

XIV Encontro de Química dos Alimentos

Indústria, Ciência, Formação e Inovação



LIVRO DE ATAS DO CONGRESSO

6 a 9 de novembro de 2018

Viana do Castelo, Portugal

N. DL: **447939/18**
Nome fornecedor: IPVC - INSTITUTO POLITÉCNICO DE VIANA DO CASTELO
Título: Livro de Atas do XIV Encontro de Química dos Alimentos Indústria, Ciência, Formação e Inovação
Autor: Comissão organizadora
Tipo: Monografia
Editor: Comissão Organizadora
Local de Publicação: Viana do Castelo
Data prevista de publicação (mês/ano): 11/2018
Nº de Edição: 1ª edição
Estado: Atribuído
Atribuído em: 2018-10-29
Criado a: 2018-10-29

ISBN: **978-989-98936-9-6**

Esta publicação reúne as comunicações apresentadas no XIV Encontro de Química dos Alimentos sob a forma de ata científica. O conteúdo dos textos compilados é da inteira responsabilidade dos seus autores.

INDÚSTRIA E NOVAS ABORDAGENS DOS SISTEMAS ALIMENTARES	10
Indústria 4.0	11
Variation in the amino acids profile and L-theanine of different parts of Azorean <i>Camellia sinensis</i> shoots.....	12
Colagens emergentes: influência na composição fenólica e características organolépticas dos vinhos	16
Novos potenciais para os produtos secundários da produção	20
Adding Value to Agrifood By-Products as Therapeutic Alternatives: A Case Study of Herbal Medicine Research	21
Obtenção de um concentrado de cafeína a partir da pele de prata do café	26
Sementes de Melão: Potencial como Ingrediente Alimentar	30
Teores de Vitamina C do Figo-da-Índia e da Anona: Comparação entre polpa e subprodutos ...	34
Integração de processos de membrana na valorização de soro de cabra	38
Characterization of concentrated second cheese whey	42
Rendimento da extração e atividade antioxidante de extratos de casca de pinheiro (<i>Pinus pinaster</i> Aiton subsp. <i>Atlantica</i>): efeito do solvente e método de extração	46
Sucessos e insucessos na cooperação entre indústria e ciência	50
Contributo para a implementação da Norma BRC Food numa indústria de carnes.....	51
Otimização da gestão de silos de um processo produtivo de massas alimentícias bicolores, tricolores ou quadricolores secas.....	55
CIÊNCIA E INOVAÇÃO	59
Avanços no processamento de alimentos e impacto na saúde e sociedade	60
Alimentos processados: avaliação da conformidade da rotulagem	61
Newfood Project - food technologies valorization in traditional foods sector.....	65
<i>Calluna vulgaris</i> (L.) Hull: composição nutricional e caracterização do perfil fenólico	69
Portuguese olive oils and table olive with quality certification schemes: achievements and needs	73
Serpa PDO cheese: towards identification of chemical markers involved in organoleptic attributes	77
Características físico-químicas da farinha alimentar da couve “Penca da Póvoa” (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>Costata</i>), obtida a partir de diferentes métodos de secagem.....	81
Efeito da secagem por convecção e liofilização nas propriedades físico-químicas de vegetais desidratados: pepino (<i>Cucumis sativus</i>) e curgete (<i>Cucurbita pepo</i> L.).....	85

Assessment of functional properties and determination of pharmaceuticals in subcritical water extracts from two seaweeds	90
AVALIAÇÃO DO pH NA TRANSFORMAÇÃO DO MÚSCULO EM CARNE BOVINA	94
Optimization and development of analytical methods for the determination of new brominated flame retardants and polybrominated diphenyl ethers in chili peppers	98
Estudo dos efeitos da digestão gastrointestinal <i>in vitro</i> e fermentação colónica em extratos fenólicos e bioatividades de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	102
Determination of benzoic acid and sorbic acid in foodstuffs by high performance liquid chromatography with UV detection.....	107
Evaluation of natural extracts as potential enzymatic browning inhibitors	112
Impact of addition of pomegranate peel extract and high-pressure on carrot juice preservation: quality, safety and sensorial aspects.....	116
Use Of Digital Image Analysis For Monitoring The Ripening Of Pdo Serpa Cheese	121
Effect of shoot maturity and different withering duration on the catechins and xanthines contents of tea from Azorean <i>Camellia sinensis</i>	123
Variability of catechins and xanthines contents on tea from different parts of Azorean <i>Camellia sinensis</i>	127
Maximização da extração de antocianinas de <i>Hibiscus sabdariffa</i> por diferentes métodos para obtenção de corantes alimentares	131
Quantification of L-theanine in Azorean green and black tea: psychoactive amino acid with beneficial impact on cognitive functions	135
Avaliação do perfil fenólico de duas plantas comumente utilizadas na medicina tradicional, após aplicação de irradiação ionizante	139
Gastrointestinal Absorption of Anthocyanins: A Molecular Approach.....	143
Physical and Chemical Characterization of Anthocyanins from Purple-Fleshed Sweet Potato..	146
<i>Gomphrena globosa</i> L.: otimização do processo de extração de corantes, avaliação da sua atividade antimicrobiana e incorporação numa matriz alimentar	150
A multi-spectroscopic and thermodynamic study on the interaction of food polyphenols with gluten reactive peptides: from chemistry to health implications.....	154
Interação de uma mistura de procianidinas com saliva humana de diferentes indivíduos	157
Incorporation of <i>Spirulina</i> and <i>Himanthalia elongata</i> algae in integral pasta: a real protein meal	161
Detection of γ -glutamyl-S-ethenyl cysteine in <i>Vicia narbonensis</i> L.: improvement of the extraction process	166
Avanços dos sistemas alimentares integrados com o ambiente	170
LIGNIN nanoparticles loaded with bluish pyranoanthocyanin pigments. Increased stability in aqueous systems.	171
Phenolic profile of different <i>Cichorium spinosum</i> L. ecotypes.....	175
Composição nutricional e atividade antioxidante de macroalgas vermelhas provenientes de aquacultura sustentável	179
Effect of ion exchange resins on white and red wine pH: Impact on wine sensory characteristics	183
Tartrate stabilisation of rosé wine using ion exchange resins: Impact on wine sensory characteristics.....	187
Aplicação em waffles de um corante natural obtido de frutos de <i>Arbutus unedo</i> L.	191

<i>Coix lachryma-jobi</i> : A new promising cereal as functional food with important nutritional value	195
Increased accumulation of anthocyanins in vine stems upon chitosan application: alternate use of winery waste produce to extract natural colour additives for the food industry	199
Variedade portuguesa de maçã “Bravo de Esmolfe” como fonte de compostos bioativos com propriedades antioxidantes e antibacterianas	203
Desenvolvimento de novos produtos alimentares com corantes naturais obtidos a partir de flores comestíveis	208
Chemical features of green fig pulp and peel: phenolic, organic acids, and tocopherols profile	212
Avanços em metodologias investigacionais	216
Effect of foliar mitigation treatments on Touriga Nacional grape berry quality	217
Extração de taninos para a produção de coagulantes naturais a partir de acácia (<i>Acacia dealbata</i>) e pinheiro (<i>Pinus pinaster</i>).....	221
FORMAÇÃO PARA A ÁREA ALIMENTAR	225
Cooperação academia/indústria no desenvolvimento de modelos educacionais	226
Descodificar os “E”: plataforma online de acesso aberto de aditivos alimentares	227
Apoios	231

Estudo dos efeitos da digestão gastrointestinal *in vitro* e fermentação colónica em extratos fenólicos e bioatividades de *Rosmarinus officinalis* L.

Rúbia C.G. Corrêa^{a,b}, Geferson A. Gonçalves^b, Lillian Barros^a, Maria Inês Dias^a, Ricardo C. Calhelha^a, Vanesa G. Correa^{b,c}, Adelar Bracht^b, Rosane M. Peralta^b, Isabel C.F.R. Ferreira^{a,*}

^aCentro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal

^bDepartamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil

* iferreira@ipb.pt

Palavras chave: atividade antioxidante; potencial antiproliferativo; efeito bactericida; estabilidade dos fitoquímicos; ácido rosmarínico

RESUMO

Foram estudadas potenciais perdas de fitoquímicos que ocorrem ao longo de passos sequenciais de digestão gastrointestinal *in vitro* e fermentação colónica de um extrato aquoso de alecrim. Os extratos iniciais (CI), digeridos (DE) e fermentados (FE) foram caracterizados em termos das suas propriedades bioativas e composição fenólica. O ácido rosmarínico, o principal componente do CI, sofreu a degradação mais significativa, verificando-se uma diminuição de 60%.

1. INTRODUCTION

Rosmarinus officinalis L. (Lamiaceae) é uma planta originária do Mediterrâneo, popularmente conhecida como alecrim [1]. Além do seu uso culinário, é também utilizada para fins terapêuticos desde a antiguidade [2]. A União Europeia considerou o extrato de alecrim como conservante alimentar seguro e eficiente, sendo o ácido rosmarínico (AR) o seu principal constituinte [3]. Os extratos ricos em AR não só possuem efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e hepatoprotetores [4], mas também previnem a oxidação em alimentos sem comprometer a aceitação sensorial dos mesmos, o que endossa o seu uso como ingrediente alimentar. No entanto, as informações sobre a estabilidade dos compostos bioativos no extrato de alecrim são escassas. O objetivo do presente trabalho foi estudar os efeitos dos compostos fenólicos ao longo dos processos mimetizados de digestão gastrointestinal *in vitro* e fermentação colónica de um extrato aquoso de alecrim, com especial interesse no AR. Os extratos de alecrim inicial (CI), digerido (DE) e fermentado (FE) foram caracterizados/comparados relativamente ao seu perfil fenólico e bioatividades (antioxidante, antibacteriana e antiproliferativa).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostras e preparação dos extratos

As folhas secas de alecrim foram adquiridas num estabelecimento comercial (Maringá-PR, Brasil). Para obtenção do extrato inicial, 20 g de folhas foram colocadas em 100 mL de água sob agitação durante 1h. Para a preparação do extrato digerido foram usados 13 g de CI e a

simulação gastrointestinal envolveu passos sequenciais de digestão gástrica (solução de saliva artificial, α -amilase, fluido gástrico artificial, pH 1,2) e digestão intestinal (NaCl, KCl e líquido intestinal artificial, pH 6,0). Finalmente o extrato fermentado (FE) foi preparado a partir do DE num meio de tampão carbonato-fosfato com um inóculo obtido a partir de fezes de ratos Wistar machos (4762290915/2015-CEUA-UEM). Foi preparado um controlo para verificar a ausência de fenólicos na dieta dos ratos. Todos os extratos foram filtrados e liofilizado para análises posteriores [5-6].

2.2 Determinação e quantificação de compostos fenólicos

Os extratos liofilizados foram redissolvidos numa mistura de metanol:água (20:80, v/v) e caracterizados quanto ao seu perfil fenólico por HPLC-DAD-ESI/MSn. A identificação foi realizada comparando os tempos de retenção com os espectro UV-vis e de massa e com dados disponíveis na literatura. A quantificação foi feita a partir das áreas dos picos registados a 280 e 370 nm por comparação com as curvas de calibração obtidas de padrões comerciais [7].

2.1 Avaliação das bioatividades

Foram aplicados cinco métodos para avaliar a atividade antioxidante dos extratos: FRAP; ORAC [8]; DPPH; ABTS e TBARS [9]. A atividade antiproliferativa foi avaliada pelo ensaio de sulforrodamina B em 4 linhas celulares: MCF-7 (carcinoma de mama), NCI-H460 (carcinoma de pulmão), HeLa (carcinoma cervical) e HepG2 (carcinoma hepatocelular) [10]. A citotoxicidade foi também avaliada em células de fígado de porco (células não tumorais, PLP2) [11]. A avaliação da atividade antibacteriana foi testada nos extratos dissolvidos em água usando o método de microdiluição e o ensaio colorimétrico de cloreto de *p*-iodonitrotetrazólio (INT) para determinar a concentração mínima inibitória (CMI) [12].

Foi efetuada uma análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida do teste HSD de Tukey ($p = 0,05$) para os resultados da caracterização química. Os resultados da atividade antioxidante foram analisados por ANOVA, seguida de teste *post hoc* de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$), usando o programa IBM SPSS Statistics, versão 23.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os três extratos apresentaram um perfil fenólico muito semelhante. Foram identificados dezasseis compostos, dez ácidos fenólicos (derivados do ácido cafeico e rosmarínico) e seis flavonoides (derivados da luteolina e da quercetina). Como era expectável, o ácido rosmarínico foi o principal componente encontrado em todas as amostras (6,9 mg/g em CI), seguido de ácido yunnaneico F, luteolina-*O*-glucurónido e ácido sagerínico.

A perda de compostos fenólicos mais pronunciada ocorreu ao longo da etapa de digestão gastrointestinal *in vitro*, após a qual foi observada uma redução de 26% no conteúdo de compostos fenólicos totais (FT). O AR presente em CI diminuiu quase 61% após a digestão, tendo-se observado uma menor redução para os outros compostos fenólicos. Após fermentação colónica, o CI apresentou uma redução adicional do conteúdo de FT de quase 21%, sendo que

nesta fase o AR sofreu uma nova degradação de 13,7%. O ácido sagerínico e a luteolina foram os compostos com as alterações mais pronunciadas, sofrendo uma depleção por volta de 42% e 55%, respectivamente. A principal causa da degradação de AR poderia ser explicada pela ação do extrato pancreático rico em esterases. Embora isso pareça uma explicação plausível, essa interpretação não pode ser considerada como definitiva, na medida em que não foi observado um aumento de ácido cafeico e derivados após esse processo.

De uma forma geral, a digestão gastrointestinal *in vitro* diminuiu a atividade antioxidante nos métodos DPPH, ABTS, FRAP, ORAC e TBARS (**Tabela 1**), embora o CI tenha apresentado valores de capacidade antioxidante promissores em todos os ensaios.

Tabela 1. Atividade antioxidante dos extratos avaliada por diferentes métodos (média \pm DP).

	<i>Extrato inicial</i>	<i>Extrato digerido</i>	<i>Extrato fermentado</i>
DPPH EC ₅₀ (μ g/mL)	14,9 \pm 0,5 ^a	20,1 \pm 0,5 ^b	20,0 \pm 0,2 ^b
ABTS EC ₅₀ (μ g/mL)	6,5 \pm 0,3 ^a	7,9 \pm 0,3 ^b	8,0 \pm 0,4 ^b
FRAP mM TE/mg extrato	2,5 \pm 0,3 ^a	1,7 \pm 0,1 ^b	1,8 \pm 0,2 ^b
ORAC mM TE/mg extrato	9,1 \pm 0,5 ^a	8,2 \pm 0,6 ^a	5,54 \pm 0,04 ^b
TBARS EC ₅₀ (μ g/mL)	260 \pm 7 ^a	369 \pm 27 ^b	554 \pm 16 ^c

Em cada linha, letras diferentes significam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0.05$).

O CI e DE não apresentaram qualquer atividade antiproliferativa, no entanto, FE exibiu uma atividade antiproliferativa na linha celular HeLa (GI₅₀ = 116 μ g/mL). Considerando que os compostos fenólicos sofreram reduções significativas ao longo dos passos de digestão e fermentação, estes podem não ser os responsáveis por esta bioatividade. Deverá ser também considerada a hipótese de que a microbiota fecal que transformou o extrato durante o processo de fermentação *in vitro* poderia desempenhar um papel na bioatividade.

Tabela 2. Atividade antimicrobiana (valores de CMI, mg/mL) dos extratos de alecrim.

	<i>Extrato inicial</i>	<i>Extrato digerido</i>	<i>Extrato fermentado</i>
Bactérias Gram-negativo			
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2,5	5	20
<i>Escherichia coli</i> ESBL	5	5	5
<i>Escherichia coli</i>	5	5	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	20	20
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL	10	10	10
<i>Morganella morganii</i>	2,5	2,5	2,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	20	>20
Bactérias Gram-positivo			
<i>Enterococcus faecalis</i>	5	10	10
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,25	0,625	5

MRSA	0,625	1,25	1,25
MSSA	0,625	1,25	1,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,25	1,25	2,5

Nenhum dos extratos apresentou toxicidade na cultura primária PLP2, sendo que os valores de GI₅₀ obtidos foram todos superiores à máxima concentração testada (400 µg/mL). Esta ausência de citotoxicidade aqui verificada é muito importante, considerando a potencial aplicação de CI em sistemas alimentares.

Relativamente à atividade antibacteriana (**Tabela 2**), CI e DE revelaram-se moderadamente eficazes contra o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) e sensível à meticilina (MSSA) e também contra *Listeria monocytogenes*. FE revelou-se também moderadamente eficaz contra o crescimento de MRSA e MSSA. É importante mencionar que as estirpes bacterianas são multirresistentes e que por isso apresentam uma resistência ao perfil antibiótico muito superior às estirpes ATCC [12].

4. CONCLUSÃO

Atendendo à bioatividade relevante exibida pelo extrato aquoso de *R. officinalis* rico em ácido rosmarínico, os resultados aqui descritos indicam a sua potencial utilização como um aditivo alimentar, seja como conservante e/ou ingrediente funcional. A fim de evitar perdas fitoquímicas que comprometam a sua eficácia e funcionalidade, a microencapsulação deste extrato deveria ser estudada em trabalhos futuros de forma a garantir a biodisponibilidade dos compostos bioativos.

Agradecimentos

À FCT e FEDER sob o programa PT2020 pelo apoio financeiro ao CIMO (UID/AGR/00690/2013) e contratos de L. Barros e R. Calhelha. FEDER-Interreg Espanha-Portugal (0377_Iberphenol_6_E). Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnologia (CNPq) pelo contrato de R.C.G. Corrêa (167378/2017-1), e apoios a R.M. Peralta (307944/2015-8) e A. Bracht (304090/2016-6).



Referências

- [1] JM Andrade, C Faustino, C Garcia, et al., Future science OA, 2018, 4, FSO283.
- [2] GA Gonçalves, AB de Sá-Nakanishi, JF Comar, et al., Food & Function, 2018, 9, 1465–1474.
- [3] European Food Safety Authority (EFSA), EFSA Journal, 2008, 721, 1-29.
- [4] M Villalva, L Jaime, E Aguado, et al., Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66, 1167-1174.
- [5] VG Correa, GA Gonçalves, AB de Sá-Nakanishi, et al., Food Chemistry, 2017, 237, 453-460.
- [6] S Karppinen, K Liukkonen, AM Aura, et al., Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000, 80, 1469-1476.
- [7] Bessada, S. M., Barreira, J. C. M., Barros, et al., (2016), Industrial Crops and Products, 2016, 89, 45–51.

- [8] EA Koehnlein, EM Koehnlein, RCG Corrêa, et al. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2016, 67, 614-623.
- [9] RCG Corrêa, AHP de Souza, RC Calhelha, et al. *Food & Function*, 2015, 6, 2155-2164.
- [10] L Barros, E Pereira, RC Calhelha, et al., *Journal of Functional Foods*, 2013, 5, 1732-1740.
- [11] RM Abreu, ICFR Ferreira, RC Calhelha, et al., *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 46, 5800-5806.
- [12] MI Dias, L Barros, P Morales, et al., *Food & Function*, 2016, 7, 4523-4532.