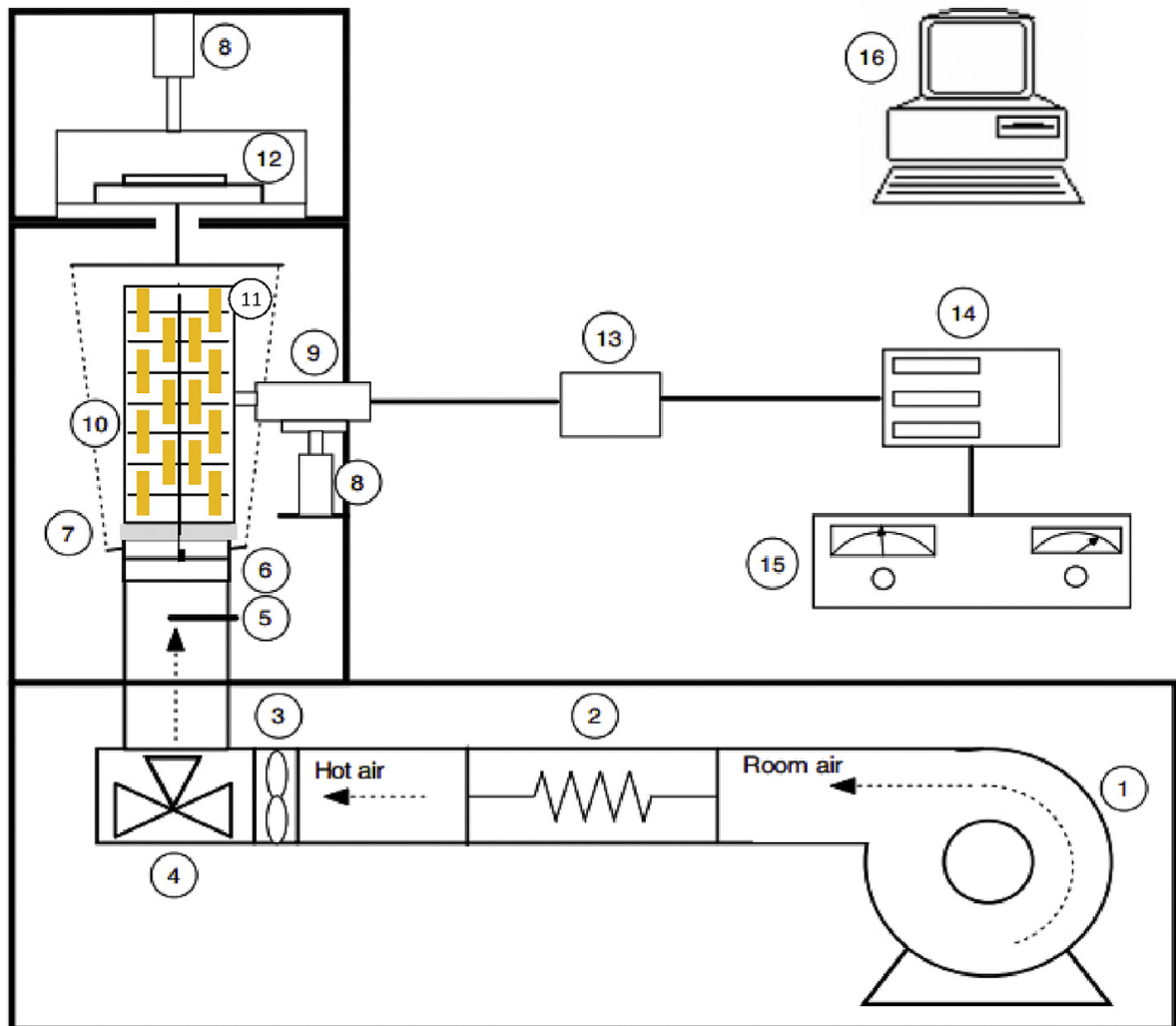


Figura 4 Esquema do secador assistido com ultrassom: 1. Ventilador; 2. Unidade de aquecimento; 3. Anenômetro; 4. Válvula de três vias; 5. Termo-par; 6. Tambor onde ficam as amostras; 7. Material acoplado; 8. Braço pneumático; 9. Transdutor ultrassônico; 10. Cilindro vibrante; 11. Amostra; 12. Balança; 13. Unidade de impedância; 14. Waltímetro; 15. Gerador de ultrassom de alto desempenho; 16. PC.

O processo de secagem foi feito em triplicata por quatro diferentes temperaturas (40, 50, 60 e 70°C) sem ultrassom (AIR) e com aplicação de ultrassom (AIR+US; 21,7kHz, 30, 8 kW/m³). Em cada caso, a velocidade de ar de 1 m s⁻¹ foi constante. O processo de desidratação foi interrompido ao identificar a perda de 80% de seu peso inicial.

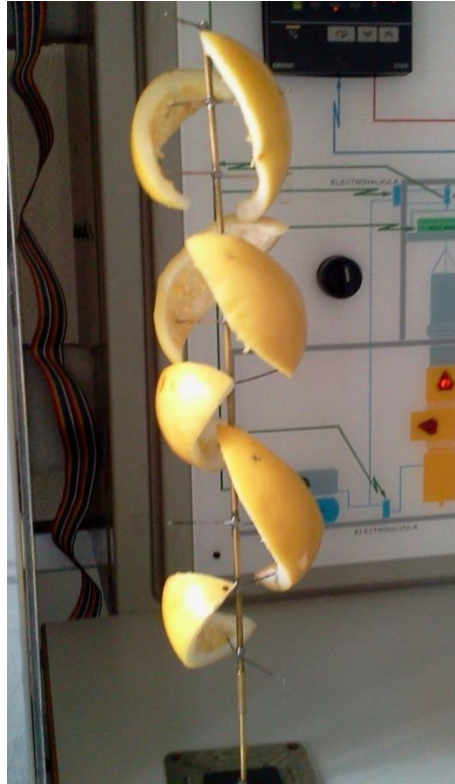


Figura 5 Suporte para amostras.

3.2.3 Modelagem Matemática

Para os fins de modelagem, foi assumido que a amostra exibiu o comportamento de lâmina infinita e, portanto, o fluxo da umidade durante a secagem aconteceu em apenas uma direção. Considerando a difusividade efetiva da umidade como constante e o sólido como isotrópico, o modelo difusional baseado na Lei de Fick usou o modelo matemático que descreve a cinética de secagem de acordo com a Equação 1.

$$\frac{\partial W(x, t)}{\partial t} = D_e \frac{\partial^2 W(x, t)}{\partial x^2} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde W é o conteúdo da umidade (kg de água/kg de matéria seca – m.s.); D_e é a difusividade efetiva da umidade (m^2/s); t é o tempo em (s); e x é a direção do transporte da água (m). A (Equação 1) considerou como condição inicial, que o conteúdo de umidade da amostra foi uniforme ao começar o processo de secagem. A casca externa do maracujá constitui uma barreira natural contra a desidratação e, por essa razão, foi considerado como uma camada impermeável. Assim, foi considerada que o transporte de umidade dos experimentos ocorreu a partir da camada impermeável para o lado oposto da amostra sendo então, o transporte de umidade duas vezes a espessura conforme (Figura 6).

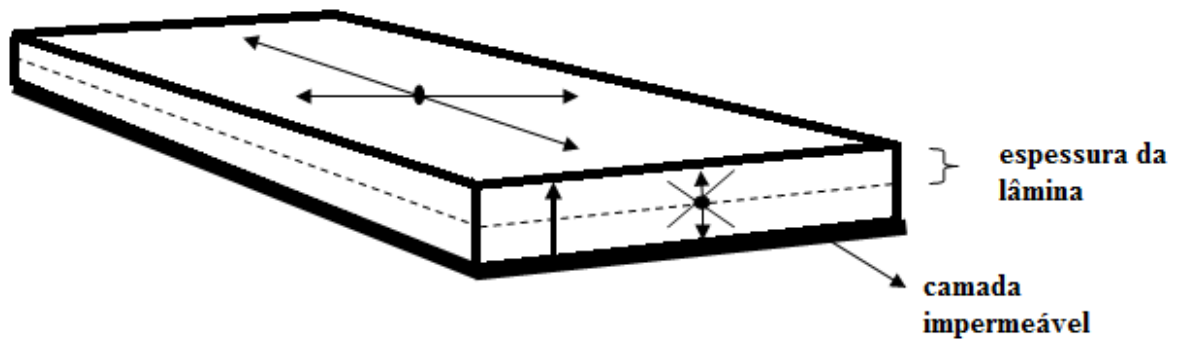


Figura 6 Transporte da umidade na direção considerada pelo modelo de secagem da casca de maracujá.

Este fato foi incluído no modelo através das condições de contorno mostrados na (Equação 2).

$$\frac{\partial W(0, t)}{\partial x} = 0 \quad \text{Eq. 2}$$

Em relação à segunda condição de contorno, duas diferentes situações foram consideradas, as quais resultaram em dois diferentes modelos matemáticos. Na primeira condição, a resistência externa a transferência de umidade da matriz foi negligenciada (Modelo NER), assumindo que o conteúdo de umidade da superfície do sólido achava-se em equilíbrio quando começou o processo de secagem (Equação 3). Entretanto, nesse caso, a cinética foi controlada apenas pelo movimento da umidade de dentro do sólido.

$$W(L, t) = W_{eq} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde: L é a espessura da amostra e W_{eq} é o conteúdo da umidade de equilíbrio (kg água/kg d.m.). Esse equilíbrio do conteúdo de umidade foi estimado da isoterma de sorção da casca de maracujá obtido do trabalho de Medeiros et al., (2006). A solução analítica do Modelo NER, integrada para o volume da amostra, predisse o teor de umidade da amostra durante a secagem (Equação 4), (CRANK, 1977).

$$W = W_{eq} + (W_0 - W_{eq}) \left[2 \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{\lambda_n^2 L^2} e^{-D_w \lambda_n^2 t} \right] \quad \text{Eq. 4}$$

O Modelo NER foi ajustado aos dados dos experimentos pela difusividade efetiva da umidade (D_e) identificada que minimizou a soma das diferenças dos quadrados e calculou o conteúdo de umidade. Para isso, um Método de otimização de gradiente, disponível na ferramenta Solver do (Microsoft Excel 2007 TM, Microsoft, USA) foi utilizado.

Na segunda condição, a resistência externa ao transporte da umidade foi introduzido dentro do modelo pela mudança da (Equação 3) pela (Equação 5), Modelo (ER).

$$-D_e \rho_{ss} \frac{\partial W_p(L, t)}{\partial x} = k(\varphi_e(L, t) - \varphi_{air}) \quad \text{Eq. 5}$$

Onde: ρ_{ss} é a densidade do sólido seco (kg d.m./m³); k é o coeficiente de transferência de massa (kg de água/m²s), a_w é a atividade de água e φ_e é a umidade relativa do ar de secagem. Essa expressão reflete como a umidade fluiu da superfície do sólido por difusão e da superfície para o ar de secagem por convecção. Nesse caso, o modelo foi resolvido usando um método de diferenças finitas implícitas usando um software chamado Matlab 2011B[®] (Mathworks, Inc, Natick, USA). Assim, foi identificado simultaneamente os parâmetros cinéticos de (D_e) e o coeficiente de transferência de massa (k), o qual, como no NER, minimizou a distância entre o conteúdo de umidade experimental e a calculada. Nesse caso, a otimização foi feita por meio do método SIMPLEX disponível no MatLab (fmin – função de pesquisa). A resistência ao transporte de massa interno e externo foram comparados considerando o número adimensional Sherwood (representa a razão de transferência de massa convectiva e difusiva).

O percentual de variância explicou como os modelos se encaixaram aos dados de acordo com a Equação 6.

$$VAR = \left[1 - \frac{S_{calc}^2}{S_{ex}^2} \right] \cdot 100 \quad \text{Eq 7}$$

Onde: S_{ex}^2 e S_{calc}^2 são a variância dos experimentos e dos dados calculados, respectivamente.

A influência da temperatura da secagem sobre a difusividade efetiva foi analisada pela equação do tipo Arrhenius (Equação 8).

$$D_e = D_0 \exp\left(\frac{E_a}{RT_a}\right) \quad \text{Eq. 8}$$

Onde: D_0 é o fator pré-exponencial (m²/s), E_a a energia de ativação (kJ/mol), R a constante universal dos gases (kJ/mol K), e T_a a temperatura absoluta (K).

Aplicando-se logaritmo neperiano a ambos os membros da equação de Arrhenius, tem-se:

$$\ln D_e = \ln D_0 - \frac{E_a}{RT} \quad \text{Eq; 9}$$

3.2.4 Determinação da Propriedade Antioxidante das Cascas de Maracujá.

A propriedade antioxidante das amostras foi medida nos extratos obtidos de amostras frescas e secas. Para isso, aproximadamente 5 g de amostra foi moída em um misturador doméstico. A extração foi feita em um balão volumétrico usando etanol a 96% como solvente e a proporção do peso/volume foi de 0,25g/5mL. Foi então colocado em agitação magnética a temperatura ambiente (20 ± 1°C) por 30 minutos. Logo após, os extratos foram filtrados usando um filtro quantitativo de papel e protegido da luz sendo armazenados a 4°C.

3.2.4.1 Capacidade antioxidante (CA) pelo método FRAP.

A capacidade antioxidante (CA) das cascas de maracujá secas foi avaliada usando o método pela redução do ferro (Ferric-Reducing Ability Power (FRAP)) seguindo o procedimento descrito por (BENZIE; STRAIN, 1996) com algumas modificações. A um pH baixo e em presença de um redutor (antioxidante), o complexo de tripiridiltriazina (TPTZ) com Ferro (II) se reduz a forma ferrosa, desenvolvendo um intenso cor azul com uma absorção máxima a 595nm.

Reagentes:

- Tampão acetato sódico anidro 0,3 M pH 3,6.

Foi pesado 0,155g de $C^2H^3NaO^2$ (Sódio Acetato) 99% e 0,8 mL de ácido acético glacial por 50 mL e ajustado o pH para 3,6 com ácido acético (várias gotas foram colocadas suficientemente para que o pH baixasse para 3,6). O valor do pH é importante para não precipitar o FRAP. Preparo dessa solução foi diário.

- $FeCl^3 \cdot 6 H^2O$ 20 milimolar

Pesou-se 0,27165 g, e se dissolveu em água e foi avolumado a 50 mL com água destilada. Essa solução pode se manter por vários dias na geladeira e protegido da luz.

- TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) (Fluka, REF. 93285) 10 mM em HCl 40 mM: preparou-se o HCl 40 mM tomando 332,9 μ L de HCl 37% e avolumando com água destilada a 100 mL. Foi obtido o TPTZ 10 mM dissolvendo 0,0624g em HCl 40 mM e avolumado com HCl 40 mM a 20 mL. O preparo dessa solução foi diário. Conservou-se em geladeira protegido da luz.

- Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxilivo) (Sigma, ref. 23,881-3)

Foi dissolvido em meio que se encontravam as amostras e foi preparada uma curva padrão de Trolox com pontos entre 50 e 750 μ M.

Reagente FRAP – Se preparou misturando na seguinte ordem:

- 2,5 mL de tampão
- 2,5 mL de solução TPTZ
- 2,5 mL de solução de $FeCl_3$

Preparava-se sempre no dia da análise e era mantido em banho maria para homogeneizar visto que precipita. O FRAP foi preparado pelo cálculo em função do número de amostras que se faria direto nas cubetas.

Procedimento:

- Preparou-se 3 cubetas por amostra (triplicata) e mais uma do branco (com o meio de extração).
- Preparação de uma curva padrão de Trolox, 3 cubetas por padrão. Obviamente a curva Trolox foi feita imprescindivelmente a primeira vez, e posteriormente apenas esporadicamente, ou quando se trocou os reagentes.
- Num espectrofotômetro com carro se colocaram as cubetas por ordem de agitação e se anotou a medida de absorção aos 30 minutos.

Foram necessárias cubetas descartáveis semimicro, com capacidade de 1,5 mL. Se misturou respeitando a seguinte ordem:

- 30 μ L de água destilada
- 30 μ L de amostra ou padrão (previamente se fez um branco com 30 μ L de solvente)
- 900 μ L de FRAP.

Agitaram-se todas as cubetas em banho por poucos minutos. A absorvância foi anotada de 595 nm a 37°C aos 30 minutos.

Cálculo:

Se realizou uma curva de calibração de Trolox representando concentrações do padrão frente a absorvância aos 30 minutos. Expressou-se como concentração equivalente de Trolox aos 30 min. (μmol de Trolox por g de massa seca de casca de maracujá).

3.2.4.2 Conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT) – Método Folin-Ciocalteu

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método descrito por (GAO; BJÖRK, 2000). O reagente Folin Ciocalteu é uma mistura de ácidos fosfotungstácico e fosfomolibdico de coloração amarela. Esses compostos se reduzem ao reagirem com os compostos fenólicos, originando óxidos de tungstênio e molibdeno de cor azul que se pode medir espectrofotometricamente a uma absorvância máxima de 765nm.

Reagentes:

- Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Madrid, Espanha)
- Carbonato de sódio a 20% (p/v)

Procedimento:

1. Em uma cubeta (4,5 mL) para espectrofotômetro se misturou 100 μL de amostra (extratos) com 0,2 mL de reagente Folin e 2 mL de água destilada. Essa mistura foi incubada durante 30 minutos a temperatura ambiente (25°C).

2. Após a incubação, se adicionou a cubeta 1 mL de carbonato de sódio a 20% e se incubou novamente durante 1 h a temperatura ambiente protegido da luz.

3. Após a última incubação, se mediu a absorvância das amostras a 765nm.

A quantificação dos compostos fenólicos totais se realizou com respeito a uma curva de ácido gálico e os resultados foram expressos em equivalente de ácido gálico (EAG), mg EAG/100g m.s. Todas as determinações se realizaram em triplicata.

3.2.5 Degradação de AC e CFT.

O percentual de degradação (% Degradação) para a AC e CFT foi estimada usando a (Equação 9).

$$\% \text{ Degradação} = \frac{(C_i - C_f) \cdot 100}{C_i} \quad \text{Eq. 9}$$

3.2.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microestrutura da amostra seca de casca de maracujá foi estudada pela microscopia obtida por MEV. Para isso, as amostras foram quebradas e o exame foi realizado

usando um microscópio eletrônico (SEM) TM 3000 (Hitachi High-Technologies Corporation, Tóquio, Japão) a 15 kV tensão de aceleração.

3.2.7 Análise estatística

Uma análise multifatorial de variância e a LSD (Least Significance Difference) foi efetuada. Os intervalos foram estimados para determinar a significância dos fatores de secagem (temperatura e aplicação de ultrassom) na eficácia da (D_0), no (k), na AC, nos CFTs e nas interações entre fatores. A análise estatística foi realizada utilizando um pacote de software Statgraphics 5.1 (Statistical Graphics Corporation, VA, EUA).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Cinética de Secagem dos Experimentos

As amostras de cascas de maracujá usadas nos experimentos tiveram uma umidade média de $7,0 \pm 1,9$ (kg de água/kg m.s.). Após secagem (perda de 80% do peso inicial), as amostras tiveram uma umidade média de $0,47 \pm 0,07$ (kg de água/kg m.s.). Em todas as condições testadas foram analisadas as cinéticas apenas dos períodos de queda da secagem.

3.3.2 Influência da temperatura do ar

Como esperado, a temperatura do ar de secagem afetou a cinética (Figura 7) acelerando o processo à medida que aumentava a temperatura. Assim, os experimentos AIR realizados a 70°C foram 75% mais rápidos que os realizados a 40°C (Tabela 3). A influência da temperatura sobre os níveis de secagem depende do tipo de produto que está sendo considerado (GAMBOA-SANTOS et al., 2013; GARCIA-PEREZ et al., 2012; MULET, et al., 1987).

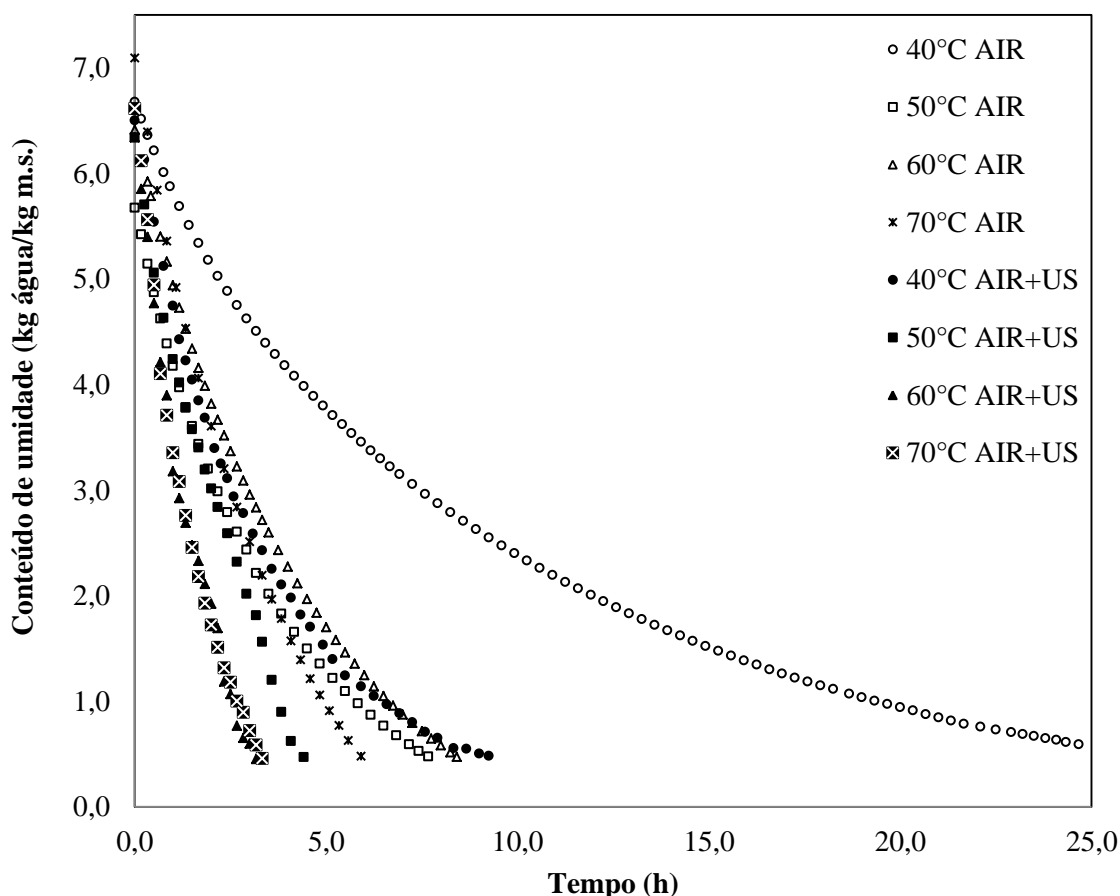


Figura 7 Cinética de secagem experimentais da casca do maracujá realizada sem (AIR) e com (AIR + US) aplicação de ultrassom (21,7 kHz; 75W) a 1m/s e temperatura de 40, 50, 60, 70°C.

De acordo com Strumillo e Kudra,(1986), o aumento da temperatura reduz a umidade relativa do ar da secagem, aumentando o gradiente de umidade entre o produto e o ar. Além disso, as mais altas temperaturas aumentam a mobilidade da água dentro do produto e a energia disponível no meio para a evaporação da água que facilita o processo de secagem. No entanto, o uso de alta temperatura durante a secagem pode levar a grandes perdas do valor nutricional (CHEN; YANG; LIU, 2011; HERAS-RAMÍREZ et al., 2012).

Tabela 3 Tempo de secagem para alcançar a perda de 80% do peso inicial de amostras de cascas de maracujá (AIR) e (AIR + US) (21,7 kHz, 75 W) (Air = ar; US = ultrassom)

Temperatura (°C)	Tempo de secagem (h)	
	AIR	AIR+US
40	21.8 ± 2.9	8.8 ± 1.5
50	12.0 ± 3.1	6.2 ± 1.1
60	7.9 ± 0.9	4.9 ± 0.4
70	5.4 ± 0.3	3.9 ± 0.7

3.3.3 Influência da aplicação do ultrassom

A aplicação de ultrassom durante a secagem também afetou significativamente a cinética de secagem, reduzindo o tempo de secagem; esta influência foi dependente da

temperatura do ar utilizado (Figura 6). Assim, a 40°C, a aplicação de ultrassom reduziu o tempo de secagem em 60%, enquanto que a 70°C, a redução no tempo de secagem foi de apenas 28% (Tabela 3). Nos experimentos realizados a 50°C e 60°C, o aplicação de ultrassom produziu reduções intermediárias no tempo de secagem (49% e 38%, respectivamente).

A eficácia da aplicação de ultrassom diminuiu quando a temperatura de secagem aumentou, a qual foi previamente encontrado por (GALLEGO-JUÁREZ, et al., 1999). A redução do tempo de secagem induzida pela aplicação de ultrassom no presente trabalho foi no mesmo intervalo que resultados anteriores para produtos semelhantes feitos em condições comparáveis. Assim, quando as cascas de laranjas foram secas a 40°C, foi verificada redução do tempo de secagem de 45% quando se aplica ultrassom (37 kW/m³) (GARCIA-PEREZ et al., 2012). No caso da secagem de casca de limão (40°C; 37 kW/m³), o tempo de secagem observado foi reduzido em 53% (GARCIA-PEREZ et al., 2009).

Durante a secagem da berinjela, um produto altamente poroso também, ao aplicar ultrassom a 18,5 e 37 kW/m³, reduziu o tempo de secagem de 50 e 70% respectivamente (PUIG et al., 2012). No caso da maçã, que possui uma porosidade inferior, no trabalho de Rodríguez et al., (2014) utilizou a aplicação de ultrassom (30,8 kW / m³) reduzindo o tempo de secagem em 54, 46 e 17% quando a secagem foi realizada a 30, 50 e 70°C respectivamente.

Uma possível explicação para este fato pode ser encontrado na quantidade relativa de energia fornecida pela secagem ao ar e com ultrassom. Assim, os efeitos do ultrassom sobre a taxa de secagem são significativos nas temperaturas mais baixas, quando a energia fornecida pelo ar de secagem é baixa. No entanto, em temperaturas mais elevadas, o maior nível de energia fornecido pelo ar de secagem faz com que a energia ultrassônica fornecida seja insignificante e, por isso, os efeitos de ultrassons são mascarados. Portanto, a aplicação do ultrassom pode ser de grande potencial como meios de melhorar o processo de secagem de baixa temperatura.

3.3.4 Modelagem cinética de secagem

O modelo matemático permitiu a quantificação das influências da temperatura de secagem e da aplicação do ultrassom sobre a transferência de massa. Numa primeira abordagem, o modelo NER foi aplicado. Os valores de D_e identificado (Tabela 4) estavam na mesma faixa aos encontrados na literatura para os vegetais (ZOGZAS et al., 1996; GARCÍA-PEREZ et al., 2009; CARCEL et al., 2007).

A D_e foi significativamente maior ($p < 0,05$) quando a temperatura aumentou; o maior valor de D_e foi identificado na maior temperatura testada, 70°C (AIR) (Tabela 4) que foi 4,2 vezes maior do que a identificada a 40°C (AIR). Ao estudar secagem convectiva de bagaço de maracujá em leito fixo, Menezes et al. (2013) observaram que a D_e aumentou de $8,11 \times 10^{-10}$ para $2,11 \times 10^{-9}$, quando a temperatura subiu de 35°C a 65°C, o que significa um aumento de 160%.

Tabela 4. Difusividade efetiva (D_e) identificada com o modelo NRE para a secagem de casca de maracujá a 1 m/s em diferentes temperaturas, (AIR) e (AIR + US) (21,7 kHz, 75 W).

Aplicação de Ultrassom	Temperatura (°C)	D_e ($\times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$)	VAR (%)
Não	40	0.6 ± 0.5	97.4
Não	50	1.0 ± 0.3	95.9
Não	60	1.1 ± 0.3	93.6
Não	70	2.0 ± 0.2	92.3
Sim	40	1.2 ± 0.3	95.9
Sim	50	1.6 ± 0.1	91.6
Sim	60	1.9 ± 0.7	94.9
Sim	70	2.6 ± 0.5	93.0

Air = ar; US = ultrassom

A aplicação de ultrassom aumentou significativamente a D_e com ($p < 0,05$). Assim, o valor obtido para o experimento AIR+US a 40°C foi significativamente mais alto, não apenas para esse experimento, mas também para o de 60°C. Assim, pode ser observado dos resultados experimentais a redução do tempo de secagem, a magnitude da influência do uso do ultrassom dependente da temperatura. O mais alto aumento na D_e foi observado na temperatura de 40°C, onde seu valor foi 117,4% mais alto nos experimentos com AIR+US que os AIR apenas. Para os experimentos na temperatura de 70°C, a D_e foi apenas de 11,9% mais alta quando se aplicou o ultrassom. Em secagem de maçãs, resultados semelhantes foram relatados mostrando o efeito do ultrassom (31 kW/m³) sobre D_e com valores de 2,4; 2,2 e 1,4 vezes maior na temperatura de 30, 50 e 70°C respectivamente (RODRÍGUEZ et al., 2014).

García-Pérez et al., (2006) também observou que a D_e aumentou 1,6 vezes quando o ultrassom foi aplicado (31 kW/m³) em cubos de cenouras secas a 30°C. A aplicação de ultrassom melhorou o transporte interno de massa pela produção de sucessivas compressões e descompressões do material (“efeito esponja”) originando micro canais fazendo mais fácil a saída da água. Este efeito parece ter uma grande influência sobre o transporte de massa a baixas temperaturas.

O modelo difusional NER teve um percentual de variância explicada de 91,6 a 97,4% conforme (Tabela 4). Mas, como pode ser observado na (Figura 8), a tendência dos experimentos e os dados calculados foram levemente diferentes, o que indica que a transferência de massa não foi apenas controlada pela transporte interno, mas também existe uma influência na resistência externa a transferência de massa.

Para abordar esse tema, uma segunda modelagem foi realizada incluindo a resistência externa a transferência de massa (Modelo RE). Nesse caso, a D_e e o (k) foram simultaneamente identificados. Os valores de D_e obtidos do modelo NER foram usados como valor inicial para resolver a otimização do problema. Os resultados obtidos são mostrados na (Tabela 5). Para todas as condições testadas, o percentual de variância explicada foi acima de 99,3%, o que indicou um bom ajuste do modelo aos dados. Além disso, o conteúdo de umidade dos dados experimentais e o calculado seguiram uma tendência muito semelhante (Figura 8).

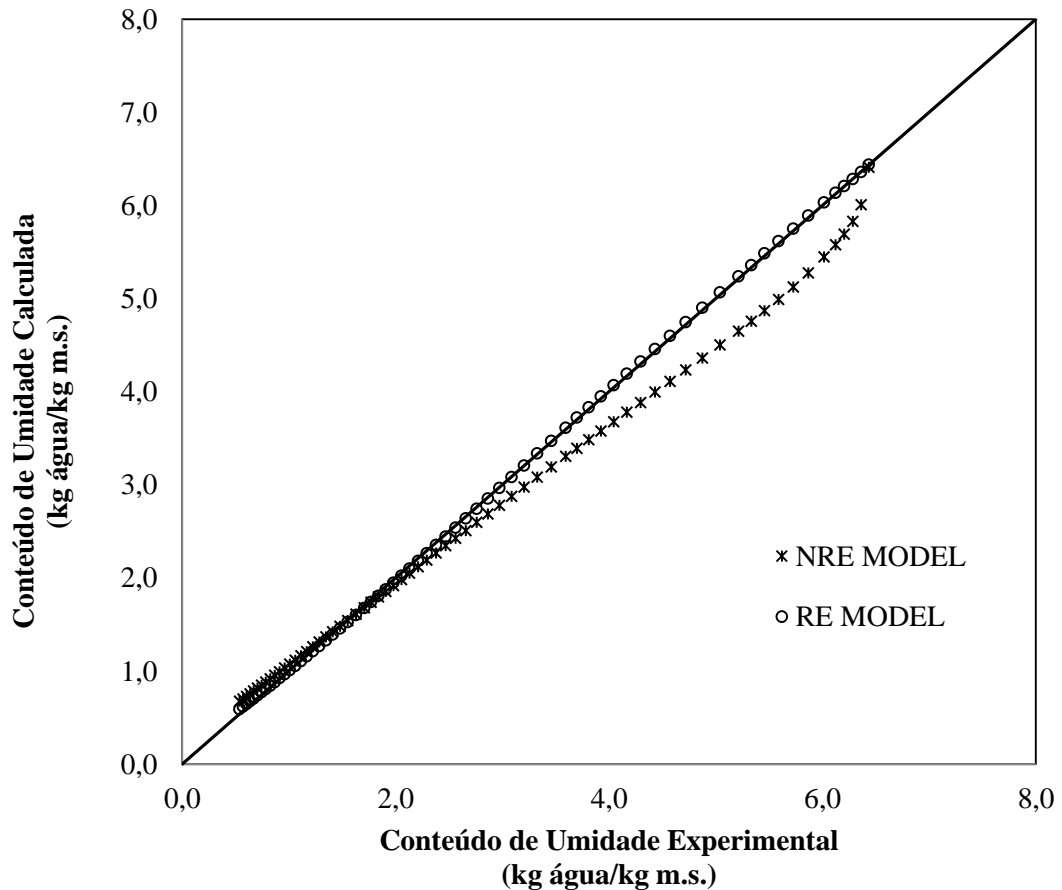


Figura 8 Modelos NRE e RE calculados versus umidade experimental de cascas de maracujá durante a secagem a 40°C e 1m/s.

Os valores da D_e identificada para o modelo RE foram maiores que os identificados para o modelo NRE (Tabela 6). Isso é devido ao fato que a D_e identificada do modelo RE incluiu todos os efeitos que influenciaram o transporte de umidade, tanto a resistência interna quanto também aos que afetaram a resistência externa. Em cada caso, a partir dos valores de D_e , tanto a temperatura quanto com a aplicação do ultrassom foi observada a influência sobre a resistência interna. A D_e dos experimentos 40°C (AIR) foi 4,9 vezes menor que o 70°C (AIR), mas em comparação com a D_e do experimento 40°C (AIR+US) foi levemente maior (2,1 vezes).

O coeficiente (k) identificada para 70°C(AIR) foi maior 1,6 vezes que 40°C (AIR), porém apenas 1,0 vezes maior que 40°C (AIR+US), revelando que a aplicação de ultrassom influencia bastante na resistência externa de transferência de massa. É bem nítido também a relação entre a temperatura e o coeficiente (k), semelhantemente como foi observado por (GARCÍA-PÉREZ et al., 2006).

Tabela 5. Difusividade efetiva (D_e) e Coeficiente de transferência de massa (k) identificados no Modelo (RE) para secagem de cascas de maracujá a 1m/s em diferentes temperaturas sem (AIR) e com (AIR+US) aplicação de ultrassom (21.7 kHz, 5 W).

Aplicação de ultrassom	Temperatura (°C)	D_e ($\times 10^{-10}$ m^2/s)	k ($\times 10^{-3}$ m^2/s)	VAR (%)
Não	40	7.3 ± 2.2	2.2 ± 0.1	99.9
Não	50	12.2 ± 2.4	2.3 ± 0.0	99.5
Não	60	14.5 ± 3.1	2.2 ± 0.0	99.6
Não	70	35.5 ± 1.7	3.5 ± 0.0	99.3
Sim	40	16.6 ± 4.7	3.4 ± 1.8	99.9
Sim	50	24.4 ± 5.3	2.6 ± 0.1	99.6
Sim	60	28.8 ± 9.1	3.6 ± 1.2	99.3
Sim	70	41.4 ± 13.9	4.3 ± 0.0	99.5

Air = ar; US = ultrassom

A influência do ultrassom sobre o coeficiente (k) foi significativo ($p < 0,05$), com valores de (k) identificados sendo 25 – 30% maiores em experimentos (AIR+US) que em (AIR) apenas.

A relação entre a D_e identificada e a temperatura de secagem foi avaliada através do ajuste da equação do tipo Arrhenius (Equação 8). Na Equação 9 a igualdade mostra uma relação que há entre $\ln D_e$ e o inverso da temperatura. Assim foi calculado a energia de ativação para ambos experimento. O ajuste obtido (Figura 9) tanto para experimentos (AIR) quanto para os de (AIR+US) foi considerado adequado, tendo em conta a grande variedade natural da matéria-prima. O valor da energia de ativação obtida para experimentos AIR (43,86 kJ/mol) foi da ordem dos relatado para outros produtos alimentares (GARCÍA-PÉREZ et al., 2006) e foi significativamente maior do que a observada para experimentos AIR +US (25,98 kJ/mol). Isto indica que a influência da temperatura sobre a secagem foi mais limitada quando o ultrassom foi aplicado. Além disso, o fator pré-exponencial obtido para os experimentos AIR +US foi mais elevado do que o obtido para os AIR apenas. Para os dois resultados pode ser afirmado que a aplicação de ultrassom forneceu energia adicional para facilitar a secagem.

3.3.5 Influência da secagem sobre a bioatividade da casca de maracujá.

Embora o ar quente ajude a estabilizar a atividade microbiana a casca de maracujá e fazendo também com que seu armazenamento seja mais fácil, as altas temperaturas e o longo tempo de secagem podem afetar os bioativos do produto. A fim de abordar esses efeitos, o AC e CFT foram quantificados na cascas de maracujá sob diferentes condições de secagem.

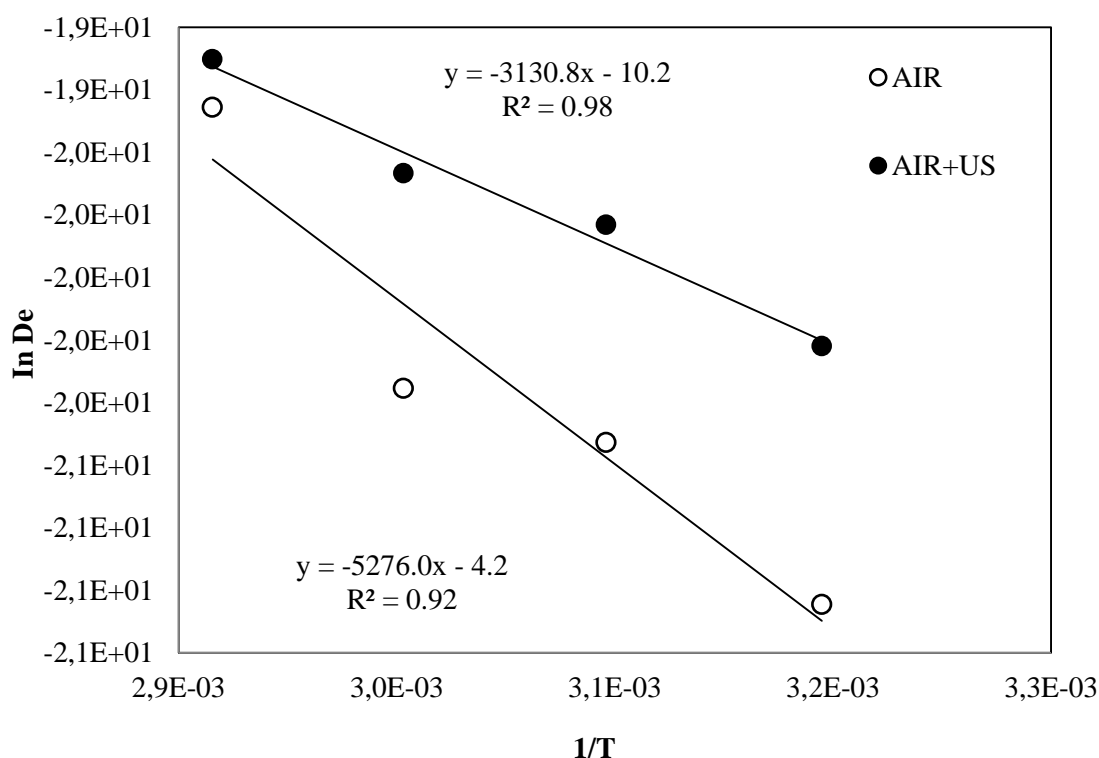


Figura 9 Relação entre a difusividade efetiva identificada do Modelo RE e a temperatura de secagem das cascas de maracujá sem (AIR e com AIR+US) aplicação de ultrassom (21.7 kHz, 75 W). (Air = ar; US = ultrassom)

3.3.5.1 Atividade antioxidante (AC)

A (AC) das cascas frescas foi da ordem de $15.2 \pm 2.3 \mu\text{mol Trolox/g m.s.}$, e para as amostras secas os níveis foram de $9.7- 17.5 \mu\text{mol Trolox/g m.s.}$ (Tabela 7). Martínez et al., (2012) relatou valor de $2.5 \mu\text{mol Trolox/g m.s.}$ em extratos de cascas de maracujá secas a 60°C com extração em etanol. López-Vargas et al., (2013) encontrou valor para AC de $1.0 \mu\text{mol Trolox/g m.s.}$ em cascas secas de maracujá e Contreas-Caderón et al., (2011) obteve 42.2 e $48.9 \mu\text{mol Trolox/g m.s.}$ em extratos de casca de maracujá usando metanol e acetona como solvente, respectivamente.

A temperatura de secagem afetou o AC das amostras secas (AIR). Assim, as secas nas mais baixas temperaturas testadas, 40 e 50°C exibiram AC significativamente ($p < 0,05$) mais baixos que as amostras frescas ou secas em temperaturas de 60 e 70°C (Figura 9A). Vega-Gálvez et al., (2009) ao trabalhar com pimentão vermelho seco em 5 temperaturas diferentes de 50 , 60 , 70 , 80 e 90°C , com nível de velocidade de ar de $2.0 \pm 0.1 \text{ m/s}$, também observou aumento de AC nas amostras de temperatura mais altas. Os autores atribuíram este comportamento devido ao longo tempo de secagem necessário nas secagens com baixas temperaturas, o que depleta os ACs. Já na secagem com mais altas temperaturas, se pode aumentar AC devido a geração e acumulação de compostos tais como melanoidinas produzidas pela reação de Maillard. Ahmad-Qasem et al., (2013b) mediu os CFT e AC dos extratos obtidos de folhas de oliveiras secas em condições diferentes: secagem com ar quente a 70 e 120°C e freeze-drying. Os autores reportaram que a secagem a altas temperaturas aumentou AC dos extratos e foi atribuído o fato que altas temperaturas aumentam os níveis de secagem, assim reduzindo o tempo. Além do mais, o uso de altas temperaturas pode inativar

as enzimas oxidativas, consequentemente prevenindo a ação delas durante o processo de extração dos antioxidantes.

A aplicação de ultrassom durante a secagem também afetou os AC e sua influência variou em diferentes temperaturas. Assim, nos experimentos (AIR+US), ao contrário dos experimentos de (AIR), o conteúdo de AC das amostras secas a 40 e 50 °C foi semelhante aos das amostras frescas (Tabela 7). Entretanto, o uso de altas temperaturas (60 e 70°C) (AIR+US) reduziu os níveis de AC em 40%. A baixas temperaturas, com a aplicação de ultrassom os experimentos tiveram as taxas de secagem aumentadas, pois o tempo processo foi diminuído, limitando a reação de oxidação, ajudando a manter a AC. Por outro lado, a aplicação de ultrassom combinado a alta temperatura afetou negativamente AC. Rodríguez et al., (2014) observou um decréscimo em AC estudando a secagem de maçãs em diferentes temperaturas (30,50 e 70°C) ao aplicar ultrassom na secagem nas temperaturas mais altas. Os autores atribuíram estes resultados ao rompimento celular causado pelo estresse mecânico produzido pelas ondas acústicas.

Portanto, no que respeita aos resultados obtidos por casca de maracujá, a aplicação dos ultrassom durante a secagem permitiu a utilização de condições de secagem brandas, preservando, assim, os ACs das amostras comparando-se a amostra fresca.

3.3.5.2 Compostos fenólicos totais (CFT)

O CFT de cascas frescas de maracujá foi de 381,3 mg EAG/100g m.s. Em geral, o processo de secagem produziu uma redução de TPC. Os valores das amostras secas foram na gama de 144,7e 239,5 mg EAG/100g m.s (Tabela 7).

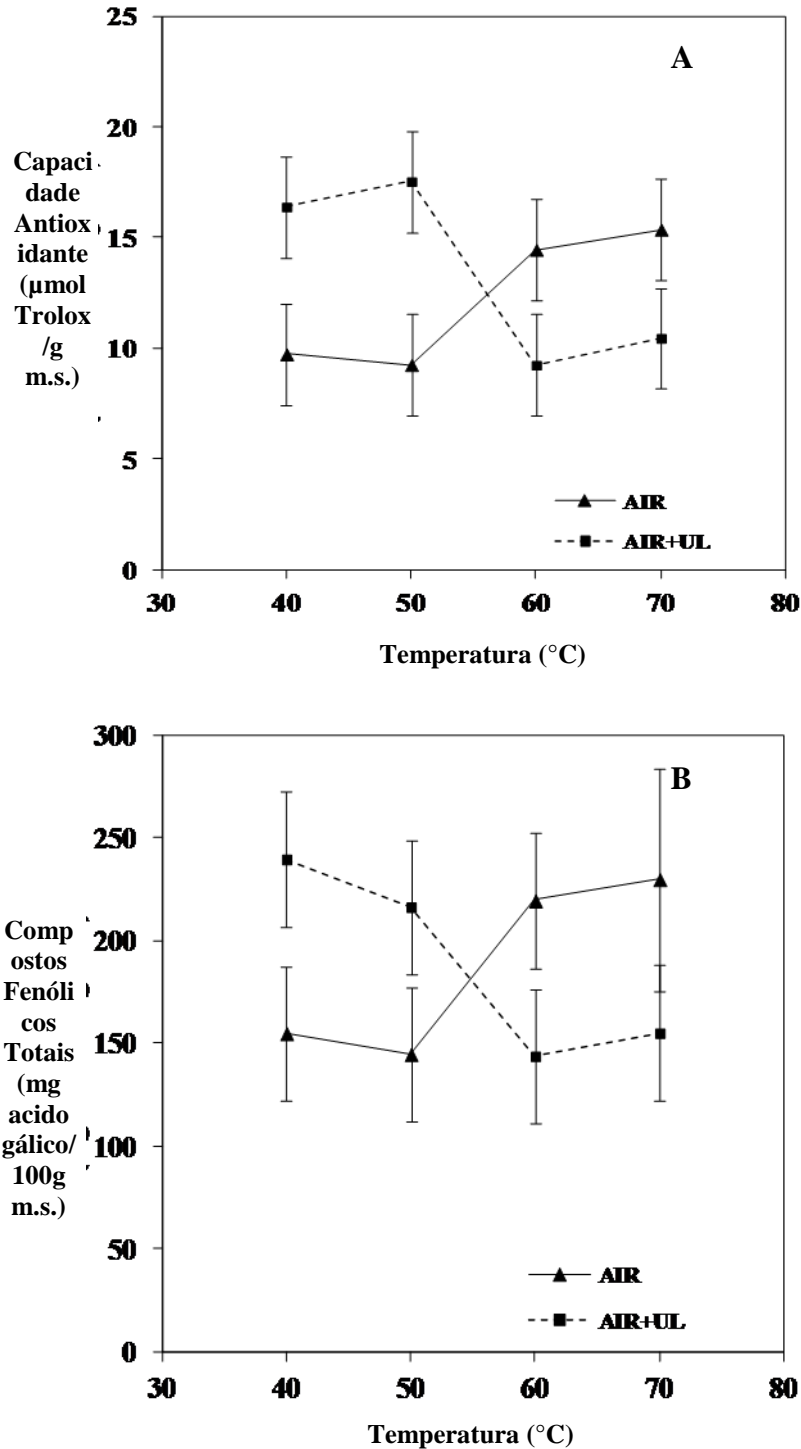


Figura 10 Capacidade antioxidante (A) e compostos fenólicos totais (B) das cascas de maracujá em diferentes temperaturas sem (AIR) e com (AIR+US) aplicação de ultrassom (21,7 kHz; 75W). Mínimo intervalo significativo a um nível de confiança de 95%. (Air = ar; US = ultrassom)

Tabela 6 Capacidade antioxidante (AC) e Compostos fenólicos totais (CFT) quantificados nos extratos frescos e secos de diferentes condições de operações (temperatura e aplicação de ultrassom) de cascas de maracujá.

Amostras	Aplicação de Ultrassom	Temperatura (°C)	AC (μmol Trolox /g d.m.)	TPC (mg GAE/100g)
Seca	Não	40	9.7 ± 1.0	154.9 ± 43.6
Seca	Não	50	9.3 ± 2.0	144.7 ± 39.7
Seca	Não	60	14.5 ± 4.7	219.4 ± 51.0
Seca	Não	70	15.4 ± 5.4	208.3 ± 94.8
Seca	Sim	40	16.4 ± 7.4	239.5 ± 96.9
Seca	Sim	50	17.5 ± 6.7	216.3 ± 59.5
Seca	Sim	60	9.3 ± 4.2	143.8 ± 62.9
Seca	Sim	70	10.5 ± 4.3	155.0 ± 69.7
Frescas	-	-	15.2 ± 2.3	381.3 ± 13.0

Poucos estudos têm quantificado a CFT da casca do maracujá fresco. Oliveira et al., (2009) encontraram uma CFT de 103mg EAG/100g em amostras secas a 60°C durante 48h. Quaresma et al., (2009) relataram 481,5 mg de EAG/100g em amostras secas a 60°C durante 24 h, enquanto Martínez et al., (2012) relatou 75 mg EAG/100g em amostras secas a 60°C durante 12 h. Infante et al., 2013 relataram um valor de 343 mg EAG/100g. A grande diferença entre estes resultados poderia ser atribuída não só à variabilidade natural do matéria-prima (maturidade, a variedade, práticas culturais, geográficas origem, fase de crescimento, as condições de colheita, entre outros), mas também para os diferentes solventes utilizados no processo de extração (acetona, metanol, etanol e outros).

O CFT das amostras secas foi dependente das condições de secagem aplicada. Neste sentido, as amostras secas a 60 e 70°C apresentaram significativamente ($p < 0,05$) mais elevada do que as que secaram em temperaturas de 40 e 50°C (Figura 9B). Apesar de alguns polifenóis serem termos sensível, o encurtamento do tempo de secagem produzido através da utilização de temperaturas mais altas, reduziu a extensão das reações de degradação. No caso de secagem de maçã, Rodríguez et al., (2014) descobriram uma redução no CFT de 38,7% em 30°C e 19,7% em 70°C em comparação com o produto fresco. Durante a secagem convectiva de casca de cenoura, Chantaro; Devahastin; Chiewchan, (2008) observou-se uma perda de 64% de CFT a 60°C e perda de 26% a 80°C. Esse ganho de CFT durante a secagem em altas temperaturas mostraram, segundo Anese et al., (1999) que as temperaturas elevadas facilitam a formação de novo compostos fenólicos com atividade antioxidante, que substituem parcialmente os polifenóis degradados pelo tratamento térmico.

A interação dos dois fatores, temperatura e aplicação de ultrassom influenciou a CFT de forma significativa ($p < 0,05$). Os resultados mostraram dois cenários para a aplicação de ultrassom: baixo e altas temperaturas (Fig. 9B). Assim, as amostras de (AIR+US) a mais baixas temperaturas testadas, 40 e 50°C, apresentou uma mais suave degradação de polifenóis (37 e 43%, respectivamente) em comparação com as amostras secas a temperaturas mais elevadas testadas, 60 e 70°C (60 e 62% de degradação, respectivamente). Resultados semelhantes foram encontrados por Rodríguez et al., (2014) para a secagem de maçã com ultrassom. Observou-se que nas amostras secas com ultrassom em maiores temperaturas, os CFTs foram mais preservados que em baixas. Porém, com a aplicação de ultrassom as menores perdas de CFT aconteceram nas menores temperaturas. Isso revelou nesse trabalho

que a aplicação do ultrassom em baixas temperaturas reduz a magnitude da degradação dos polifenóis. Mas, a combinação da tensão mecânica, produzida pelo ultrassom somado a alta temperatura de secagem, pode induzir a maior dano celular, afetando o teor dos CFTs.

Por conseguinte, no presente trabalho, a aplicação de ultrassom na menor temperatura de secagem testada, 40°C, aumentou a taxa de secagem que permite a utilização de condições de secagem suaves. Isso pode estar relacionado com a redução da necessidade de energia do processo. Além disso, estas condições de secagem ajudam a preservar melhor o CFT e o AC de casca de maracujá fornecendo um produto de melhor qualidade.

3.3.6 Microestrutura

A fim de analisar o impacto do tratamento de secagem sobre a estrutura interna das amostras, uma análise micro estrutural foi realizada pela obtenção de micrografias dos diferentes tipos de secagens. A estrutura da casca de maracujá fresca é constituída por três tecidos principais. A parte mais externa, chamada epicarpo (Fig. 11 A e B), é uma capa que protege o fruto contra predadores e desidratação. Devido às propriedades de impermeabilidade do epicarpo, durante a desidratação a água só se move, basicamente, na direção oposta. Algumas áreas do epicarpo também podem conter espinhos (Fig. 11 B e C). A segunda parte é o flavedo (Fig. 11 D), composto por uma estrutura compacta com células tubulares e com quase nenhum espaços intercelulares. Finalmente, a terceira parte é o albedo, a parte branca esponjosa caracterizada por células redondas e grandes espaços intercelulares dando uma estrutura de poros abertos, semelhante à de limão ou laranja (OZUNA et al., 2014).

Durante a desidratação o produto encolhe ou enruga, e essa é uma das principais mudanças físicas que ocorrem. A água que sai do produto o leva a um processo de enrugamento que induz a deformação. Dependendo do tipo de energia utilizada, pode haver uma total mudança da estrutura do produto. Em tratamentos de secagem convectiva (AIR), a desorganização celular total da estrutura da casca do maracujá pôde ser observada em todas as temperaturas testadas (Figura 12 A e B). Por outro lado, os tratamentos com aplicação de ultrassom (AIR+US) parece melhor preservar as estruturas originais (Fig. 12 C e F). Através das micrografias, pode-se notar o encolhimento das células e a formação de micro-canais na mesma direção nas amostras tratadas com a aplicação de ultrassom.

Puig et al., (2012) estudaram as mudanças estruturais induzidas durante a secagem convencional e por ultrassom em berinjela e concluiu que a microestrutura do endocarpo da berinjela foi a mais afetada durante a secagem convencional, provavelmente devido à exposição prolongada a 40°C nos experimentos AIR. Quando se utilizou ultrassom na secagem (18,5 kW/m³), as amostras ainda mantiveram sua individualidade e as paredes celulares foram ainda encontradas intactas. Ortuño et al., (2010) observou que, embora a aplicação de ultrassom tenha levado a um efeito mais intenso sobre a estrutura da amostra, foram encontrados grandes espaços de ar intercelulares mais comprimidos mostrando um material altamente poroso que fez a mobilidade da água mais fácil.

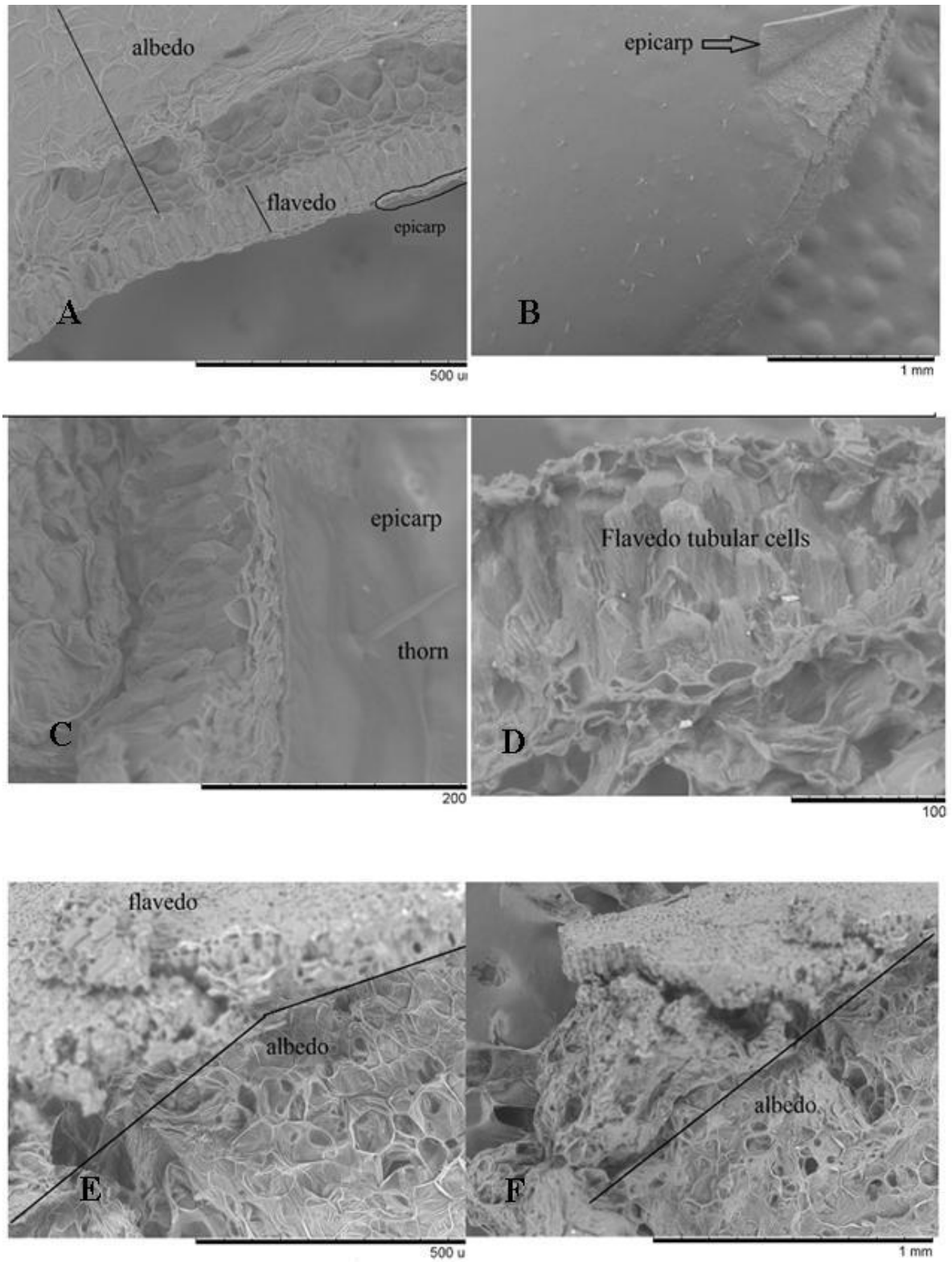


Figura 11 Estruturas micrográficas da casca de maracujá.

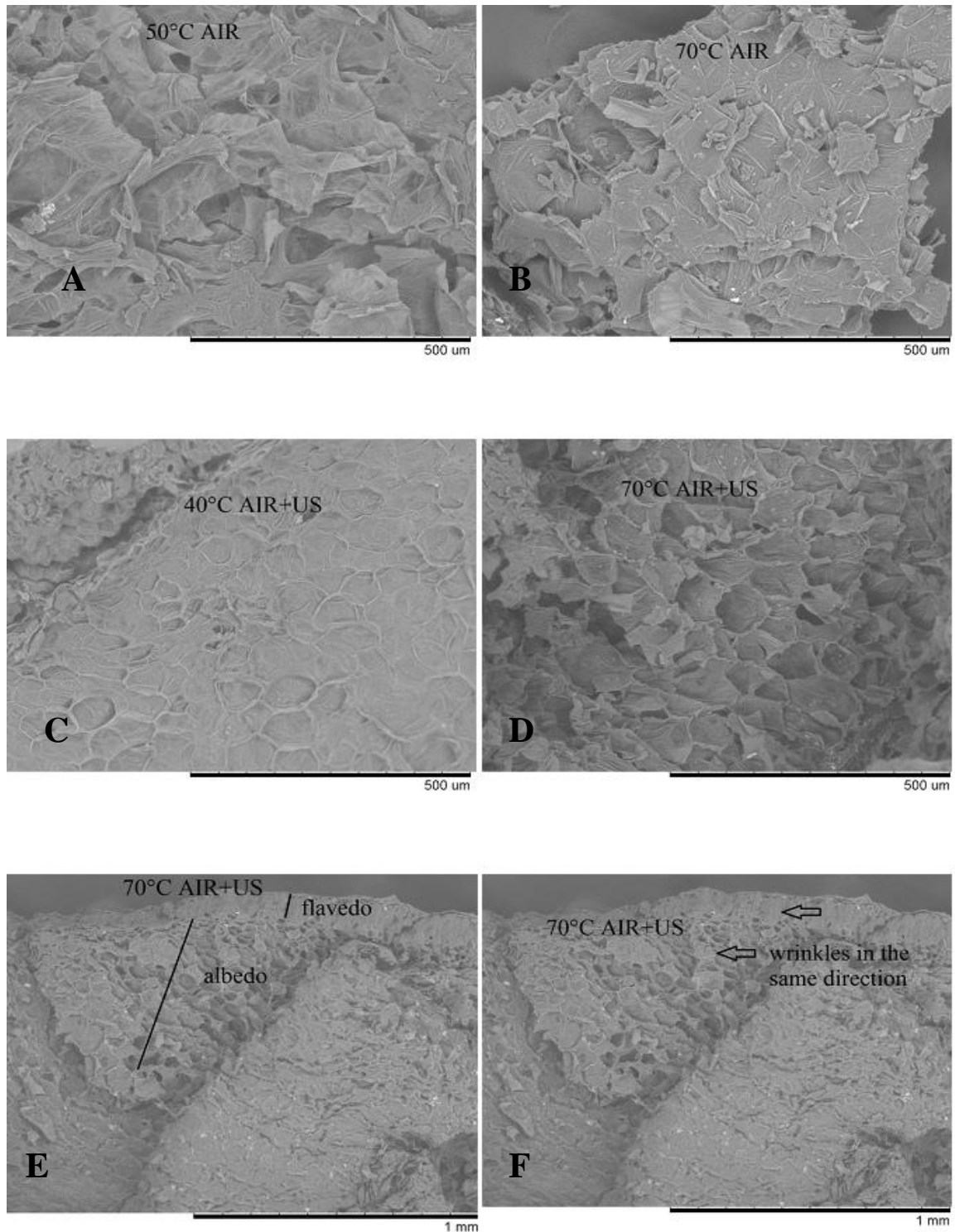


Figura 12 Efeito da aplicação de ultrassom sobre as estruturas de cascas de maracujá

3.4 Conclusão

A viabilidade da aplicação de ultrassom como um meio de aumentar a taxa de secagem da casca do maracujá foi demonstrada. Assim, a secagem com ultrassom acoplado melhorou o coeficiente de transferência de massa e a difusividade efetiva da umidade, o que permitiu a utilização de condições mais suaves de secagem. Além disso, sob estas condições uma menor redução no teor de antioxidante e compostos fenólicos totais foi obtido. Os

valores para os bioativos, nessas condições, foram mantidos próximos aos das cascas do maracujá fresco. Por conseguinte, a aplicação de ultrassom pode ser usado para secagem de cascas de maracujá a baixas temperaturas a fim de acelerar o tempo de secagem, preservando o potencial antioxidante e a estrutura original.

3.5 REFERÊNCIAS

- AGUILERA, J. .; CUADROS, T. .; DEL VALLE, J. . Differential scanning calorimetry of low-moisture apple products. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, n. 1, p. 79–86, 1998.
- ANDO, N.; CRISTIANE, P.; FRANCY, Z.; MAURÍCIO, R.; WAGNER, A. S. C.; MÔNICA, R. C. **ELABORAÇÃO DE COOKIE DIET COM FARINHA DE CASCA DE MARACUJÁ-AMARELO** Anais do XVI EAIC - Encontro Anual de Iniciação Científica - PIBIC/CNPq. **Anais...**Guarapuava - PR: 2007
- ANESE, MONICA, M CRISTINA NICOLI, ROBERTO MASSINI, AND CARLO R LERICI. 1999. “Effects of Drying Processing on the Maillard Reaction in Pasta” 32: 193–99.
- AOAC. Copyright 1998 AOAC INTERNATIONAL. **Official Method 915.03 Hydrocyanic Acid in Beans Titrimetric**, v. 601, n. 1915, p. 1998, 1998.
- ASSOCIATION, A. D. Position of the American Dietetic Association: Health Implications of Dietary Fiber. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 108, n. 10, p. 1716–1731, 2008.
- 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, n. 1, p. 70–6, 15 jul. 1996.
- BOLARINWA, I. F.; ORFILA, C.; MORGAN, M. R. A. Amygdalin content of seeds, kernels and food products commercially- available in the UK. **Food Chemistry**, v. 152, p. 133–139, 2014.
- BOLARINWA, I. F.; ORFILA, C.; MORGAN, M. R. A. Determination of amygdalin in apple seeds, fresh apples and processed apple juices. **Food Chemistry**, v. 170, p. 437–442, 2015.
- BORGES, LÍVIA COSTA; FERREIRA, D. F. **PODER E TAXAS DE ERRO TIPO I DOS TESTES SCOTT-KNOTT , TUKEY E STUDENT-NEWMAN- KEULS SOB DISTRIBUIÇÕES NORMAL E NÃO NORMAIS DOS RESÍDUOS**. [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 2003.
- BRADBURY, M. G.; EGAN, S.V.; BRADBURY, J. H. Picrate paper kits for determination of total cyanogens in cassava roots and all forms of cyanogens in cassava products. **J. Sci Food Agric**, v. 79, p. 593–601, 1999.
- BURNS, ANNA E, J HOWARD BRADBURY, TIMOTHY R CAVAGNARO, AND ROSLYN M GLEADOW. 2012. “Journal of Food Composition and Analysis Total Cyanide Content of Cassava Food Products in Australia.” **Journal of Food Composition and Analysis** 25 (1).
- CÁRCEL, J.A., J.V. GARCÍA-PÉREZ, J. BENEDITO, A. MULET. 2012. “Food Process Innovation through New Technologies: Use of Ultrasound.” **Journal of Food Engineering** 110 (2): 200–207.
- CARVALHO, G. Q.; FEDERAL, U.; ROLFS, P. H. Índice glicêmico : uma abordagem crítica

acerca de sua utilização na prevenção e no tratamento de fatores de risco cardiovasculares Glycemic index : a critical analysis of its use as a tool. v. 21, n. 5, p. 577–587, 2008.

CHANTARO, P.; DEVAHASTIN, S.; CHIEWCHAN, N., 2008. Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 10, p. 1987–1994.

CHASSAGNE, DAVID, JEAN C CROUZET, CLAUDE L BAYONOVE, RAYMOND L BAUMES. 1996. Identification and Quantification of Passion Fruit Cyanogenic Glycosides. **Agriculture Food Chemistry**, p. 3817–3820.

CHEN, JIANBO, XITAO YAN, TAE JIN KIM, SANG HYUCK KIM, KYUNG TAE KIM, YOUNG KEUN LEE, CHEONG WEON CHO. 2012. Metabolic pharmacokinetics in rats: Differences between pure Amygdalin and Amygdalin in a decoction of peach seeds. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 33, n. 5, p. 1470–1474.

CHEN, M. L.; YANG, D. J.; LIU, S. C. Effects of drying temperature on the flavonoid, phenolic acid and antioxidative capacities of the methanol extract of citrus fruit (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) peels. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 6, p. 1179–1185, 2011.

CLERICI, M.T.P.S.; AHMED, A. E. CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE FARINHAS DE ARROZ PRÉ- GELATINIZADAS OBTIDAS POR EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA. **Ciênc. agrotec., Lavras**, v. 32, n. n5, p. 1543–1550, 2008.

CONTRERAS-CALDERÓN, JOSÉ, LILIA CALDERÓN-JAIMES, EDUARDO GUERRA-HERNÁNDEZ, AND BELÉN GARCÍA-VILLANOVA. 2011. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2047–2053.

CRANK, J. **The mathematics of diffusion** Annals of Nuclear Energy. **Anais...**1977

DE OLIVEIRA, ALANE CABRAL, IARA BARROS VALENTIM, CÍCERO ALEXANDRE SILVA, ETELVINO JOSÉ HENRIQUES BECHARA, MARCELO PAES DE BARROS, CAMILA MARINHO MANO, AND MARÍLIA OLIVEIRA FONSECA GOULART. 2009. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 469–475.

ESSERS, A. J. A.; JURGENS, C. M. G. A.; NOUT, M. J. R. Contribution of selected fungi to the reduction of cyanogen levels during solid substrate fermentation of cassava. **International Journal of Food Microbiology**, v. 26, p. 251–257.

FARID, REZA, ZAHRA REZAIEYAZDI, ZAHRA MIRFEIZI, MOHAMAD REZA HATEF, MAHYAR MIRHEIDARI, HASSAN MANSOURI, HABIB ESMAELLI. 2010. Oral intake of purple passion fruit peel extract reduces pain and stiffness and improves physical function in adult patients with knee osteoarthritis. **Nutrition research (New York, N.Y.)**, v. 30, n. 9, p. 601–6.

MATSUURA, FCAU. 2005. “ESTUDO DO ALBEDO DE MARACUJÁ E DE SEU APROVEITAMENTO EM BARRA DE CEREAIS.” Universidade Estadual de Campinas.

GAMBOA-SANTOS, JULIANA, ANA CRISTINA SORIA, MAR VILLAMIEL, ANTONIA MONTILLA. 2013. Quality parameters in convective dehydrated carrots blanched by ultrasound and conventional treatment. **Food chemistry**, v. 141, n. 1, p. 616–24, 1 nov. 2013.

GAO, X.; BJÖRK, L. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. ... **of the Science of Food and ...**, v. 2027, n. July, p. 2021–2027.

GARCIA-PEREZ, J. V., J. A. CARCEL, E. RIERA, AND A. MULET. 2009. Influence of the Applied Acoustic Energy on the Drying of Carrots and Lemon Peel. **Drying Technology**, v. 27, n. 2, p. 281–287.

GARCIA-PEREZ, JOSE VICENTE, CARMEN ORTUÑO, ANA PUIG, JUAN A. CARCEL, ISABEL PEREZ-MUNUERA. 2012. “Enhancement of Water Transport and Microstructural Changes Induced by High-Intensity Ultrasound Application on Orange Peel Drying. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2256–2265.

GARCÍA-PÉREZ, J.V., CARMEN ROSSELLÓ, J.A. CÁRCEL, SUSANA DE LA FUENTE, A. MULET. 2006. Effect of Air Temperature on Convective Drying Assisted by High Power Ultrasound. **Defect and Diffusion Forum**, v. 258-260, n. OCTOBER, p. 563–574.

HERAS-RAMÍREZ, MARÍA ELENA, ARMANDO QUINTERO-RAMOS, ALEJANDRO ALBERTO CAMACHO-DÁVILA, JOHN BARNARD, RICARDO TALAMÁS-ABBUD, JOSÉ VINICIO TORRES-MUÑOZ, AND ERICA SALAS-MUÑOZ. 2012. Effect of Blanching and Drying Temperature on Polyphenolic Compound Stability and Antioxidant Capacity of Apple Pomace. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2201–2210.

HIPÓLITO, NZWALO; CLIFF, J. Konzo : From Poverty , Cassava , and Cyanogen Intake to Toxic-Nutritional Neurological Disease. **Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 6, p. 1–8, 2011.

INFANTE, J. et al. AGROINDUSTRIAS DE FRUTAS TROPICAIS. **Braz. J. Food Nutr., Araraquara**, v. 24, n. 1, p. 87–91, 2013.

J. A. GALLEGO-JUÁREZ, G. RODRIGUEZ-CORRAL J.C. GÁLVEZ MORALEDA, T. . Y. A NEW HIGH-INTENSITY ULTRASONIC TECHNOLOGY FOR FOOD DEHYDRATION *. **Dry. Technol.**, n. 1, 1999.

KELKAR, S, M SIDDIQ, J B HARTE, K D DOLAN, G NYOMBAIRE, H SUNIAGA. 2012. “Use of Low-Temperature Extrusion for Reducing Phytohemagglutinin Activity (PHA) and Oligosaccharides in Beans (Phaseolus Vulgaris L .) Cv . Navy and Pinto.” **Food Chemistry** 133 (4). Elsevier Ltd: 1636–39.

LEORO. **DESENVOLVIMENTO DE CEREAL MATINAL EXTRUSADO ORGÂNICO À BASE DE FARINHA DE MILHO E FARELO DE MARACUJÁ**. [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, 2007.

LÓPEZ-VARGAS, JAIRO H., JUANA FERNÁNDEZ-LÓPEZ, JOSÉ A. PÉREZ-ÁLVAREZ, MANUEL VIUDA-MARTOS. 2013. Chemical, physico-chemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of dietary fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) co-products. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 756–763.

MARTÍNEZ, RUTH, PAULINA TORRES, MIGUEL A MENESES, JORGE G FIGUEROA, JOSÉ A PÉREZ-ÁLVAREZ, MANUEL VIUDA-MARTOS. 2012. Chemical , technological and in vitro antioxidant properties of mango , guava , pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food chemistry**, v. 135, p. 1520–1526.

MEDEIROS, MARINÉVEA, DE OLIVEIRA ANA, REGINA NASCIMENTO, CAMPOS JOSÉ, PIRES DANTAS, JOSIVANDA PALMEIRA, GOMES FLÁVIO, LUIZ HONORATO. 2006. “Isotermas de Dessorção Da Casca Do Maracujá (*Passiflora Edulis* Sims): Determinação Experimental E Avaliação de Modelos Matemáticos Mathematical Model Evaluation,” 1624–29.

MINISTRY OF HEALTH, M. Mantakassa : an epidemic of spastic paraparesis associated

with chronic cyanide intoxication in a cassava staple area of Mozambique . 2 . Nutritional factors and hydrocyanic acid content of cassava products *. **World Health Organization**, v. 62, n. 3, p. 485–492, 1984.

ORTUÑO, CARMEN, ISABEL PÉREZ-MUNUERA, ANA PUIG, ENRIQUE RIERA, J.V. GARCIA-PEREZ. 2010. “Influence of Power Ultrasound Application on Mass Transport and Microstructure of Orange Peel during Hot Air Drying.” **Physics Procedia** 3 (1). Elsevier: 153–59.

OZUNA, CÉSAR, TOMÁS GÓMEZ ÁLVAREZ-ARENAS, ENRIQUE RIERA, JUAN A CÁRCEL, JOSE V GARCIA-PEREZ. 2014. “Influence of Material Structure on Air-Borne Ultrasonic Application in Drying.” **Ultrasonics Sonochemistry**21 (3). Elsevier B.V.: 1235–43.

PUIG, A, I PEREZ-MUNUERA, J A CARCEL, I HERNANDO, J V GARCIA-PEREZ. 2012. “Moisture Loss Kinetics and Microstructural Changes in Eggplant (*Solanum Melongena* L.) during Conventional and Ultrasonically Assisted Convective Drying.” **Food and Bioproducts Processing** 90: 624–32.

QUARESMA, IVONETE, BRENDA CRISTINA, FREITAS DE OLIVEIRA, ALESSANDRA SANTOS LOPES, SILVA PENA. 2009. “OBTENÇÃO DE BARRA DE CEREAIS ADICIONADA DO RESÍDUO INDUSTRIAL DE MARACUJÁ *.” **Revista Alimentação E Nutrição de Araraquara**.

RODRÍGUEZ, ÓSCAR, JUAN V. SANTACATALINA, SUSANA SIMAL, JOSE V. GARCIA-PEREZ, ANTONI FEMENIA, CARMEN ROSSELLÓ. 2014. “Influence of Power Ultrasound Application on Drying Kinetics of Apple and Its Antioxidant and Microstructural Properties.” **Journal of Food Engineering** 129 (May): 21–29.

SCOTT, A. A. J.; KNOTT, M. A Cluster Analysis Method for Grouping Means in the Analysis of Variance. **International Biometrics Society**, v. 30, n. 3, p. 507–512, 1974.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S. Cyanogenesis of *Passiflora edulis*. **J. Agric. Food Chem.**, v. 2, p. 794–796, 1983.

VEGA-GÁLVEZ, ANTONIO, KARINA DI SCALA, KATIA RODRÍGUEZ, ROBERTO LEMUS-MONDACA, MARGARITA MIRANDA, JESSICA LÓPEZ, MARIO PEREZ-WON. 2009. “Effect of Air-Drying Temperature on Physico-Chemical Properties, Antioxidant Capacity, Colour and Total Phenolic Content of Red Pepper (*Capsicum Annum*, L. Var. Hungarian).” **Food Chemistry**117 (4). Elsevier Ltd: 647–53.

VETTER, J. **Plant cyanogenic glycosides**. [s.l: s.n.]. v. 38

YAPO, B. . M.; KOFFI, K. O. L. K. Dietary Fiber Components in Yellow Passion Fruit RindsA Potential Fiber Source. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 3, p. 5880–5883, 2008.

CAPÍTULO IV

4 BIOENSAIO PELO TESTE DA ARTEMIA SALINA (T.A.S.) PARA DETERMINAÇÃO DA TOXIDADE DE CASCAS DE MARACUJÁ

Resumo:

O aproveitamento de coprodutos agrícolas tem gerado inúmeros produtos para o consumo humano e, embora produtos vegetais sejam considerados seguros e saudáveis, não se pode descartar a possibilidade de apresentarem substâncias tóxicas, como é o caso da casca de maracujá, por conter alto teor de compostos cianogênicos. A literatura está repleta de relatos mostrando os problemas relacionados ao consumo de alimentos contendo esses compostos. Os cianogênicos, através de reações enzimáticas no aparelho digestivo, se desdobram a ácido cianídrico, composto extremamente tóxico ao ser vivo. O teste com *Artemia salina* tem sido utilizado para determinação de dose tóxica em humanos para determinadas substâncias perigosas. O objetivo do presente trabalho foi determinar e avaliar a DL_{50} de cascas de maracujá *in naturae* do cianeto de potássio frente a esse microcrustáceo. Os resultados obtidos mostraram que a DL_{50} para cianeto de potássio foi de 2,83ppm e 397,30 ppm para a casca de maracujá, mostrando risco para o consumo humano.

Palavras chave: *Passiflora edulis*, cianeto de potássio, toxicidade.

Abstract:

The use of agricultural by-products has created numerous products for human consumption and although plant products are considered safe and healthy, it cannot be denied that those products may still contain toxic substances, which would be the case of passion fruit peel that contain high levels of cyanogenic compounds. The literature is replete with reports showing problems related to consumption food containing these compounds. Cyanogenics, through enzymatic reactions in the digestive tract, unfold to hydrocyanic acid, an extremely toxic compound to the living beings. The *Artemiasalina* test has been used for the determination of toxic dose in humans for certain hazardous substances. The objective of this study was to determine and evaluate the DL_{50} in fresh passion fruit peel and the potassium cyanide using this micro crustacean. The results showed that the DL_{50} potassium cyanide was 2.83 ppm and 397.30 ppm for passion fruit peel, showing risk for human consumption.

Key-words: *Passiflora edulis*, potassium cyanide, toxicity.

4.1 INTRODUÇÃO

O aproveitamento de coprodutos agrícolas com alto teor de fibras, como cascas de frutos vem sendo extensivamente estudado. Neste contexto, a casca do maracujá *Passiflora edulis* tem gerado numerosos estudos com o fim de desenvolver novos produtos alimentícios (LEORO, 2007; ANDO et al., 2007; SILVA et al., 2009). Além de produtos como cereais matinais, biscoitos, barras de cereais, doces em calda, e outros, a própria casca de maracujá tem sido comercializada na forma de farinha seca e moída.

Embora produtos vegetais sejam considerados seguros, não se pode descartar a possibilidade de apresentarem cianogênicos que é encontrado em muitas espécies incluindo as espécies passiflora (SPENCER E SEIGLER, 1983; CHASSAGNE et al., 1996; MATSUURA, 2005). Os glicosídeos cianogênicos se desdobram a ácido cianídrico nas reações enzimáticas no trato digestivo liberando o íon cianeto, o qual se liga fortemente ao citocromo paralisando a respiração celular. É conhecido que a exposição a alimentos que contenham alto teor de cianogênicos pode causar náuseas, vômitos, vertigem e pode levar inclusive à morte por sufocamento (BURNS et al., 2012). A ingestão em humanos de cerca de 200-300 ppm de cianeto de potássio pode provocar perda imediata dos sentidos e a morte (RESIMAPI, 2011). A DL₅₀ de amigdalina em ratos Wistar Segundo Adewusi e Oke, (1985) foi relatada sendo 880 mg/kg de peso. Entretanto, quando a amigdalina foi administrada oralmente com 10 unidades de beta-glicosidase, todos os ratos morreram.

Uma metodologia oficial tem sido utilizada na avaliação *in vivo* da toxicidade de vegetais pelo uso do microcrustáceo (*Artemia salina*) que vive em águas salinas (MEYER et al., 1982). Essa espécie possui quatro estágios de desenvolvimento (ovo, náuplios, metanáuplios e adulto). Segundo Meyer et al. (1982) o teste para determinar a DL₅₀ (dose letal para 50% da população) em *Artemia salina* é um bioensaio considerado rápido, de baixíssimo custo, simples, sensível e preciso. Segundo Klassen et al. (2001) com base na dose por unidade de superfície corporal, os efeitos tóxicos no homem estão consideravelmente nos mesmos limites que os observados nos animais de laboratório, sendo possível descobrir possíveis riscos aos humanos.

O objetivo do presente trabalho foi determinar a DL₅₀ em *Artemia salina* para casca de maracujá *in natura* avaliando a toxicidade por cianeto.

4.2 MATERIAL E MÉTODO

A metodologia utilizada para o teste da *Artemia salina* foi a de (MEYER et al., 1982), com algumas modificações. Foi utilizada solução salina a 3,5% para eclodir ovos de *Artemia salina* em condições de aeração constante e iluminação artificial durante 48h. Foram feitas duas curvas de sobreviventes de cinco pontos contendo dez náuplios eclodidos em cada tubo de ensaio. Uma curva foi elaborada com solução de cianeto e a outra com extrato da casca de maracujá *in natura*. Os dados foram calculados conforme a fórmula (Equação 1).

$$\% \text{ Mortalidade} = \frac{(n^{\circ} \text{ de organismos vivos} \times 100)}{(n^{\circ} \text{ de organismos vivos do controle})} \quad \text{Equação 1}$$

As concentrações das curva foram: 0,1, 0,5, 1,0, 5,0 e 10,0 ppm(Figura 13)para cianeto de potássio e 50, 100, 300, 600 e 1000 ppm (Figura 14) para oextrato de casca de maracujá *in natura*.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ensaio biológico com *Artemia salina* é amplamente utilizado e confiável por demonstrar boa correlação com várias atividades biológicas (MEYER et al., 1982). As porcentagens de mortalidade, e consequentemente, as toxicidades do cianeto e do extrato de casca de maracujá sobre as Artemiasestão dispostas nas Figuras 1 e 2, respectivamente. Os valores de DL₅₀(dose letal mediana) para cianeto de potássio foi de 2,83 ppm e para a casca de maracujá foi de 397,30 ppm. A DL₅₀ expressa o valor da concentração do extrato capaz de matar 50% dos náuplios de *Artemia salina* e quanto menor a concentração mais tóxica é a substância (GARCIA-RODRIGUEZ et al., 2009).

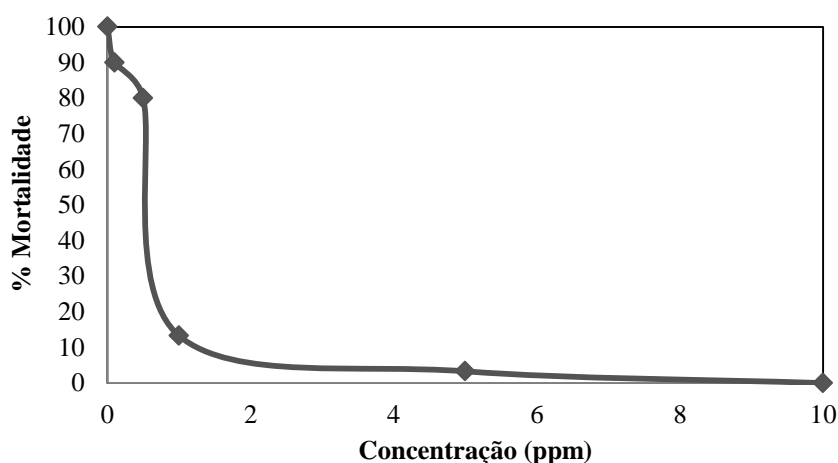


Figura 13 Curva de sobrevivência de *Artemia salina* em solução de cianeto de potássio.

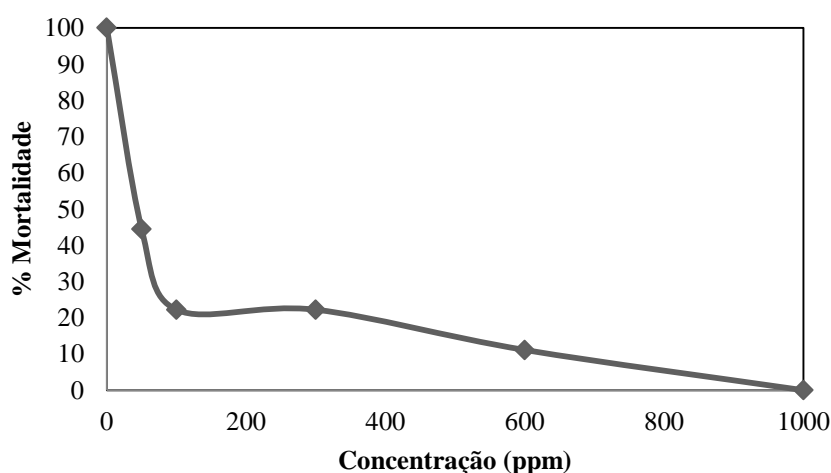


Figura 14 Curva de sobrevivência de *Artemia salina* em solução de casca de maracujá *in natura*.

Muitos estudos toxicológicos têm sido realizados com essa espécie de crustáceo e mostrado bom êxito. Parra et al. (2001) estudaram a eficácia do bioensaio com *A. salina*, para

prever a toxicidade de extratos de diversas plantas, comparando com testes da toxicidade aguda em ratos. Segundo os autores, houve boa correlação entre os resultados.

Amarante et al. (2011) também realizaram testes com *A. salina* para avaliar a toxicidade de plantas medicinais da Amazônia. A toxicidade dos extratos das folhas da árvore maçã-de-elefante (*Dillenia indica* Linn) foi investigada através de teste em *A. salina* e uma ação citotóxica significativa tendo CL_{50} de 1,94 ppm e 2,13 ppm foi encontrada em dois tipos de extração diferentes (APU et al., 2010). Todos esses trabalhos e muitos outros com *Artemia salina* têm revelado a efetividade de testes com essa espécie em determinar a DL_{50} para compostos tóxicos.

As informações toxicológicas presentes na FISPQ (ficha de informações de segurança de produtos químicos) do cianeto de potássio (LABMASTER, 2011), mostradas na (Tabela 8), reforça a boa correlação entre os resultados de DL_{50} obtido para as *Artemias* no presente trabalho (2,83 ppm) com os resultados de LDLo (do inglês lethal dose low), que é menor dose letal publicada para seres humanos (2,86 ppm).

Em relação ao extrato de casca de maracujá, a literatura relatou (PRICE et al., 1974) que doses abaixo de 1000 ppm já são consideradas tóxicas, revelando o risco do consumo do material do presente estudo por humanos.

Tabela 7. Informações toxicológicas da ficha de informações de segurança de produtos químicos*.

Toxicidade aguda	Cianeto de potássio (ppm)
DL_{50} cutânea – coelho	14,30 – 33,30
DL_{50} oral – rato	5,00
LDLo oral humano	2,86

*laboratório LabMaster.

4.4 CONCLUSÃO

Foi possível determinar por meio de ensaio com *Artemia salina* a DL_{50} para cianeto de potássio e para o extrato de casca de maracujá in natura revelando o risco do consumo para humanos.

4.5 REFERÊNCIAS

ADEWUSI SRA, OKE OL, 1985. On the metabolism of amygdalin. 1. The LD_{50} and biochemical changes in rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 63:1080–1083.

ANDO, N.; CRISTIANE, P.; FRANCY, Z.; MAURÍCIO, R.; WAGNER, A. S. C.; MÔNICA, R. C. **ELABORAÇÃO DE COOKIE DIET COM FARINHA DE CASCA DE**

MARACUJÁ-AMARELO Anais do XVI EAIC - Encontro Anual de Iniciação Científica - PIBIC/CNPq. **Anais...**Guarapuava - PR: 2007

APU, A., MUHIT, M., TAREQ, S., PATHAN, A., JAMALUDDIN, A., AHMED, M. (2010). Antimicrobial Activity and Brine Shrimp Lethality Bioassay of the Leaves Extract of *Dillenia indica* Linn. **Journal of Young Pharmacists : JYP**,2(1), 50–53.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução, RDC n.53, 15 de junho de 2000. Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à Base de Farelo de Cereais. Brasília, 2000. 12p.

BURNS, A. E. J. HOWARD BRADBURY, TIMOTHY R. CAVAGNARO, ROSLYN M. GLEADOW. Total cyanide content of cassava food products in Australia. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 25, n. 1, p. 79–82, 2012.

ARMANDO GARCIA RODRIGUEZ, OLÍVIA MENDES TEIXEIRA, FERNANDA GOMES SALLES, JAQUELINNE PIRES VITAL, DENISE SILVA PEIXOTO, and Resumo: 2009. “Bioensaio Com Artemia Salina Para Detecção de Toxinas Em Alimentos Vegetais.” *Estudos* 36: 795–808.

LABMASTER. FISPQ Ficha de informações de segurança de produtos químicos. BIOTEC. 2011. http://labmastercientifica.com.br/e__FISPQ-59.html.

MATSUURA, F.U. **Estudo do albedo de maracujá e de seu aproveitamento em barra de cereais**. 2005 Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.

MEYER, B.N. et al. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plant Research**, v.45, p.31-34, 1982.

PRICE, K.S.; WAGGY, G.T.; CONWAY, R.A. (1974) Brine shrimp bioassay and seawater BOD of petrochemicals. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, v.46, p.63–77 in World Health Organization Geneva, 1998.

RESIMAPI PRODUTOS QUÍMICOS, 2011. Código do produto: FISPQ 0119. São Paulo

SILVA Q. I.; B. C. F. O.; SANTOS, A. L.; SILVA PENA. 2009. “OBTENÇÃO DE BARRA DE CEREAIS ADICIONADA DO RESÍDUO INDUSTRIAL DE MARACUJÁ *.” **Revista Alimentação E Nutrição de Araraquara**.

SPENCER, K.C.; SEIGLER, D.S. Cyanogenesis of *Passiflora*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.31, n.4, p.794-796, 1983.

CAPÍTULO V

5 EFEITO DOS DIFERENTES PROCESSOS DE SECAGEM NA REDUÇÃO DOS GLICOSÍDIOS AMIGDALINA E PRUNASINA EM CASCAS DE MARACUJÁ AMARELO.

RESUMO

Nos mercados brasileiros é vendida uma farinha elaborada a partir de cascas de maracujá. Segundo a literatura a casca do maracujá tem glicosídeos amigdalina, prunasina e outros isômeros de amigdalina. Os processos de secagem nem sempre são suficientes para degradar os glicosídeos e em alguns estudos se quantifica apenas o glicosídeo amigdalina, que dependendo do processo, se converte em prunasina, mantendo a toxicidade do produto. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi testar vários processos de secagem e quantificar os glicosídeos amigdalina e prunasina avaliando qual processo foi mais efetivo na degradação dos glicosídeos. Foram testados a secagem convectiva (SC), a liofilização (L), a secagem convencional com ultrassom acoplado (SCUS) e extrusão termoplástica (ET). Quatro amostras comerciais foram também quantificadas. Entre os processos testados, o que mais degradou os cianogênicos foi a SCUS. Entre as amostras comerciais apenas uma teve níveis de cianogênicos abaixo dos padrões brasileiros. Segundo a Organização Mundial da Saúde a existência de uma ingestão segura de glicosídeos cianogênicos ainda não está devidamente elucidada devido a alta toxicidade aguda que complica a interpretação dos dados para uma avaliação da dose diária aceitável.

Palavra-chave: extrusão termoplástica, ultrassom, liofilização, secagem convectiva.

ABSTRACT

In Brazilian markets is sold a flour as of passion fruit peels. According to the literature the peel of passion fruit has amygdalin glycosides, prunasin and other isomers of tonsil. The drying methods are not always sufficient to degrade the glycosides and some studies only quantifies the glycoside amygdalin, which depending on the process becomes prunasin, maintaining its toxicity. In this sense, the objective of this study was to test various drying processes and quantify the amygdalin glycosides and prunasin evaluating that process was more effective in the degradation of the glycosides. Were tested convective drying (SC), lyophilization (L), conventional drying coupled with ultrasound (SCUS) and thermoplastic extrusion (ET). Four commercial samples were also quantified. Among the tested processes, which further degrades the cyanogenic was SCUS. Among the commercial samples only one had levels of cyanogenic below Brazilian standards. According to the World Health Organization there is not a safe intake of cyanogenic glycosides due to high acute toxicity complicating the interpretation of the data for an assessment of acceptable daily intake.

Key words: thermoplastic extrusion, ultrasound, liofilization, convective drying.

5.1 INTRODUÇÃO

Glicosídeos cianogênicos são substâncias tóxicas de ocorrência natural encontrados em várias espécies de origem vegetal. Existem em torno de 25 glicosídeos cianogênicos conhecidos, alguns ocorrendo em partes comestíveis do fruto. Entre esses glicosídeos estão a Amigdalina e a Prunasina (Figura 15). A Amigdalina é o glicosídeo cianogênico melhor caracterizado segundo Sollman, (1944) e são encontrados em sementes de algumas frutas, polpa e cascas, (VETTER, 2000).

Os cianogênicos agem nos vegetais como uma defesa contra predadores através de reações enzimáticas que geram ácido cianídrico através da atividade enzimática beta-glucosidase presente no trato gastrointestinal dos animais, (WHO, 2012). A dose aguda letal para mamíferos mais baixa já relatada foi de 0.5 mg HCN kg⁻¹ de peso corpóreo (WHO, 2012). Mas Kermanshai et al., (2001) relatou que dose fatal de cianeto de potássio para humanos se encontra na faixa de 1,5 mg KCN kg⁻¹ de peso corpóreo.

Abaixo da dose letal o corpo humano pode metabolizar o cianeto em substância menos tóxica (tiocianato) excretando posteriormente pela urina. Embora seja menos tóxica, a exposição crônica ao cianeto pode causar bócio, pois o tiocianato compete pela absorção do iodo na glândula tireóide, (DELANGÉ et al., 1994).

WHO (2012) concluiu que, devido à falta de informações quantitativa, toxicológicas e epidemiológicas, um nível seguro de ingestão de glicosídeos cianogênicos não pode ser estimado. No entanto, a comissão concluiu que um nível de até 10 mg de HCN kg⁻¹ na norma do Codex Alimentarius para algumas farinhas não está associado com “toxicidade aguda”. No Brasil, a resolução RDC n.53, Brasil,(2000) responsável por regulamentar tecnicamente a Identidade e Qualidade de Mistura à base de farinhas fixou o valor de 4 mg de HCN kg⁻¹ de produto.

A cultura do maracujá no Brasil vem crescendo ao longo dos anos, fazendo desse país o maior produtor e também consumidor do maracujá amarelo. O suco, principal produto do fruto, representa apenas uma pequena parte (30 a 35%). No sentido de minimizar deposição de resíduos sólidos no ambiente e por ser um subproduto rico em antioxidante e fibras, nos mercados brasileiros está sendo comercializada a casca do maracujá em forma de farinha seca, pois, de fato, muitos estudos relataram serem as cascas de maracujá ricas em fibra, em antioxidantes e ter grande potencial anti-inflamatório (BENINCÁ, J. P. et al., 2007; YAPO e KOFFI, 2008; WATSON, R. R. et al., 2008; MARTÍNEZ, R. et al., 2012).

Porém, também é bem conhecido que o maracujá possui glicosídeos cianogênicos em todo o fruto, exceto nas sementes, (SPENCER, K. C.& SEIGLER, 1983; CHASSAGNE, D. et al., 1996; VETTER, J., 2000; DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A, 2004). Segundo Rauws, Gramberg e Olling, (1982) a identidade do metabólito da amigdalina e prunasina foi confirmada por espectrometria de massa. Os autores relatam que não foi encontrada quase nenhuma diferença no espectro de absorção UV entre a amigdalina e prunasina. Informaram que o coeficiente de absorção molar, o comprimento de onda e as características das massas para ambos os glicosídeos.

O conteúdo de amigdalina encontrado em cascas de maracujá de acordo com vários autores segundo a literatura variou de 65 – 286 mg/kg dependendo da fase de crescimento do fruto, do tipo de solo, das práticas culturais, origem geográficas e também do tipo de insetos

do local, visto serem os glicosídeos cianogênicos parte da defesa dos vegetais (SPENCER, K. C. & SEIGLER, 1983; CHASSAGNE, D. et al., 1996; VETTER, J., 2000; ROSENTHALER, 1991). Chassagne et al., (1996) identificou 5 (cinco) glicosídeos cianogênicos de vários frutos da Passiflora que foram a amigdalina, prunasina, sambunigrina e dois isômeros de amigdalina, sendo a amigdalina e prunasina os de maior presença.

As farinhas de cascas de maracujá vendidas nos mercados brasileiros passam por um processo de secagem e moagem e nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi quantificar amigdalina e prunasina em amostras do mercado e também testar vários processos de secagem avaliando o que melhor degradou os cianogênicos.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Matéria-prima

Foram adquiridos no mercado local do Rio de Janeiro quatro tipos de farinhas de cascas de maracujá para ser quantificado o conteúdo de amigdalina e prunasina por HPLC. Também foi adquirido no mercado CEASA do Rio de Janeiro 100kg de maracujá frescos maduros para secagem convectiva, liofilização e processo de extrusão termoplástica. Amostras de cascas de maracujá processadas por secagem com ultrassom acoplado vieram da Universidade Politécnica de Valencia, Espanha para serem analisadas.

5.2.2 Processos

5.2.2.1 Secagem convectiva

Os frutos maracujá (100kg) foram higienizados, partidos em metades e despolpados. Foi pesado e levado a estufa com circulação de ar na temperatura de 50°C (Fabbe-Primar). A umidade inicial das amostras foi de $93 \pm 0,25$ % feita pelo método do peso constante em estufa a $105^\circ\text{C} \pm 2$. A umidade final após secagem foi de 9,41%. As cascas secas foram moídas em Moinho de discos marca Perten Laboratory Mill 3600 e a granulometria teve 80% do peso nos tamanhos 212 – 850 μm . A farinha moída de casca de maracujá foi armazenada em sacos plásticos em temperatura ambiente até a etapas outros processos como extrusão termoplástica e extração dos cianogênicos.

5.2.2.2 Processo por Extrusão Termoplástica das cascas moídas de maracujá

A extrusão da casca moída de maracujá foi realizada utilizando uma extrusora de duplo parafuso CLEXTRAL, modelo Evolum 25, considerando após a estabilização do sistema: vazão da água 2 L h^{-1} , alimentação do material sólido de $3,4 \text{ kg h}^{-1}$, pressão da caixa de redução 15 psi, pressão na saída da matriz de 10 psi, o torque de 15 psi, diâmetro da matriz de 8mm e a quantidade de produto produzido de 1,3 kg. Os diferentes tratamentos previstos em desenho experimental estão descritos na Tabela 9. Após a extrusão as amostras foram secas a $40^\circ\text{C}/20\text{h}$.

Tabela 8 Temperatura de processamento por extrusão termoplástica e velocidade do parafuso dos tratamentos T1, T2, T3 e T4

Tratamentos	Velocidade do parafuso (rpm)	Temperatura da Zona de aquecimento (°C)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
T1	350	30	40	90	120	120	130	130	130	130	130
T2	150	30	40	90	120	120	130	130	130	130	130
T3	150	30	40	90	100	100	100	100	100	100	100
T4	350	30	40	90	100	100	100	100	100	100	100

5.2.2.3 Processo de secagem com ultrassom acoplado

Um secador com ultrassom acoplado (Figura 4) descrito em detalhes por Riera et al., (2011) foi utilizado para realizar os experimentos. O sistema é provido de uma câmara de secagem cilíndrica vibrante com um transdutor piezelétrico (21,8,kHz). Uma unidade de impedância correspondente permite a saída de impedância do gerador para ser sintonizado na frequência da ressonância do transdutor do sistema com um melhor rendimento elétrico. Um campo de ultrassom de alta intensidade (até 154,3 dB (decibéis)) produz som dentro do tambor de secagem no interior da câmara enquanto o ar quente ventila. As amostras foram colocadas aleatoriamente usando um suporte de amostra personalizado que permite o fluxo de ar passar de forma homogênea ao tratamento de ultrassom.

A secagem com ultrassom acoplado ao secador foi feita nas temperaturas de 40 e 70°C com ventilação de ar na velocidade de 1 m s^{-1} , a uma frequência de onda de 21.7 kHz e com potência de 30.8 kW/m^3 . A secagem foi levada até a perda de 80% do peso inicial apresentando uma umidade final de $0.47 \pm 0.07\text{ kg água/kg matéria seca}$. O processo foi feito nos laboratórios do Grupo ASPA da Universidade Politécnica de Valencia, ES.

5.2.3 Extração glicosídica

A metodologia de extração foi feita seguindo a metodologia descrita por Bolarinwa, et al. (2014), onde a melhor extração testada para amigdalina foi em etanol a 78,5°C por 100 minutos. Nesse sentido, todas as amostras tiveram suas extrações dos glicosídeos seguindo essa metodologia.

5.2.4 Quantificação dos glicosídeos por CLAE

5.2.4.1 Extração e separação do padrão cromatográfico através das matrizes ameixa preta e casca de maracujá.

Foram compradas no mercado local de Guaratiba, Rio de Janeiro 4423,8 g de ameixa preta fresca. A polpa foi separada do caroço que foi quebrado posteriormente com martelo para retirada das amêndoas. O rendimento em amêndoas de ameixa preta foi de 7,3 g que foi liofilizada logo após. O rendimento após liofilização foi de 4g. Foram moídas em grau e pistilo e colocadas em sacos plásticos até a extração.

Também foram comprados maracujás maduros, higienizados, despolidos e suas cascas foram liofilizadas. Foram moídas e armazenadas para a extração.

A extração foi feita em uma vidraria especial com adição de 50 ml de etanol absoluto. Após permanecer em estufa à temperatura de 78°C por 100 minutos, foi filtrado em filtro Milex-GV 0,22 µm.

O extrato foi evaporado e o rendimento final foi de 5 ml de amigdalina e 3 ml de prunasina. Foi calculado e adicionado solução de acetonitrila a 10% sendo homogeneizado no Vortex e lido no espectro a 215 nm. A absorção da Prunasina foi de 0,365 e da amigdalina foi de 0,608. A solução foi injetada no cromatógrafo e de acordo com o espectro de UV da amigdalina e da prunasina (Rauws, Gramberg e Olling, 1982) foi recolhida na saída com coletores programados para o tempo de retenção dos picos da amigdalina e da prunasina. Assim, várias rodadas foram feitas para se extrair o máximo possível de padrão. A amigdalina coletada foi comparada ao padrão Amigdalina (Sigma, Alderich).

5.2.4.2 Curva dos padrões amigdalina e prunasina

Foi elaborada uma curva analítica para amigdalina e prunasina de acordo com a Tabela 10. Uma curva do padrão amigdalina também foi feita pesando-se 0,0106g de amigdalina, diluindo em 3 mL de acetonitrila a 15%. Uma solução com 2 ml de solução de prunasina a 10% de acetonitrila foi elaborada e posteriormente injetada no cromatógrafo.

Tabela 9 Curvas analíticas de amigdalina e prunasina

Pontos	Amigdalina (µg/L)	Prunasina (µg/L)	Diluição
1	7,47	8,00	-
2	6,72	7,20	900/1000
3	5,98	6,40	800/1000
4	5,23	5,60	700/1000
5	4,48	4,80	600/1000

Uma segunda curva de amigdalina foi elaborada, pois os resultados eram de uma concentração bem acima da curva.

5.2.4.3 Metodologia de quantificação por CLAE.

Um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) equipado com bomba analítica W600, com forno para colunas, injetor automático 717 plus (fabricante Waters). Foi usado um cromatógrafo analítico Alliance® 2695 Waters, com detector de arranjo de fotodiodos 2996 Waters com varredura de 350 a 550nm e quantificação em 215 nm. A coluna utilizada também Waters® foi a C₁₈ BDS Hypersil (100 X 4.6 mm; 2,4 µm, USA) mantida à 30°C. Fase móvel constituída por água/acetoneitrila, com injeção de 5 µL/min e a eluição em modo gradiente iniciando em proporção de 50/50 e após 2,5 minutos 30/70 com tempo total da corrida de 13 min. Os espectros na região UV de amigdalina e prunasina estão na Figura 15.

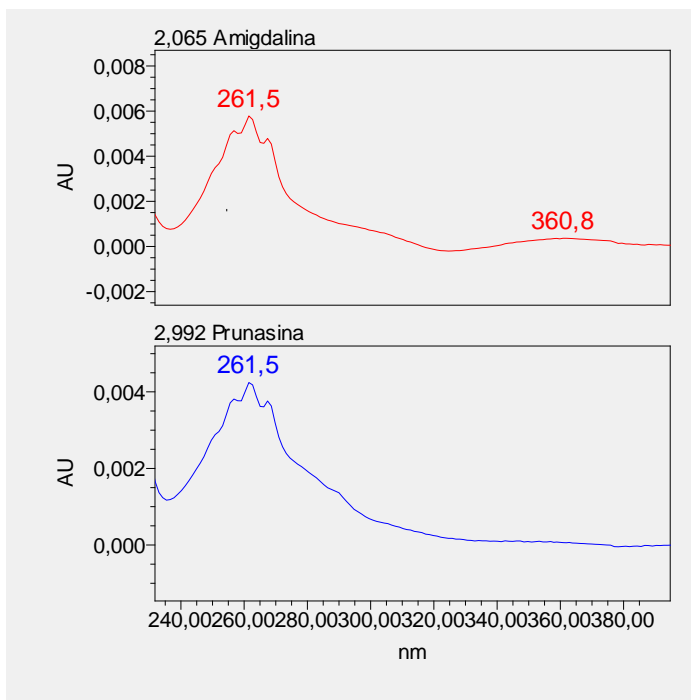


Figura 15 Espectros obtidos com a injeção dos extratos de amigdalina e prunasina

5.3 Análise estatística

Os dados foram analisados pela análise de variância fator único e para identificar os pares de médias que diferiram entre si foi feito o teste Scott and Knott (Scott e Knott, 1974).

5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.4.1 Conteúdo de cianogênicos na casca *in natura*

O conteúdo de cianogênicos da amostra *in natura* foi de $671,83 \pm 40,57$ mg de AM /100g (b.s.) de amostra, representando um conteúdo de $39,65 \pm 2,39$ mg de HCN/ 100g de amostra. Todas as outras amostras diferiram estatisticamente dela. Segundo Spencer e Seigler, (1983) o conteúdo de HCN em cascas de maracujá *in natura* foi de 58,3 mg HCN/100g, sendo que esse fruto apresentava-se imaturo. Para cascas de maracujá com amadurecimento parcial o conteúdo foi de 22,3 mg de HCN/100g, e para frutos maduros foi de 11,5 mg de HCN/100g. Para Chassagne et al., (1996) o conteúdo foi de 28,7 mg HCN;100g em *P. edulis*

flavicarpa e em *P. edulis edulis* 23,1 mg/100g. Outros autores também quantificaram e relataram numa faixa que variou de 11,7 a 78,4 mg de HCN/100g. Os dados foram analisados pela análise de variância confirmando que houve diferença significativa com ($p < 0,05$) entre as amostras. Para identificar os pares de médias que diferiram entre si foi feito o teste Scott and Knott (Scott e Knott, 1974), que visa separar em grupos distintos (Tabela 3), através da minimização da variação dentro do grupo e maximização da variação entre grupos (BORGES, LÍVIA COSTA; FERREIRA, 2003). A extensa faixa de resultados visto em outros trabalhos é devido ao glicosídeo cianogênico ser uma substância própria da defesa do vegetal, e assim estar sob influência dos fatores ambientais, do manejo no cultivo, do tipo de solo, e na existência e tipo dos predadores do local.

5.4.2 Conteúdo de cianogênicos no processo de liofilização

A amostra que foi submetida ao processo de liofilização também diferiu estatisticamente de todas as outras. Ela ainda manteve um conteúdo de $16,96 \pm 1,27$ de AM/100g e uma conversão a PR de $214,10 \pm 2,67$ mg de PR/100g. A quantidade total de HCN da amostra liofilizada, somando a quantidade de HCN contida na AM e contida na PR, foi de $13,64 \pm 0,23$ mg de HCN/ 100g, sendo 2,9 vezes menor que a amostra *in natura* e 3,4 vezes maior que os níveis fixados pela resolução da ANVISA, (BRASIL, 2000).

O processo de liofilização é uma técnica de secagem que desidrata o material através do congelamento da parte líquida e posterior sublimação do gelo, sendo um processo onde as cinéticas das reações deteriorativas se reduzem drasticamente obtendo-se produtos de maior qualidade (AGUILERA et al., 1998). A temperatura de colapso durante a liofilização está relacionada à temperatura de transição vítrea, segundo (AGUILERA; CUADROS; DEL VALLE, 1998), os quais dizem que durante esse processo o encolhimento do produto é mínimo. Sendo a temperatura de colapso maior que a de transição vítrea, menores perdas sofre a matriz. Assim, já era esperado que no processo de liofilização fosse preservado maior conteúdo de HCN na amostra pelos motivos citados. Porém, apesar do processo de liofilização ser um processo muito apreciado para preservar antioxidantes, vitaminas, carotenoides em vegetais, não seria recomendado para tipos de frutos que possuem glicosídeos cianogênicos, pois nesse caso, o objetivo seria a sua degradação.

5.4.3 Conteúdo de cianogênicos na secagem convectiva

As amostras submetidas ao processo de secagem convectiva a 50°C preservou mais Amigdalina que a liofilizada. Esse comportamento pode ser explicado, pois na secagem convectiva a superfície da matriz tende a secar mais rapidamente que o interior, formando uma camada relativamente impermeável (Foust et al., 1982). Isso pode ter contribuído na proteção para determinado número de células localizadas numa faixa mais interna do material, preservando o seu conteúdo de glicosídico cianogênico Amigdalina, e consequentemente uma menor conversão em Prunasina. Assim, se nota que as modificações estruturais das amostras submetidas ao processo de secagem convectiva tem maior poder de quebrar as ligações mais difíceis de serem rompidas como é o caso das moléculas de Prunasina. O conteúdo total de HCN ficou 1,5 vezes maior que a faixa da resolução brasileira.

Tabela 10 Quantificação dos glicosídeos cianogênicos da casca do maracujá *in natura* e processada

Amostras	(mg de amigdalina/100g de amostra)	(mg de prunasina/100 g de amostra)	(mg de HCN/100 g amostra)	Percentual de degradação de HCN/100g na amostra (%)
(CMIN) (<i>in natura</i>)	671,83 ± 40,57	nd ^a	39.65 ± 2,39	-
(SC) a 50°C	21,16 ± 1,32	87,18 ± 8,80	6,39 ± 0,51	83,9
(L) Liofilizada	16,96 ± 1,27	214,10 ± 2,67	13,64 ± 0,23	65,6
SCUS 40°C	nd	4,78 ^a	0,28	99,3
SCUS 70°C	nd	33,10 ± 1,73	1,95 ± 0,10	95,1
ET/T1	nd	85,57 ± 5,42	5,05 ± 0,32	87,3
ET/T2	nd	120,17 ± 33,44	7,09 ± 1,97	82,1
ET/T3	nd	159,28 ± 60,95	9,40 ± 3,60	76,3
ET/T4	11,17 ± 1,39	137,23 ± 42,91	8,76 ± 2,48	77,9
Comercial C1	nd	14,58 ± 0,23	0,86 ± 0,01	97,8
Comercial C2	nd	5,17 ± 0,22	0,30 ± 0,01	99,2
Comercial C3	nd	52,25 ± 5,85	3,08 ± 0,34	92,2
Comercial C4	nd	49,65 ± 5,16	2,93 ± 0,30	92,6

^a nd = não detectado

^b tratamento sem repetições.

CMIN = Casca de maracujá

SCUS = Processo com Ultrassom na secagem

ET = Processo de Extrusão Termoplástica + secagem a 50°C (Tratamentos: T1, T2, T3, T4)

Tabela 11 Teste de Scott Knott para as amostras (dispostas da menor conteúdo para maior)

Amostras	Letras iguais – sem diferença significativa
SCUS 40°C	a
Comercial C2	a
Comercial C1	a
SCUS 70°C	a
Comercial C4	b
Comercial C3	b
ET/T1	b
SC a 50°C	c
ET/T2	c
ET/T4	d
ET/T3	d
L	e
CMIN	f

5.4.4 Conteúdo de cianogênicos no processo de Extrusão Termoplástica (ET)

O processo ET tem sido utilizado também no sentido de inativar substâncias antinutricionais. Kelkar, et al., (2012) utilizou a extrusão para reduzir lecitinas tóxicas e oligossacarídeos em farinha de feijão e, segundo os autores, houve uma significativa redução comparada ao processo de cozimento tradicional por vapor.

As amostras submetidas ao processo ET, tratamentos T3 e T4 não tiveram diferença estatística significativa e apresentaram um conteúdo de $9,40 \pm 3,60$ e $8,76 \pm 2,48$ mg de HCN/ 100g respectivamente, apesar da amostra T4 ter preservado um conteúdo de amigdalina de $11,17 \pm 1,39$ mg de AM/100g. Essas amostras degradaram o HCN em 76,3 e 77,9 % respectivamente em relação à amostra *in natura*.

A amostra T2 do processamento por ET e a amostra desidratada a 50°C não diferiram estatisticamente e tiveram um conteúdo total de HCN de $7,09 \pm 1,97$ e $6,39 \pm 0,51$ mg de HCN/ 100g, respectivamente. O T1 e duas amostras comerciais C3 e C4 também não diferiram estatisticamente entre elas. Os conteúdos de HCN por 100 g de amostra para T1, C3 e C4 foram $5,05 \pm 0,32$, $3,08 \pm 0,34$ e $2,93 \pm 0,30$, respectivamente.

No processo por ET os tratamentos T1 e T2 tiveram a mesma temperatura conforme (Tabela 8), porém T1 teve rotação de parafuso maior (350 rpm). Isso levou a amostra a um maior cisalhamento entre as moléculas e assim, havendo maior rompimento das células com um maior grau de degradação dos glicosídeos cianogênicos conforme mostra a (Tabela 10). A casca do maracujá tem em sua composição grande conteúdo de fibras que durante o processo por ET também ajudam a romper as pontes de hidrogênio das ligações glicosídicas segundo

(FAUBION E HOSENEY, 1982); portanto, ao aumentar a rotação dos parafusos, aumenta também o rompimento das pontes de hidrogênio pela ação das fibras em cisalhamento.

No processamento da amostra T3 a temperatura é mais baixa que T1 e T2 conforme (Tabela 10) e a velocidade da rosca da extrusora também mais baixa (150 rpm), revelando ser esse tratamento (T3) o mais brando para as moléculas da matriz cianogênica. Assim, os glicosídeos cianogênicos foram também mais preservados entre todos os outros dos tratamentos termoplásticos.

Ao aumentar a rotação do parafuso, passando do tratamento T3 para o tratamento T4, houve uma maior degradação dos glicosídeos. É então observado que o efeito combinado de diminuição da temperatura associado à diminuição da velocidade do parafuso preserva mais os glicosídeos (tratamento T3); aumento de temperatura e aumento da rotação do parafuso leva a maior degradação dos glicosídeos (tratamento T1) e a diminuição da temperatura combinado ao aumento da rotação do parafuso parece realizar menos hidrólise das moléculas de **amigdalina** preservando algum conteúdo dela (tratamento T4), ou seja, a passagem mais rápida da matéria no canhão da extrusora (devido ao aumento da rotação dos parafusos) com temperatura mais branda leva a maior preservação dos cianogênicos.

É interessante também observar que os tratamentos T2, T3 e T4 que foram elaborados a partir da cascas secas a 50°C, apresentaram, porém um conteúdo de HCN maior que a própria matriz (casca seca a 50°C) que foi usada como matéria prima para o processo de extrusão. Isso pode revelar que existe outro glicosídeo que não foi identificado durante a quantificação, sendo hidrolisado e convertido a prunasina durante o processo. Segundo (CHASSAGNE et al., 1996) existem outros cianogênicos no maracujá além da amigdalina e prunasina. Eles identificaram também dois isômeros de amigdalina e a sambunigrina. Koo, J. Y. et al. (2005) mostraram em seu trabalho a epimerização da amigdalina pelo aquecimento. Para evidenciar esses achados a (Figura 15) mostra o cromatograma da farinha seca a 50°C e seus respectivos espectros. Como se pode notar, entre os picos de amigdalina e o pico da prunasina existe um pico desconhecido de mesmo espectro. Esse pico pode ser o epímero da amigdalina, conforme descrito por Chassagne et al., (1996), com uma área maior que amigdalina e naturalmente, com um conteúdo maior de HCN, o qual não foi degradado pelo tratamento de secagem a 50°C.

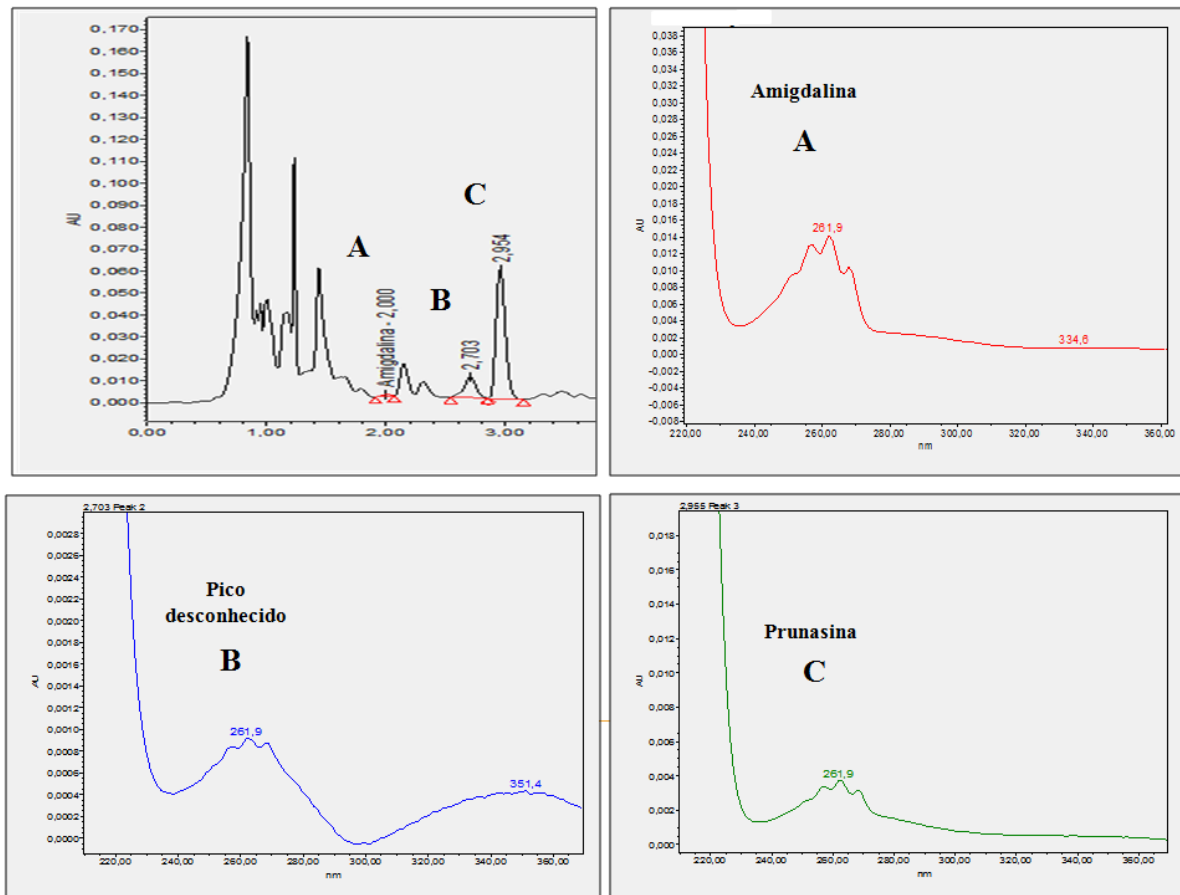


Figura 16 Cromatograma revelando os picos (A) de Amigdalina, (B) desconhecido e (C) de Prunasina com seus respectivos espectros ao lado.

5.4.5 Conteúdo de cianogênicos no processo de secagem com Ultrassom acoplado (US)

As amostras com menor conteúdo de g de HCN por 100g foram as comerciais C1 e C2 e as amostras processadas com secagem com ultrassom acoplado. Não houve diferença estatística entre elas e apresentaram conteúdo de HCN/100g para (CM + US 40°C) de 0,28, a Comercial C2 de $0,30 \pm 0,01$, a Comercial C1 $0,86 \pm 0,01$, a (CM + US 70°C) de $1,95 \pm 0,10$.

As amostras processadas com ultrassom (SCUS) foram as que mais degradaram os glicosídeos cianogênicos em comparação com as do processo de (L), de (ET), (SC) e alguns comerciais. O processo (SCUS) partiu da matéria *in natura*, o qual possuía um conteúdo de glicosídeo bem alto, diferentemente do processo de ET onde a farinha a ser extrudada passou por uma prévia secagem SC e após a extrusão por mais secagem a 40°C/20h.

O fato do processo SCUS ter degradado mais os glicosídeos cianogênicos pode ser explicado pelo fenômeno que acontece quando as ondas acústicas produzem um estresse mecânico nos materiais levando ao chamado *efeito esponja*, segundo Carcel et al., (2014) gerando micro canais com a facilitação da saída de água da matriz. Assim, como toda a estrutura interna da matriz sofre modificações físicas com micro compressões contínuas e descompressões, os glicosídeos cianogênicos ficam mais expostos à hidrólise e degradação. O tipo de processamento de secagem executado nas amostras comerciais, ou seja, temperatura,

tipo de secador, etc., foi desconhecido. Com exceção de uma amostra comercial e da processada por SCUS, todas as outras tiveram níveis de HCN acima dos limites da resolução brasileira.

Ao se comparar os processos SC, L e ET/T4 se pode notar que uma parcela de amigdalina é preservada, mostrando ser uma molécula mais estável aos tratamentos térmicos utilizados. A Amigdalina é convertida em Prunasina quando perde uma molécula de açúcar pela quebra da ligação glicosídica β 1-6 entre as duas glicoses. Conclui-se então que nesses tipos de tratamentos não houve energia suficiente para quebrar todas as ligações glicosídicas em todas as moléculas de amigdalina.

5.4.6 Conversão da amigdalina em prunasina

Em quantificação de produtos que contenham glicosídeos cianogênicos como a Amigdalina, que tem sua conversão em outro glicosídeo (Prunasina), é necessário quantificar dois cianogênicos pelo menos. No trabalho de (CHEN et al., 2012) foi estudada a absorção da Amigdalina em ratos após administração oral de Amigdalina pura versus a decoção das sementes que continham Amigdalina. Foi destacada a importância da Amigdalina ter sido detectada quando foi administrada de forma intravenosa. Na administração oral, por decoção das sementes, foi detectada a **Prunasina** e não a Amigdalina, revelando que toda a Amigdalina perdeu sua molécula de açúcar se convertendo em Prunasina durante a digestão e absorção para o plasma. Tanto em processos de digestão quanto em processos de aquecimento, moagem, e outros a Amigdalina pode perder uma molécula de açúcar se convertendo em Prunasina. Por isso, a Amigdalina nunca deve ser quantificado isoladamente, pois sua conversão em Prunasina não descarta sua toxicidade.

No entanto, no trabalho de (BOLARINWA; ORFILA; MORGAN, 2014) após quantificar apenas a amigdalina em produtos processados do mercado do Reino Unido comparado aos relativos produtos frescos, foram considerados de baixo teor de amigdalina e pouco suscetível de causar quaisquer problemas de saúde se consumido normalmente. Porém, nesse trabalho ficou desconhecido se a prunasina ainda se encontrava presente ou se foi degradada.

Em outro trabalho de Bolarinwa et al., (2015) ao analisar os sucos de maçãs industrializados em embalagens longa vida, os resultados apresentaram baixos conteúdos de amigdalina e permanece a mesma dúvida, pois quando um produto processado ainda apresenta baixos níveis de Amigdalina, pode estar indicando que uma boa parte dela foi convertida em prunasina e que um conteúdo de HCN pode ainda estar retido. (BOLARINWA; ORFILA; MORGAN, 2015) cita que graves problemas de saúde podem ocorrer como resultado da ingestão de baixos níveis, intencional ou acidental de amigdalina nos alimentos.

Para estudos feitos sobre a cianidrina, por exemplo, que é decorrente da conversão de outro glicosídeo, a conclusão geral de uma revisão recente da Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos foi que a cianidrina se comporta como seu equivalente molar de cianeto tanto *in vitro* como *in vivo* (NAS, 2009). Portanto, deve-se considerar que qualquer ingestão de alimentos contendo glicosídeos cianogênicos parcialmente degradados vai liberar HCN com base numa comparação molar.

5.4.7 Risco do consumo de alimentos cianogênicos

O corpo humano tem um mecanismo para destoxicar o cianeto em doses abaixo da letal. O mecanismo se resume em transformara o cianeto em tiocianato, em presença de enzima rodanase, e cisteína, um aminoácido doador de enxofre. O tiocianato formado não é mais tóxico e é eliminado pela urina (WHO, 2004).

O metabólito principal do produto da desintoxicação é o tiocianato e se torna o responsável pela toxicidade crônica. O tiocianato compete com a captação de iodo e agrava substancialmente o processo adaptativo da glândula tiroide, induzindo hipotireoidismo grave, tanto na primeira infância como na idade adulta. O consumo frequente de alimentos com glicosídeos cianogênicos em doses abaixo da letal pode provocar certas doenças, como o bócio e a neuropatia atáxica tropical (OKE, 1980).

No Brasil, distúrbios por deficiência de Iodo foram detectados como problema de saúde pública na década de 50, quando cerca de 20% da população apresentou bócio, (KONOBEL, et al., 2004). Problemas como esses são enfrentados na África, onde é consumido produto da mandioca mal processado contendo ainda glicosídeos cianogênicos (HIPÓLITO et al., 2011).

5.5 CONCLUSÃO

O processo que mais degradou os glicosídeos cianogênicos foi por secagem com ultrassom acoplado e um tipo desconhecido de tratamento da amostra comercial. Todas as outras amostras comerciais e de outros tratamentos testados ficaram com níveis de HCN acima dos limites especificados pela resolução brasileira. Um dos tratamentos por processo de extrusão termoplástica ainda preservou a amigdalina, levando a concluir que a diminuição da temperatura associado ao aumento da rotação do parafuso degrada menos esse cianogênico. Na quantificação dos cianogênicos é possível que epímeros estejam presentes entre os compostos os quais aumentaram o conteúdo total de ácido cianídrico. Por ser uma defesa própria do vegetal contra predadores, é possível que as cascas das frutas cianogênicas contenham maior conteúdo de HCN que a polpa. Por isso, para se consumir cascas desse tipo de fruto, e em vista dos perigos que foram apresentados pelo consumo de produtos cianogênicos, os processos anteriores ao preparo dos produtos devem ser monitorados de forma que o produto final não ofereça perigo agudo ou crônico às populações.

5.6 REFERÊNCIAS

- AGUILERA, J. .; CUADROS, T. .; DEL VALLE, J. . Differential scanning calorimetry of low-moisture apple products. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, n. 1, p. 79–86, 1998.
- BENINCÁ, J.P., MONTANHER, A.B., ZUCOLOTTI, S.M., SCHENKEL, E.P., FRÖDE, T.S., (2007). Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of *Passiflora edulis*. **Food Chemistry** 104, 1097–1105. doi:10.1016/j.foodchem.2007.01.020
- BOLARINWA, I. F.; ORFILA, C.; MORGAN, M. R. A. Amygdalin content of seeds, kernels and food products commercially- available in the UK. **Food Chemistry**, v. 152, p. 133–139, 2014.

BOLARINWA, I. F.; ORFILA, C.; MORGAN, M. R. A. Determination of amygdalin in apple seeds, fresh apples and processed apple juices. **Food Chemistry**, v. 170, p. 437–442, 2015.

BORGES, LÍVIA COSTA; FERREIRA, D. F. **PODER E TAXAS DE ERRO TIPO I DOS TESTES SCOTT-KNOTT , TUKEY E STUDENT-NEWMAN- KEULS SOB DISTRIBUIÇÕES NORMAL E NÃO NORMAIS DOS RESÍDUOS**. [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução, RDC n.53, 15 de junho de (2000). Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à Base de Farelo de Cereais. Brasília, 2000. 12p.

CÁRCEL, J.A.; GARCÍA-PÉREZ, J.V.; RIERA, E.; ROSSELLÓ, C.; MULET, A. (2014) Drying assisted by ultrasound (Chapter 8)In: **Modern Drying Technology** Vol. 5, Process Intensification. Ed. E. Tsotsas, A.S. Mujumdar. WileyISBN: 978-3-527-31560-4237-278.

CHASSAGNE, D. JEAN C. CROUZET, CLAUDE L. BAYONOVE, RAYMOND L. BAUMES, 1996. Identification and Quantification of Passion Fruit Cyanogenic Glycosides. **Agriculture Food Chemistry**, p. 3817–3820.

DHAWAN, K., DHAWAN, S., SHARMA, A., (2004). Passiflora: a review update. **Journal of ethnopharmacology** 94, 1–23. doi:10.1016/j.jep.2004.02.023

DELANGE F, BOURDOUX P, VO THI LD, ERMANS AM, SENTERRE J. (1994). The disorders induced by iodine deficiency. **Official Journal of the American Thyroid Association**; 4 (1): 107-28.

FAUBION, J. M., & HOSENEY, R. C. (1982). High-temperature short-time extrusion cooking of wheat-starch and flour. 2. Effect of protein and lipid on extrudate properties. **Cereal Chemistry**, 59, 533–537

FOUST, A.S.; CLUMP, C.W. (1982). Princípios das operações unitárias. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora; LTC, 670p.

HIPÓLITO, NZWALO; CLIFF, J. Konzo : From Poverty , Cassava , and Cyanogen Intake to Toxic-Nutritional Neurological Disease. **Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 6, p. 1–8, 2011.

KELKAR, S. et al. Use of low-temperature extrusion for reducing phytohemagglutinin activity (PHA) and oligosaccharides in beans (Phaseolus vulgaris L .) cv . Navy and Pinto. **Food Chemistry**, v. 133, n. 4, p. 1636–1639, 2012.

KERMANS HAI, R., MCCARRY, B.E., ROSENFELD, J., SUMMERS, P.S., WERETILNYK, E.A., SORGER, G.J., (2001). Benzyl isothiocyanate is the chief or sole antihelminthic in papaya seed extract. **Phytochemistry** 57, 427–435.

KOO, J.Y., HWANG, E.Y., CHOO S., LEE, J.H., LEE, Y.M., HONG, S.P. (2005). Quantitative determination of amygdalin epimers from armeniacaee semen by liquid chromatography. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 814, n. 1, p. 69–73, 2005.

KNOBEL, M.; MEDEIROS-NETO, G. (2004). Moléstias associadas à carência crônica de iodo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, n. 1, p. 53–61.

MARTÍNEZ, R., TORRES, P., MENESES, M. A., FIGUEROA, J.G., PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A., VIUDA-MARTOS, M., (2012). Chemical , technological and in vitro antioxidant properties of mango , guava , pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food**

chemistry, v. 135, p. 1520–1526.

NAS - National Academy of Sciences, (2009). Acetone cyanohydrins. In: Acute exposure guidelines for selected airborne chemicals. Vol. 7. Washington, DC, USA, Board on **Environmental Studies and Toxicology**, pp. 13-49.

OKE, O.L. (1980). Toxicity of cyanogenic glycosides. *Food Chemistry*, v.6, p.97-109.

RAUWS, A G, L G GRAMBERG, AND M OLLING. 1982. "Determination of Amygdalin and Its Major Metabolite Prunasin in Plasma and Urine by High Pressure Liquid Chromatography." **Pharmaceutisch Weekblad. Scientific Edition** 4 (6): 172–75. doi:10.1007/BF01959135.

ROSENTHALER, L., (1919). Die Verbreitung der Blausäure im Pflanzenreich. **Journal Suisse de Pharmacie**, 57, 279-346.

SOLLMAN, T. (1944) **A manual of pharmacology**, p. 826, Saunders, Philadelphia.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S. Cyanogenesis of *Passiflora edulis*. **J. Agric. Food Chem.**, v. 2, p. 794–796, 1983.

VETTER, J. 2000. Plant Cyanogenic Glycosides. **Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology**. Vol. 38. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10669009>.

WATSON, R.R., ZIBADI, S., RAFATPANAH, H., JABBARI, F., GHASEMI, R., GHAFARI, J., AFRASIABI, H., FOO, L.Y., FARIDHOSSEINI, R., (2008). Oral administration of the purple passion fruit peel extract reduces wheeze and cough and improves shortness of breath in adults with asthma. **Nutrition research (New York, N.Y.)**, v. 28, n. 3, p. 166–71.

YAPO, B. . M.; KOFFI, K. O. L. K. Dietary Fiber Components in Yellow Passion Fruit Rinds A Potential Fiber Source. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 3, p. 5880–5883, 2008.

WHO, Safety evaluation of certain food additives and contaminants. **World Health Organization**, v. 90, n. 1, p. 115–116, 2012.

WHO; SIMEONOVA, F.; FISHBEIN, L. Concise International Chemical Assessment Document 61 HYDROGEN CYANIDE AND CYANIDES : HUMAN HEALTH ASPECTS. **Proceedings of**, p. 6, 2004.

CONCLUSÃO GERAL

- Mesmo a casca do maracujá contendo altos teores de fibras e antioxidantes, para sua utilização como uma farinha seca, seria necessário maiores estudos que comprovassem sua inocuidade, pois segundo todos os estudos apresentados os quais desenvolveram produtos e que ao quantificarem glicosídeos cianogênicos, nenhum obteve êxito em torná-los abaixo dos limites estabelecidos pela legislação.
- O processamento de secagem com ultrassom acoplado mostrou ser muito vantajoso em aumentar a taxa de secagem diminuindo consideravelmente o tempo de secagem. Com isso, através desse processo foi possível também trabalhar em baixas temperaturas sem degradar os antioxidantes e compostos fenólicos.
- O teste com *Artêmia salina* para determinar a toxicidade do uso de cascas de maracujá foi eficaz por mostrar a DL₅₀ e relacionar com a toxicidade com KCN.
- Na quantificação de alimentos com glicosídeos cianogênicos é importante quantificar mais de um cianogênico, pois sua degradação gerando outros isômeros foi demonstrada através do presente trabalho. As amostras comerciais que foram testadas no presente trabalho obtiveram níveis bem baixo de glicosídeos cianogênicos, porém para segurança da população seria necessário uma total degradação através dos processos utilizados.
- A exposição em baixos níveis de cianogênicos pode oferecer um problema crônico de saúde pública para o Brasil.

SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

A partir dos resultados obtidos na realização deste trabalho e com o conhecimento adquirido no desenvolvimento do estudo, podem-se sugerir os seguintes trabalhos a serem desenvolvidos:

- O método de quantificação de ditiocarbamato pode ser desenvolvido a fim de tornar possível a quantificação direta de HCN em farinhas e produtos com cianogênicos presentes além de ser mais rápido e menos custoso.
- Estudo toxicológico com *A. salina* em amostras de farinhas secas vendidas no mercado a fim de avaliar sua toxicidade, pois não foi feito no presente trabalho;
- Estudo mais desenhado com secagem e ultrassom acoplado para obter melhores parâmetros de secagem que degradem completamente os glicosídeos cianogênicos, pois é um processo muito promissor.

ANEXOS – TRABALHOS PUBLICADOS

- Revisão bibliográfica publicada na Revista do Instituto Adolf Lutz. Título da revisão: **Benefícios e perigos do aproveitamento da casca de maracujá (*Passiflora edulis*) como ingrediente na produção de alimentos**.72(1):1-9, 2013
- Resumo Expandido publicado em congresso internacional com o título: **Efectos de la aplicación de ultrasonidos de alta intensidad durante el secado en la capacidad antioxidante de piel de maracuyá**. In: 45 CONGRESO ESPAÑOL DE ACÚSTICA, 2014, Murcia, España. TECNIACUSTICA 2014.
- Resumo Expandido publicado no IV Congresso Brasileiro de Processamento de Frutas e Hortaliças com o título: **Bioensaio pelo Teste da Artemia salina (T.A.S.) para Determinação da Toxicidade de Cascas de Maracujá (*Passiflora edulis*)**. Publicação em edição especial da Revista Online Journal of Fruits and Vegetables.
- Artigo na revista “Journal of Food Engineering” com o título: **Effects of high-intensity ultrasound on drying kinetics and antioxidant properties of passion fruit peel**. Volume 170, Pags 108–118.
- Resumo publicado no VII Fórum da Pós-Graduação da UFRRJ com o título: **Possibilidades do aproveitamento da casca do maracujá amarelo através do processo de extrusão termoplástica em alimentos**.
- Resumo publicado no VIII Fórum da Pós-Graduação da UFRRJ com o título: **Atividade antioxidante do resíduo industrial do processamento do maracujá**.
- Resumo publicado no IX Fórum da Pós-Graduação da UFRRJ com o título: **Influência da secagem com ultrassom sobre o tempo de secaem e sobre a atividade antioxidante das cascas de maracujá amarelo**.
- Resumo publicado no X Fórum da Pós-Graduação da UFRRJ com o título: **Avaliação da toxicidade de resíduo industrial do processamento do maracujá por meio de ensaio com artemia salina**.