

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Nutrição
Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos



Dissertação

**Propriedades funcionais, nutricionais e antimicrobianas de chia em
grão, farinha e mucilagem e aplicação em biscoitos**

Vanessa Klug de Oliveira

Pelotas, 2016

Vanessa Klug de Oliveira

**Propriedades funcionais, nutricionais e antimicrobianas de chia em
grão, farinha e mucilagem e aplicação em biscoitos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientador: Prof^a . Dr^a . Márcia ArochaGularte

Co-orientador: Prof . Dr . Eliézer Avila Gandra

Pelotas, 2016

Vanessa Klug de Oliveira

Propriedades funcionais, nutricionais e antimicrobianas de chia em grão, farinha e mucilagem e aplicação em biscoitos

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Nutrição e Alimentos ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 16 de outubro de 2016.

Banca examinadora:

Simone Pieniz, Prof^a. Dr^a. em _____ pela Universidade Federal de Pelotas - UFPel

Nádia Carbonera, Prof^a. Dr^a. em _____ pela Universidade Federal de Pelotas - UFPel

Dedico este trabalho aos meus pais, meus avós, meu namorado, e a todos que de alguma maneira contribuíram para realização deste trabalho.

Agradecimentos

Gostaria primeiramente de agradecer a Deus, pelas oportunidades que a vida me proporcionou, principalmente de seguir a carreira de Tecnóloga em Alimentos e ainda por estar no mestrado, tendo a chance de intensificar meus conhecimentos nesta área.

Agradeço aos meus pais, Reginaldo e Cleci, por contribuírem na minha formação, por acreditarem e aceitarem as minhas escolhas, sempre me incentivando e apoiando.

Aos meus avós, Osvaldo e Eroni, por todo carinho, preocupação e pelo apoio durante a minha trajetória acadêmica.

Agradeço ao meu namorado Erick, pela paciência, apoio, compreensão, amor, carinho e por tornar meus dias melhores.

Aos meus orientadores Márcia Gularte e Eliezer Gandra, pelos ensinamentos, paciência, dedicação. Vocês foram mais que orientadores, são pessoas que levarei sempre como exemplo de ótimos profissionais.

Agradeço a doutoranda Bianca Ávila, pela disponibilidade e auxílio em análises realizadas no Laboratório de Grãos- FAEM.

Agradeço as laboratoristas Joana e Rosimeri, pelo auxílio durante as análises realizadas nos laboratórios de Bromatologia e Microbiologia.

A Jennifer, pela disposição e ajuda dada nas análises de antioxidantes e compostos fenólicos.

A professora Simone Pieniz, pela contribuição nas análises de antioxidantes e compostos fenólicos. Obrigada por toda dedicação e paciência.

Agradeço as colegas Carla Ucker e Cristina Gettens, por tornarem os dias mais tranquilos e alegres nesses dois anos de mestrado, e pela parceria que formamos durante as análises microbiológicas.

Enfim, agradeço a todos que de alguma maneira contribuíram para realização desse trabalho.

Muito obrigada a todos!

Resumo Geral

OLIVEIRA, Vanessa Klug. **Propriedades funcionais, nutricionais e antimicrobianas de chia em grão, farinha e mucilagem e aplicação em biscoitos**. 2016. 84f Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas.

A chia é uma planta mexicana, originária de países subtropicais e tropicais, é da família das labiadas, herbácea, anual, possui talos quadrangulares, acanelados, com vilosidades; folhas opostas, pecioladas, serrilhadas e flores reunidas em espigas auxiliares ou terminais, cada fruto leva quatro sementes bem pequenas de forma oval, lisas, brilhantes, de cor cinzenta com manchas avermelhadas. Essa semente tem sido muito consumida, pois possui uma boa qualidade nutricional em sua composição, rica em fibras, minerais, proteínas e ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, os quais quando presentes na dieta de indivíduos promove uma redução na incidência de doenças cardiovasculares. Por ser um grão sem glúten, este pseudocereal se torna uma boa alternativa na substituição do glúten. O glúten é formado pelas proteínas gliadina e glutenina, a doença celíaca é uma intolerância à ingestão de glúten, contido em cereais como cevada, centeio, trigo e malte, em indivíduos geneticamente predispostos, caracterizada por um processo inflamatório que envolve a mucosa do intestino delgado, levando a atrofia das vilosidades intestinais, má absorção e uma variedade de manifestações clínicas por portadores de doença celíaca. O objetivo desse estudo foi avaliar a composição química dos grãos de chia, elaborar biscoitos com grãos de chia e farinha de arroz em diferentes formulações, afim de atender os consumidores com intolerância ao glúten, uma vez que o produto elaborado é isento do mesmo; e realizar análises de composição química nos mesmos. Foram realizadas análises de proteínas, fibras, umidade, cinzas, gorduras, proteínas solúvel e insolúvel, antioxidantes e fenóis totais nos grãos e biscoitos elaborados. Foi avaliado o índice de aceitação e intenção de compra dos biscoitos através de testes sensoriais. Foi avaliada atividade antimicrobiana de um extrato elaborado com chia, frente as bactérias indicadoras, *Salmonella*, *Listeria*, *E. coli* e *S. aureus*. Os grãos de chia apresentaram valores de composição química semelhantes aos já estudados por outros autores, e pode ser considerado uma boa fonte nutricional. Os biscoitos obtiveram valores variados na sua composição química, os mesmos tiveram boa aceitabilidade e intenção de compra. O extrato obtido dos grãos de chia, inativaram as bactérias *Listeria* e *Salmonella* por um tempo determinado.

Palavras Chaves: Chia, Glúten, Composição química, Bactérias indicadoras.

Abstract

OLIVEIRA, Vanessa Klug. **Functional, nutritional and antimicrobial properties of chia grain, flour and mucilage and application biscuits.** 84f. 2016. Dissertation (Masters) - Graduate Program in Nutrition and Food. Federal University of Pelotas.

The chia is a Mexican plant, native to subtropical and tropical countries, is the family of Labiatae, herbaceous, annual, has quadrangular stems, acanelados with villi; opposite leaves, petiolate, knurled and flowers gathered in spikes or auxiliary terminals, each fruit takes four very small seeds oval, smooth, shiny, gray in color with reddish spots. This seed has been very consumed because it has a good nutritional quality in its composition, rich in fiber, minerals, protein and omega-3 fatty acids and omega-6, which when present in the diet of individuals promotes a reduction in the incidence of diseases cardiovascular. Being a grain gluten, this pseudocereal becomes a good alternative to replace the gluten. Gluten is formed by gliadin protein and glutenin, celiac disease is an intolerance to gluten ingestion, contained in cereals such as barley, rye, wheat and malt, in genetically predisposed individuals, characterized by an inflammatory process involving the mucosa of the small intestine, leading to atrophy of the intestinal villi, malabsorption and a range of clinical manifestations in patients with celiac disease. The aim of this study was to evaluate the chemical composition of chia grains, prepare cookies with chia grains and rice flour in different formulations in order to meet consumers intolerant to gluten, as the manufactured product is free of it; and perform chemical composition analysis on them. protein analyzes were performed, fiber, moisture, ash, fat, soluble and insoluble proteins, antioxidants and phenolic compounds in grains and prepared and biscuits. It evaluated the acceptance rate and purchase intent of cookies through sensory tests. We evaluated the antimicrobial activity of a prepared statement with chia, front indicator bacteria, *Salmonella*, *Listeria*, *E. coli* and *S. aureus*. The chia grains showed chemical composition values similar to those already studied by other authors, and can be considered a good source of nutrition. The biscuits obtained different values in their chemical composition, they had good acceptability and purchase intent. The extract obtained from chia grains, inactivate the bacteria *Listeria* and *Salmonella* for a time.

Key Words: Chia, gluten, Chemical composition, Indicator bacteria.

Sumário

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 Chia (<i>Salvia hispânica L.</i>).....	14
2.2 Compostos bioativos da chia.....	15
2.2.1 Antioxidantes.....	15
2.2.2 Compostos fenólicos.....	18
2.2.3 Compostos antimicrobianos em extratos.....	19
2.3 Utilização de extratos vegetais contra bactérias envolvidas em surtos alimentares.....	20
2.3.1 <i>Listeria monocytogenes</i>	20
2.3.2 <i>Salmonella</i>	21
2.3.3 <i>Escherichia coli</i>	22
2.3.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	23
2.4 Utilização de grãos de chia em produtos alimentícios.....	24
2.5 Farinha de arroz.....	25
2.6 Análise sensorial.....	26
3 PROJETO DE MESTRADO.....	28
4 RELATÓRIO DE CAMPO.....	47
5 ARTIGO.....	48
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
REFERÊNCIAS.....	65
APÊNDICES.....	69

Lista de Tabelas

Tabela 1	Formulações dos biscoitos tipo aperitivo de chia.....	51
Tabela 2	Composição química e compostos antioxidantes de chia...	55
Tabela 3	Composição química dos biscoitos de chia em grão, farinha e gel em diferentes concentrações.....	57
Tabela 4	Atividade antimicrobiana de extrato de chia frente às bactérias <i>Salmonella</i> , <i>Listeria</i> , <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i>	62

Lista de Figuras

Figura 1	Perfil do teste PDO de biscoitos elaborados com grão e farinha de chia para os atributos dureza, cor, sabor e crocância.....	60
Figura 2	Frequência de teste de aceitação e intenção de compra dos biscoitos com grão e farinha de chia.....	61

1 INTRODUÇÃO GERAL

A chia é uma planta mexicana, originária de países subtropicais e tropicais, uma vez que são necessárias condições climáticas específicas para uma produção favorável. Devido a certos requisitos, como o tipo de solo, temperatura e umidade, a produção desta semente não é feita na Europa, apesar de ser possível fazê-lo em estufas com condições ambientais controladas. Ela é da família das labiadas, herbácea, anual, possui talos quadrangulares, acanelados, com vilosidades; folhas opostas, pecioladas, serrilhadas e flores reunidas em espigas auxiliares ou terminais. Cada fruto leva quatro sementes pequenas de forma oval, lisas, brilhantes, de cor cinzenta com manchas avermelhadas (TOSCO, 2004).

A chia quando mergulhadas em água exsudam um gel transparente mucilaginoso que permanece firmemente ligado à semente. No epicarpo da semente encontram-se células que produzem mucilagem quando umedecidas. Ao entrar em contato com a água, o epicarpo incha, a cutícula se rompe ao esgotar a sua elasticidade e o conteúdo das células verte como mucilagem circundando toda a superfície da semente. Esse gel é composto essencialmente de xilose, glicose e ácido glicurônico, formando um polissacarídeo ramificado de alto peso molecular, a mucilagem de chia é um polissacarídeo útil como fibra solúvel e dietética, o consumo dessa fibra pode ser uma importante alternativa para melhorar a saúde humana. Além disso, as frações fibrosas de chia evidenciam uma grande capacidade de reter e absorver água, podendo ser utilizada como um agente emulsificante e estabilizante de emulsões (COELHO et al., 2014).

Quando as sementes são ingeridas também forma-se um gel no estômago, e este age como uma barreira física entre os hidratos de carbono e as enzimas digestivas, diminuindo a transformação de hidratos de carbono em açúcares, contribuindo para a sensação de saciedade (MUNOZ et al., 2012). Esse aumento de volume das sementes, quando em contato com a água também contribui para a mesma sensação. É este um dos principais atributos das sementes de chia que as tornam tão populares quando se trata de dietas para emagrecimento (VAZQUEZ-OVANDO et al., 2009).

Nos últimos anos essa semente tem sido muito consumida, pois possui uma boa qualidade nutricional em sua composição, rica em fibras, minerais, proteínas e ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, os quais quando presentes na dieta de indivíduos promove uma redução na incidência de doenças cardiovasculares (FERREIRA, 2013). Devido ao grande percentual protéico, a chia apresenta propriedades funcionais para preparações de alimentos (FENNEMA, 1993).

Os compostos fenólicos tem sido muito estudado nos últimos tempos pelo seu alto potencial antioxidante. Estes compostos têm sido considerados os mais importantes, numerosos e onipresentes grupos de compostos do reino vegetal e são sintetizados durante o desenvolvimento normal da planta, bem como em resposta a diferentes situações, como estresse e radiação UV, entre outros (COELHO et al., 2015). O consumo de substâncias antioxidantes na dieta diária, pode produzir uma ação protetora efetiva contra os processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo. Foi descoberto que uma série de doenças entre as quais câncer, aterosclerose, diabetes, artrite, malária, síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV) e doenças do coração, podem estar ligadas aos danos causados por formas de oxigênio extremamente reativas denominadas de “substâncias reativas ao oxigênio” ou simplesmente ROS. Estas substâncias também estão ligadas com processos responsáveis pelo envelhecimento do corpo (DEGÁSPARI et al., 2004).

A semente de chia contém uma quantidade de compostos com potente atividade antioxidante devido a substâncias como miricetina, quercetina, kaempfenol e ácido cafeico. Esses compostos são antioxidantes primários e sinérgicos que contribuem para a sua potente atividade antioxidante. A importância destes é a atividade contra a oxidação de lipídios que afeta não só a qualidade dos alimentos como também a saúde do consumidor. O interesse no estudo dos compostos fenólicos vem aumentando muito, pois possui grande propriedade antioxidante, esses antioxidantes possui uma função em sequestrar radicais livres, os quais são prejudiciais à saúde humana (COELHO et al., 2015).

A busca por alternativas que possam substituir o uso de químicos na conservação de alimentos vem crescendo mundialmente, uma das alternativas muito estudadas nos últimos anos são os agente antimicrobianos naturais,

inibindo ou destruindo o crescimento microbiano. Podendo ser classificados como bactericidas, quando causam a morte da bactéria, ou bacteriostáticos, quando promovem a inibição do crescimento microbiano (WALSH, 2003). As propriedades antimicrobianas de substâncias presentes em extratos e óleos essenciais produzidos pelas plantas como uma consequência do metabolismo secundário, são reconhecidas empiricamente há séculos e foram comprovadas cientificamente á poucos anos (JANSEN, 1987).

As doenças do tipo alergênicas vem recebendo ênfase entre as doenças crônicas, uma delas é a doença celíaca, uma intolerância à ingestão de glúten, contido em cereais como cevada, centeio, trigo e malte, em indivíduos geneticamente predispostos, caracterizada por um processo inflamatório que envolve a mucosa do intestino delgado, levando a atrofia das vilosidades intestinais, má absorção e uma variedade de manifestações clínicas. As proteínas do glúten, gliadina e glutenina, são consideravelmente resistentes às enzimas digestivas, resultando em derivados peptídeos que podem levar à resposta imunogênica em pacientes com doenças celíaca (ALAEDINI, 2005). O indivíduo imunocomprometido pela doença celíaca pode ter vários sintomas como: depressão, diarreia crônica, anemia, cansaço e mal-estar, neuropatia periférica, redução da densidade óssea, dermatite herpetiforme, alterações endocrinológicas, problemas gineco-obstétricos, entre eles o mais descrito, infertilidade. Um dos principais tratamentos é a retirada do glúten da dieta, podendo substituí-lo por outros cereais isentos de glúten como por exemplo, arroz, milho, amaranto, quinoa, chia, entre outros (KOTZE, 2003).

Tendo em vista, os benefícios deste pseudocereal, o objetivo deste trabalho foi avaliar a composição química dos grãos e de biscoitos elaborados a partir do grão em diferentes formulações, através de análises de proteínas, gorduras, fibras, cinzas, umidade, carboidratos, valor energético, antioxidantes e compostos fenólicos e também avaliar o potencial antimicrobiano de um extrato elaborado a partir dos grãos de chia.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Chia (*Salvia hispanica* L)

Chia (*Salvia hispanica* L) é uma planta herbácea anual pertencente à família Lamiaceae, seu nome derivado na hualtchian (significa, "oleoso") e sua cultura foi expandida até a América do Sul, sendo consumida há séculos pelas civilizações Astecas e Maias. Nativa do sul do México e do norte Guatemala, é uma pequena semente oval e geralmente de cor preta, podendo ter pequenas alterações de acordo com a terra de plantio e tempo de colheita tendendo para as cores marrom escura, branca ou cinza. Possui talos quadrangulares, acanelados, com vilosidades; folhas opostas, pecioladas, serrilhadas e flores reunidas em espigas auxiliares ou terminais. Cada fruto contém quatro sementes bem pequenas de forma oval, lisas, brilhantes, de cor cinzenta com manchas avermelhadas (TOSCO, 2004).

Nos últimos anos essa semente tem sido muito consumida, pois possui uma boa qualidade nutricional em sua composição, rica em fibras, minerais, proteínas e ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, sendo que, a presença desses ácidos graxos na dieta de indivíduos pode promover uma redução na incidência de doenças cardiovasculares (FERREIRA, 2013).

As sementes de chia quando mergulhadas em água exsudam um gel transparente mucilaginoso que permanece firmemente ligado à semente. No epicarpo da semente encontram-se células que produzem mucilagem quando umedecidas. Ao entrar em contato com a água, o epicarpo incha, a cutícula se rompe ao esgotar a sua elasticidade e o conteúdo das células verte como mucilagem circundando toda a superfície da semente. Esse gel é composto essencialmente de xilose, glicose e ácido glicurônico, formando um polissacarídeo ramificado de alto peso molecular, a mucilagem de chia é um polissacarídeo útil como fibra solúvel e dietética, o consumo dessa fibra pode ser uma importante alternativa para melhorar a saúde humana. Além disso, as frações fibrosas de chia evidenciam uma grande capacidade de reter e absorver água, podendo ser utilizadas como agente emulsificante e estabilizante de emulsões (COELHO et al., 2014).

Os compostos fenólicos têm sido muito estudados nos últimos tempos pelo seu alto potencial antioxidante. Estes compostos têm sido considerados os

mais importantes, numerosos e onipresentes grupos decompostos do reino vegetal e são sintetizados durante o desenvolvimento normal da planta, bem como em resposta a diferentes situações, como estresse e radiação UV, entre outros (COELHO et al., 2015).

A chia é a fonte mais rica de ácidos graxos e antioxidantes naturais disponível como matéria prima para seu uso em alimentos funcionais, nutracêuticos e suplementos dietéticos. A inigualável estabilidade dos ácidos ômega-3 da chia é o resultado dos compostos fenólicos que nela contêm (TOSCO, 2004).

A semente de chia contém uma quantidade de compostos com potente atividade antioxidante devido a substâncias como miricetina, quercetina, kaempferol e ácido cafeico. Esses compostos são antioxidantes primários e sinérgicos que contribuem para a sua potente atividade antioxidante. A importância desta atividade contra a oxidação de lipídios que afeta não só a qualidade dos alimentos como também a saúde do consumidor. O interesse no estudo dos compostos fenólicos vem aumentando muito, pois possui grande propriedade antioxidante, esses antioxidantes possui uma função em sequestrar radicais livres, os quais são prejudiciais à saúde humana (COELHO et al., 2014).

Para o mesmo autor suas pesquisas mostraram que a chia pode ser fonte mais eficiente para enriquecer alimentos com ácidos graxos ômega-3. Ao adicionar na forma direta semente ou farinha de chia ao produto final, ou incluindo-a nas dietas animais, não apareceram nenhum dos problemas que têm outras fontes de ômega-3, como a linhaça ou os produtos marinhos que mostram sabor de pescado, perda de peso nos animais, problemas digestivos, diarreia, alergias etc.

2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS DA CHIA

2.2.1 Antioxidantes

Os antioxidantes são compostos que podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou outras moléculas, evitando o início ou propagação das reações em cadeia de oxidação, essa atividade antioxidante dos compostos fenólicos se deve às suas propriedades de óxido-redução, as quais podem desempenhar

um importante papel na absorção e neutralização de radicais livres (DEGÁSPARI et al., 2004).

O consumo de substâncias antioxidantes na dieta diária pode produzir uma ação protetora efetiva contra os processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo. Foi descoberto que uma série de doenças entre as quais câncer, aterosclerose, diabetes, artrite, malária, HIV, doenças do coração, podem estar ligadas aos danos causados por formas de oxigênio extremamente reativas denominadas de “substâncias reativas oxigenadas” ou simplesmente ROS. Estas substâncias também estão ligadas com processos responsáveis pelo envelhecimento do corpo (DEGÁSPARI et al., 2004).

A eficácia da ação antioxidante dos componentes bioativos, depende da estrutura química e da concentração de antioxidantes no alimento, o teor é bastante influenciado por condições ambientais, fatores genéticos, variedade da planta, grau de maturação, entre outros. O processamento dos alimentos pode diminuir o teor, a atividade e a biodisponibilidade dos antioxidantes (NICOLI; ANESE; PARPINEL, 1999).

Os antioxidantes podem ser classificados conforme o seu modo de ação, podendo ser primários e secundários. Os primários interrompem a cadeia da reação através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis e/ou reagindo com os radicais livres, formando o complexo lipídio-antioxidante que pode reagir com outro radical livre (ANGELO; JORGE, 2007).

Os secundários retardam a etapa de iniciação da autooxidação por diferentes mecanismos que incluem sequestro de oxigênio, complexação de metais, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não-radical, absorção da radiação ultravioleta ou desativação de oxigênio singlete (ANGELO; JORGE, 2007). Os compostos fenólicos estão no conjunto dos interruptores de radicais livres, sendo mais eficientes na prevenção da autooxidação. Estes antioxidantes fenólicos interagem, com o radical peroxil, como este é mais prevalente na etapa da autooxidação e por possuir menor energia do que outros radicais, isto favorece a abstração do seu hidrogênio (MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2004).

A captação de radicais é o principal mecanismo de ação dos antioxidantes nos alimentos. Vários métodos têm se desenvolvido, no qual se

mede a capacidade antioxidante através da captação de radicais livres sintéticos em solventes orgânicos polares, por exemplo, metanol, na temperatura ambiente. Os métodos mais utilizados em alimentos são os que utilizam os radicais DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazila) e o ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-acidosulfônico)) (BONETT, 2007).

Em um estudo utilizando *Sálvia hispânica* e *Carthamus tinctorius*, fontes de óleo vegetal de ômega-3 e ômega-6, e uma dieta comercial como controle, foi avaliado o efeito de ácidos graxos poli-insaturados sobre o crescimento e formação de metástase de um adenocarcinoma da glândula mamária murino, mostrou que a utilização de chia na dieta diminuiu o peso do tumor e o número de metástases, apoptose e infiltração de linfócitos T foram maiores e mitose diminuiu com respeito às outras dietas (ESPADA et al., 2007).

Outro estudo *crossover* avaliou-se a adição de chia, rica em fibras, ácido alfa-linolênico e minerais, pode melhorar alguns fatores de risco em doenças cardiovasculares em 20 indivíduos com diabetes tipo 2. Os participantes foram escolhidos aleatoriamente para receber ou 37 ± 4 g/dia de farelo de trigo ou chia durante 12 semanas, mantendo suas terapias convencionais do diabetes. Comparado com o tratamento controle, pode-se observar que a chia reduziu a pressão arterial sistólica (PAS) de $6,3 \pm 4$ mm Hg ($P < 0,001$), a proteína C-reativa de alta sensibilidade para $40 \pm 1,6\%$ mg/l ($P = 0,04$) e fator von Willebrand para $21 \pm 0,3\%$ ($P = 0,03$), houve reduções na hemoglobina glicada e fibrinogênio e não houve alterações nos parâmetros de segurança, incluindo fígado, rim, função hemostática e peso corpora (VUKSAN et al. 2007).

As propriedades funcionais e nutricionais de um isolado proteico de semente de chia foram estudadas no estado de Jalisco, no México. O estudo mostrou grandes quantidades de ácido glutâmico (123 g/kg de proteína em bruto), arginina (80,6 g de proteína/kg em bruto) e ácido aspártico (61,3 g/kg de proteína em bruto). Portanto, o seu perfil de aminoácidos essenciais apresentou deficiências com relação à ausência da lisina, proteína essencial para crianças pré-escolares, com isso o estudo não recomenda sua utilização como uma fonte proteica única (OLIVOS et al., 2010).

Um estudo realizado na Austrália avaliou-se a suplementação de sementes de chia atenuam os sinais metabólicos, hepáticos e cardiovasculares em ratos submetidos a uma dieta rica em gordura e hidratos de carbono

durante oito semanas,houvetambém melhora da sensibilidade à insulina e tolerância à glicose, redução da adiposidade visceral, diminuição da esteatose hepática e redução da inflamação cardíaca e hepática. Não houve alterações nos níveis de lipídios plasmáticos e na pressão arterial (POUDYAL et al., 2012).

2.2.2 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são originados no metabolismo secundário das plantas, são essenciais para o seu crescimento e reprodução. Estes compostos englobam desde moléculas simples até moléculas mais compostas, com alto grau de polimerização. Estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas e são incluídos na categoria de interruptores de radicais livres, tendo grande importância na prevenção da autoxidação (SHAHIDI; NACZK, 1995).

Quimicamente, os fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Possuem estrutura variável e com isso, são multifuncionais. Existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (JORGE et al., 2007).

Os ácidos fenólicos consistem em dois grupos, derivados do ácido hidroxibenzóico e derivados do ácido hidroxicinâmico, os ácidos hidroxibenzóicos incluem os ácidos gálico, p-hidroxibenzóico, protocatecuico, vanílico e sirínico, que têm estrutura comum, C₆ –C₁ 26; enquanto os ácidos hidroxicinâmicos, são compostos aromáticos com três carbonos que formam uma cadeia lateral (C₆–C₃), como os ácidos caféico, ferúlico, p-cumárico e sináptico, sendo os mais comuns (BRAVO, 1998).

Reyes-Caudillo et al. (2008) ao avaliarem o conteúdo de compostos fenólicos totais em grãos de chia do estado de Jalisco no México obtiveram um total de 0,921mg/100g. Em outro estudo realizado por Jiménez et al. (2010) ao avaliar o conteúdo de compostos fenólicos em óleo de chia, encontrou 5,92 equivalentes de ácido gálico (GAE).

2.2.3 Compostos antimicrobianos em extratos

O uso indiscriminado e prolongado de antimicrobianos químicos sintéticos tem levado à seleção de micro-organismos patogênicos mutantes resistentes a esses compostos, tornando o uso de antimicrobianos de origem natural uma alternativa eficaz e econômica, sendo que a resistência microbiana é crescente e a perspectiva de uso de drogas antimicrobianas no futuro é incerta (VARGAS et al., 2004). Como aumento dos micro-organismos resistentes às substâncias antimicrobianas já conhecidas, vários extratos de plantas medicinais têm sido testados, com a finalidade de encontrar novos compostos com atividade antimicrobiana reconhecida (SILVEIRA et al., 2009). Extratos vegetais são preparações em pó ou líquidas obtidas da retirada dos principais compostos ativos de vegetais inteiros ou partes destes por diversos tipos de metodologias. Representam manipulações farmacêuticas que tem o objetivo de concentrar as substâncias e reduzir as posologias, aumentar o prazo de validade e conservação de algumas drogas ou voltadas à separação dos ativos efetivamente envolvidos nos efeitos terapêuticos, retirando-se ou minimizando-se a presença de compostos indesejáveis (MARQUES, 2005). Os extratos vegetais tem sido muito estudado nos últimos tempo afim de favorecer os produtos, seja atuando como antimicrobiano, antifúngico, como conservador ou até mesmo por selecionar e melhorar a atuação de compostos que tragam benefícios a saúde do consumidor.

Uma grande variedade de métodos pode ser empregada para medir a atividade *in vitro* de micro-organismos contra os agentes antimicrobianos. Quando se trata de extratos vegetais, se aplica um grande número de metodologias para detecção de atividade antimicrobiana e, as técnicas de difusão são as mais adequadas para se trabalhar com extratos vegetais coloridos e/o extraídos com solventes orgânicos, devido ao fato que a cor não irá interferir na leitura dos resultados (SILVEIRA et al., 2009).

Djipa et al. (2000) estudando a atividade antimicrobiana de extratos de jambolão sobre vários microrganismos, entre eles, *S. aureus*, verificaram que esta propriedade foi devida à alta concentração de taninos (77 a 83%). Outro estudo realizado por Kalemba et al. (2002) foi observado boa atividade

antimicrobiana de óleos essenciais obtidos de *Artemisia asiatica* Nakai, especialmente a fração de monoterpenos, e seus principais constituintes contra bactérias, ação antibacteriana também foi observada nas frações flavonoídicas obtidas do extrato de *A. annua* sobre *S. aureus* resistente a antibióticos.

2.3 UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS CONTRA BACTÉRIAS ENVOLVIDAS EM SURTOS ALIMENTARES

2.3.1 *Listeria monocytogenes*

A *Listeria monocytogenes* é um agente infeccioso que está envolvido em surtos alimentares, causando uma doença denominada listeriose. Até 1961, *L. monocytogenes* era a única espécie conhecida do gênero *Listeria*, atualmente existem seis espécies dessa bactéria: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. grayi* e *L. ivanovii*, sendo que a causadora de surtos alimentares é a *L. monocytogenes*. *Listeria* é bacilo curto (0,4µm a 0,5µm de diâmetro e 0,5µm a 2µm de comprimento), gram-positivo, anaeróbio facultativo, não esporulado e não formador de cápsulas. São móveis a temperatura de 25°C devido à presença de flagelos peritríquios (CRUZ; MARTINEZ; DESTRO, 2008).

A *L. monocytogenes* é um patógeno intracelular facultativo, que pode crescer em macrófagos, fibroblastos cultivados e células epiteliais. Todas as cepas virulentas produzem uma hemolisina, a listeriolisina O, que está geneticamente relacionada com a estreptomicina O e a pneumolisina (MURRAY et al., 2000). Por estar presente na natureza e nas fezes de animais, sua presença em carnes cruas é quase inevitável, podendo estar entre 0 a 68% de chance de contaminação. As carnes suínas e de aves se torna a mais suscetível a contaminação por essa bactéria (MANTILLA et al., 2007).

O primeiro caso de infecção humana por *L. monocytogenes* ocorreu em 1921 e, desde então, a listeriose tornou-se reconhecida como uma das doenças bacterianas que pode ser fatal. Gestantes, recém-nascidos, idosos, imunodeprimidos, são os mais afetados pela listeriose. Nas mulheres grávidas o surto geralmente aparece na forma de sintomas leves de gripe, podendo causar infecções fetais e neonatais graves, com taxas de aborto de mais de 20% (LACIAR et al., 2000).

Em um estudo realizado por Bara et al. (1998), constataram que extratos de alecrim e pimento inibiram por completo o crescimento de *Listeria*, concluindo que este efeito foi provocado pela presença de compostos fenólicos antimicrobianos, tais como, timol e carvacrol. Simonetti et al. (2015), perceberam que o extrato de *P. salutare* apresentava efeito antimicrobiano frente a bactéria *L. monocytogenes*, e isso pode estar relacionada ao fato das bactérias Gram-positivas serem mais sensíveis por apresentarem uma camada única na parede celular, já as bactérias Gram-negativas apresentam uma camada extra de lipopolissacarídeos e proteínas na parede celular que formam uma barreira de permeabilidade a agentes antimicrobianos.

2.3.2 Salmonella

A *Salmonella* é uma das bactérias mais envolvidas em surtos alimentares, estão presentes no intestino de humanos e animais, mas já foram isoladas no fígado, bile e diafragma de suínos; a infecção causada por essa bactéria causa grande desconforto abdominal, febre, vômitos, diarreia, geralmente os sintomas desaparecem em um curto período. Em casos mais graves o paciente deve ser tratado com antibióticos a fim de combater a infecção, os sintomas aparecem entre 12 e 48 horas após a ingestão do alimento contaminado (SILVEIRA, 2013). O gênero salmonela pertence à família Enterobacteriace, na forma gram negativos, anaeróbios facultativos, não produzem esporos, redutores de nitratos a nitritos, catalase positiva e oxidase negativa (CARDOSO, 2006).

A temperatura ótima para o desenvolvimento dessa bactéria é 35 a 37°C, abaixo de 7°C a bactéria não consegue se multiplicar e acima de 55° ela é eliminada. O pH mínimo para multiplicação varia de 4,5 a 5,0; sendo que o ótimo é entre 6,0 e 7,5 e o pH máximo entre 8,0 e 9,6 (BANWART, 1989). Os hábitos alimentares são muito importantes para prevenir a salmonelose, evitar o consumo de alimentos crus, principalmente carne, principalmente a de frango e ovos. A água e o solo também podem estar contaminados, por fezes de animais que habitam o local (CARDOSO, 2006).

A salmonela pode ser classificada como taxonômica: *S. enterica* subsp. *enterica* presente em animais de sangue quente, causa 99% das salmoneloses humanas; *S. enterica* subsp. *salamae*, *arizona* e *ediarizonae* presente em

animais de sangue frio e *S. enterica subsp. houtenae* e *bongori* que está dissolvida no ambiente. Os sorotipos *S. Typhi*, *Paratyphi A* (restritos) e C e *Senda* estão relacionado aos humanos, *S. Gallinarum* em aves, em suínos as *S. Typhisuis*, *Choleraesuis*, Bovinos: *S. Dublin*, Ovinos: *S. Abortusovis* e Equinos: *S. Abortusequi*. Os sorotipos mais importantes são *S. Typhimurium* e *Enteritidis* que geralmente provocam gastroenterites sem complicações e necessidade de tratamento (MICHAEL et al., 2001).

BARA e VANETTI (1998), estudaram o efeito de extrato alcoólicos de alecrim e pimenta, e pode concluir que esses extratos inibiram completamente o crescimento de *Salmonella*. Mazzuco et al. (1996), obtiveram com a utilização de própolis em solução alcóolica, o controle de *Salmonella* em rações para aves com efeitos bactericidas nos sorotipos *Salmonella typhimurium* e *S. enteritidis*, que foram inoculados artificialmente na ração.

2.3.3 *Escherichia coli*

A bactéria *Escherichia coli*, pertence à classe das Gram-negativas, na forma de bacilo, anaeróbia facultativa, não esporulada, possui capacidade de fermentar açúcares. Esta bactéria está presente em animais de sangue quente, principalmente no homem, o contágio por *E. coli* se dá através da ingestão de alimentos ou água que não foram processados e tiveram algum tipo de contaminação fecal durante a sua produção, como por exemplo, leite não-pasteurizado (ALVES, 2012).

A ingestão desse patógeno pode se dar através de alimentos ou da água, podendo causar processos de infecção, meningite e infecções gastro-intestinais. Os principais agentes de infecções intestinais são representados por membros da família Enterobacteriace, dentre esses, têm destaque fundamental as categorias diarreiogênicas de *Escherichia coli* (NATARO; KAPER, 1998). A *E. coli* pode ser classificada em *E. coli* enteropatogênica (EPEC); ii) *E. coli* enteropatogênica atípica (A-EPEC); iii) *E. coli* enterotoxigênica (ETEC); iv) *E. coli* enterohemorrágica (EHEC); v) *E. coli* enteroinvasiva (EIEC); vi) *E. coli* de adesão difusa (DAEC); vii) *E. coli* enteroagregativa (EAEC). A EPEC geralmente causa diarreia em crianças, podendo causar lesões intestinais; nos países em desenvolvimento, e em estudos realizados no Brasil, pode se observar que *E. coli* enteropatogênica (EPEC) permanece como uma causa

preponderante de diarreia infantil, com surtos recentes reportando um índice de 30% de casos com mortes. A *E. coli* enteropatogênica atípica (A-EPEC) é uma categoria da EPEC e é associada à diarreia de importância clínica. A *E. coli* enterotoxigênicas (ETEC), causa diarreia secretora em homens e animais, pois possui toxinas termoestáveis, termolábeis ou ambas (SOUZA, 2006).

O sorotipo EHEC está associado ao consumo de carne moída ou leite, essas cepas produzem toxinas do tipo shiga-like (stx1 e stx2) e suas variantes, causando diarreia com complicações. O sorotipo de importância destacada é o O157:H7, associado à colite hemorrágica, diarreia com sangue e síndrome urêmica hemolítica (HUS) (SOUZA, 2006). A *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) causa várias doenças no homem, sendo bioquimicamente, geneticamente e patogenicamente similar à *Shigella* spp. Causando colite inflamatória invasiva, ocorrendo invasão e espalhamento celular, em que genes cromossômicos e plasmidiais estão envolvidos. *E. coli* com adesão difusa (DAEC) é definida por seu padrão de adesão difuso em ensaios com células HEp-2 e causa diarreia aquosa em crianças e adultos. *E. coli* enteroagregativa (EAEC) gera adesão difusa, em presença de células HEp-2 em cultura. O elemento essencial ao fenótipo agregativo é a adesão das células bacterianas como tijolos empilhados lado a lado essa categoria é caracterizada por associação com diarreia persistente em crianças e como causa de diarreia esporádica em pacientes com AIDS (LEVINE, 1987).

Em um estudo sobre atividade antimicrobiana de especiarias; realizado por Carvalho (2005), foi observado que o alho nírá, o alho porró e a sálvia, conseguiram inativar a *E. coli* totalmente (bacteriocidia) enquanto a pimenta malagueta conseguiu inibi-la por um determinado tempo (bacteriostasia).

2.3.4. *Staphylococcus aureus*

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcae*, juntamente como os gêneros *Planococcus*, *Micrococcus* e *Stomatococcus*. Atualmente, o gênero *Staphylococcus* possui 33 espécies, sendo que 17 delas podem ser isoladas de amostras biológicas humanas, essa bactéria é da classe das gram positivas, na forma de cocos, anaeróbios facultativos, e algumas espécies podem produzir coagulase e catalase, 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, imóveis, não-esporulados e geralmente não-encapsulados. Está amplamente distribuído pelo

ambiente e também é encontrado no trato respiratório superior, especialmente na narina anterior, bem como na superfície da pele de humanos. O *Staphylococcus aureus* é um agente patogênico capaz de causar uma ampla gama de infecções, e ainda é responsável por surtos de intoxicação alimentar (SILVA et al., 2012).

Crescem a uma temperatura de 7 a 47,8°C, sendo sua temperatura ótima entre 30 a 37°C, e ao produzir a catalase apresentam um melhor crescimento sob condições aeróbias. Toleram concentrações de 7,5 a 15% de cloreto de sódio (NaCl), e são os únicos capazes de crescer em atividade de água (Aa) de 0,86, que é considerado um valor mínimo para bactérias não halofílicas. Podem produzir toxinas, utilizam substratos de matéria orgânica como fonte de energia para o metabolismo fermentativo e respiratório, atuando sobre carboidratos, e produzindo ácido. As espécies de *Staphylococcus* podem ser classificadas como catalase positiva, coagulase positiva, oxidase negativa e termonuclease (TNase) positiva. Existem 49 espécies de *Staphylococcus*, sendo *S. aureus* a mais importante em alimentos, no entanto, existem outras espécies que podem estar relacionadas aos alimentos, que são a *S. hyicus*, *S. chromogens*, *S. intermedius* (DSMZ, 2013).

Baricevic et al. (2001), avaliou a atividade antimicrobiana de sálvia, e pode concluir que a mesma tem efeito antimicrobiano frente a bactéria *S. aureus*. Em um estudo realizado por Abdoul-Latif et al. (2011), observaram atividade antibacteriana do extrato metanólico da camomila frente à *S. aureus*, pela técnica de difusão em ágar, onde foram percebidos halos de inibição de 16mm frente a esta bactéria.

2.4 UTILIZAÇÃO DE GRÃOS DE CHIA EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS

A procura por produtos elaborados a base de grãos vem crescendo mundialmente. Os grãos trazem muitos benefícios para a saúde, auxiliam na perda de peso, em problemas intestinais, colesterol alto, alguns problemas de pele e etc. Com isso, a elaboração de produtos alimentícios a base de grãos tem ganhado o mercado, pois as pessoas estão cada vez mais preocupadas em prevenir doenças através de uma alimentação saudável.

Ferreira (2013) elaborou pães com diferentes concentrações de chia: um pão padrão sem adição de chia, e os demais com 3%, 6% e 9% de grão de chia respectivamente. Nesse estudo pode-se observar que os pães desenvolvidos com 6% e 9% apresentaram grande diferença no valor proteico em relação ao pão padrão, sendo que o pão com 3% de chia não se diferenciou de nenhum outro pão quanto ao conteúdo proteico. Ainda pode-se observar por meio de um teste sensorial, que houve uma maior aceitabilidade e intenção de compra para o pão elaborado com 6% de grão de chia.

Em um outro estudo Utpott (2012) desenvolveu uma maionese, em que foi adicionado mucilagem de chia, combinada ou não com outros aditivos emulsificantes, reduzindo o teor de óleo e gema de ovo, e manteve as características funcionais do produto, melhorando seus aspectos sensoriais e tecnológicos.

Borneo et al. (2010) avaliaram a substituição de ovos ou óleo, em uma formulação de bolo, por gel de chia (25%, 50% e 75%) e como afetaria o conteúdo nutricional, as propriedades funcionais e as características sensoriais do produto. Em comparação com o controle de óleo e ovo, os autores observaram que a substituição de ovos ou de óleo na formulação do bolo por gel de chia até um nível de 25% manteve as características sensoriais e funcionais do produto.

Puig e Haros (2011) desenvolveram um produto de panificação substituindo a farinha de trigo por 5% de sementes de chia e 5% de farinha integral de chia e puderam concluir que as sementes de chia ou a farinha podem ser utilizadas como ingrediente na fabricação de produtos de panificação para aumentar o valor nutricional do produto, sendo que neste trabalho o pão elaborado com semente de chia foi mais aceito pelos consumidores do que o pão adicionado da farinha de chia.

2.5 FARINHA DE ARROZ

A farinha de arroz possui um gosto suave, possui em sua composição propriedades hipoalergênicas, sendo uma boa substituinte da farinha de trigo para portadores da doença celíaca, pois é de fácil digestão. Essa farinha possui baixo conteúdo de carboidratos e sódio. Essas farinhas sem glúten geram algumas dificuldades na elaboração de produtos de panificação, pois, quando

essa farinha é colocada junto de água, não ocorre a formação de uma massa viscoelástica que retém o CO₂ formado durante a fermentação, a massa formada se tornada quebradiça e sem ligação, o contrário do que acontece com pães elaborados com farinha de trigo, tendo em vista que o glúten presente no trigo possui essa capacidade de deixar a massa mais coesa. Consequentemente os produtos elaborados a partir da farinha de arroz vão possuir baixo volume específico e características muito diferentes dos produtos a base de farinha de trigo (SIVARAMAKRISHNAN et al., 2004). Com isso a farinha de trigo se torna uma boa alternativa na elaboração de pães, biscoitos, bolos e massas em geral, seu custo é baixo e seu valor nutricional é de boa qualidade.

2.6 ANÁLISE SENSORIAL

Segundo o Institute of Food Science and Technology (IFT) a análise sensorial é uma disciplina usada para provocar, medir, analisar e interpretar as reações produzidas pelas características dos alimentos e materiais, como elas são percebidas pelos órgãos da visão, olfato, gosto, tato e audição. A análise sensorial é muito aplicada na indústria de alimentos e nas instituições de pesquisa como: controle do desenvolvimento de um novo produto, avaliação do efeito das alterações nas matérias-primas ou no processamento tecnológico sobre o produto final, redução de custo, seleção de nova fonte de suprimento, controle de qualidade entre outros (DUTCOSKY, 1996).

Os atributos que condicionam a aprovação ou a rejeição de um determinado produto pelo consumidor podem ser analisados por avaliadores treinados e não-treinados. O uso de avaliadores não-treinados em testes sensoriais é mais simples, pois, apesar de ser constituído por um grande número de pessoas (40-50 pessoas), necessita-se desse grupo para uma única participação apenas. Entretanto, quando se utiliza avaliadores treinados é necessário que este grupo (7-12 pessoas) frequente assiduamente algumas semanas de treinamento, o que o torna mais complexo, pois dependerá da disponibilidade de tempo e do interesse de cada integrante da equipe sensorial de participar de maior número de encontros (GILLETE, 1984).

A qualidade sensorial do alimento e a manutenção da mesma favorecem a fidelidade do consumidor a um produto específico em um mercado cada vez mais exigente (TEIXEIRA, 2009).

O Perfil Descritivo Otimizado (PDO) é uma metodologia rápida e precisa, que possibilita identificar e quantificar a intensidade dos atributos de aparência, aroma, sabor e textura dos alimentos. Essa metodologia se diferencia dos outros testes sensoriais por possuir um tempo curto de treinamento, a indústria tem necessidade de maior rapidez e, com o PDO, a redução no tempo é de 50% em relação à metodologia convencional. Isso porque, a nova metodologia compreende a familiarização da equipe de avaliadores com as referências e, por último, a avaliação dos produtos por meio da escala de intensidade. O avaliador leva de um a dois dias para ser treinado e ele avalia uma amostra com todos os atributos ao mesmo tempo, podendo consultar referências que ancoram os extremos de uma escala de 9cm. No PDO o número ideal de avaliadores é 16, no momento da avaliação dos alimentos ele pode consultar referências como, por exemplo, fraco ou forte (SILVA, 2012).

O índice de aceitação avalia o quanto um produto foi aceito, aprovado pelo consumidor, o teste de aceitabilidade é um instrumento fundamental, pois sua execução é fácil e permite uma verificação da preferência, os métodos sensoriais afetivos não necessitam de provadores treinados, pois avaliam somente a aceitação e a preferência dos produtos. No teste de aceitação é o utilizado a escala hedônica de até 9 pontos, que vai desde “Gostei extremamente” até “Desgostei extremamente”, para um produto ser aceito o seu índice de aceitabilidade deve ser superior a 70% (GULARTE, 2002).

Na intenção de compra é utilizado a mesma escala hedônica de até 7 pontos, onde os termos definidos podem se situar, por exemplo, entre “provavelmente, compraria” a “provavelmente não compraria” e, no ponto intermediário “talvez compraria, talvez não compraria” (GULARTE, 2002).

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS-UFPEL
Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos



PROJETO DE QUALIFICAÇÃO DE MESTRADO

**Potencial antioxidante e antimicrobiano de chia (*Salvia hispanica*) e
desenvolvimento de um produto**

Vanessa Klug de Oliveira

Pelotas, 2015

Vanessa Klug de Oliveira

**Potencial antioxidante e antimicrobiano de chia (*Salvia hispanica*) e
desenvolvimento de um produto**

Projeto de Qualificação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas.

Orientador: Prof.Dr. Márcia Arocha Gularte

Co- orientador: Prof.Dr. Eliezer Gandra

Pelotas,2015

Data: 02 de Julho, de 2015.

BancaExaminadora:

Prof. Dr. Fabrizio da Fonseca Barbosa

Prof^a. Dr^a. Jozi Fagundes de Mello

Lista de Figuras

Figura 1	Chia hidratada.....	35
----------	---------------------	----

Lista de Tabelas

Tabela 1	Formulação de biscoito.....	42
Tabela 2	Tabela dos custos para a realização das análises.....	44

Lista de Quadros

Quadro 1	Cronograma das atividades previstas para o estudo Potencial antioxidante e antimicrobiano de chia (<i>Salvia hispânica L.</i>)	44
----------	--	----

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	35
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	36
2.1 Chia.....	36
2.2 Compostos antioxidantes.....	37
2.3 Compostos antimicrobianos.....	38
2.4 Utilização da chia em produtos alimentícios.....	38
3 OBJETIVOS.....	39
3.1 Objetivo geral.....	39
3.2 Objetivos específicos.....	39
4 HIPÓTESES.....	39
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
5.1 Preparação do extrato vegetal.....	40
5.2 Preparação das culturas bacterianas.....	40
5.3 Disco difusão.....	41
5.4 Análise antioxidantes pelo método DPPH.....	41
5.5 Elaboração do biscoito.....	42
5.6 Análise sensorial.....	42
5.7 Resultados parciais.....	42
6 ORÇAMENTO.....	44
7 CRONOGRAMA.....	44
REFERÊNCIAS.....	45

1 INTRODUÇÃO

A chia é uma planta mexicana, da família das labiadas, herbácea, anual, possui talos quadrangulares, acanelados, com vilosidades; folhas opostas, pecioladas, serrilhadas e flores reunidas em espigas auxiliares ou terminais. Cada fruto leva quatro sementes bem pequenas de forma oval, lisas, brilhantes, de cor cinzenta com manchas avermelhadas (TOSCO, 2004).

Nos últimos anos essa semente tem sido muito consumida, pois possui uma boa qualidade nutricional em sua composição, rica em fibras, minerais, proteínas e ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, a presença desses ácidos graxos na dieta de indivíduos promove uma redução na incidência de doenças cardiovasculares (FERREIRA, 2013).

A chia quando mergulhada em água exsudam um gel transparente mucilaginoso que permanece firmemente ligado à semente (Figura 1). No epicarpo da semente encontram-se células que produzem mucilagem quando umedecidas. Ao entrar em contato com a água, o epicarpo incha, a cutícula se rompe ao esgotar a sua elasticidade e o conteúdo das células verte como mucilagem circundando toda a superfície da semente. Esse gel é composto essencialmente de xilose, glicose e ácido glicurônico, formando um polissacarídeo ramificado de alto peso molecular, a mucilagem de chia é um polissacarídeo útil como fibra solúvel e dietética, o consumo dessa fibra pode ser uma importante alternativa para melhorar a saúde humana. Além disso, as frações fibrosas de chia evidenciam uma grande capacidade de reter e absorver água, podendo ser utilizada como um agente emulsificante e estabilizante de emulsões (COELHO et al., 2014).

Figura 1: Chia Hidratada.



Fonte: A autora

Os compostos fenólicos tem sido muito estudado nos últimos tempos pelo seu alto potencial antioxidante. Estes compostos têm sido considerados os mais importantes, numerosos e onipresentes grupos de compostos do reino vegetal e são sintetizados durante o desenvolvimento normal da planta, bem como em resposta a diferentes situações, como estresse e radiação UV, entre outros (COELHO et al., 2014).

A semente de chia contém uma quantidade de compostos com potente atividade antioxidante devido a substâncias como miricetina, quercetina, kaempferol e ácido cafeico. Esses compostos são antioxidantes primários e sinérgicos que contribuem para a sua potente atividade antioxidante. A importância destes é a atividade contra a oxidação de lipídios que afeta não só a qualidade dos alimentos como também a saúde do consumidor. O interesse no estudo dos compostos fenólicos vem aumentando muito, pois possui grande propriedade antioxidante, esses antioxidantes possuem uma função em sequestrar radicais livres, os quais são prejudiciais à saúde humana (COELHO et al., 2014).

Tendo em vista os vários benefícios da chia, o objetivo desse estudo será desenvolver um novo produto com potencial antioxidante e antimicrobiano da chia e implementar a utilização dessa semente na elaboração de um biscoito, propiciando um maior e melhor aproveitamento do grão e uma maior disponibilidade funcional para o consumidor.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Chia

Chia (*Salvia hispanica* L) é uma planta herbácea anual pertencente à família Lamiaceae, derivado na palavra *hualtchian* (significa "oleoso") e sua cultura foi expandida até a América do Sul, sendo consumida há séculos pelas civilizações Astecas e Maias. Nativa do sul do México e do norte Guatemala é uma pequena semente oval e geralmente de cor preta, podendo ter pequenas alterações de acordo com a terra de plantio e tempo de colheita tendendo para as cores marrom escura, branca ou cinza (TOSCO, 2004).

2.2 Compostos antioxidantes

A chia é a fonte mais rica de ácidos graxos e antioxidantes naturais disponível como matéria prima para seu uso em alimentos funcionais, nutracêuticos e suplementos dietéticos. A inigualável estabilidade dos ácidos ômega-3 da chia é o resultado dos compostos fenólicos que nela contêm (TOSCO, 2004).

A oxidação dos lipídios alimentícios é a maior preocupação tanto para os consumidores como para os fabricantes; não havendo controle da oxidação pode-se produzir sabores estranhos (o típico sabor de pescado) e também favorece o envelhecimento e as enfermidades degenerativas como o câncer, doenças cardiovasculares, cataratas, declínio do sistema imunológico e disfunção cerebral. Os antioxidantes da chia têm uma enorme vantagem sobre todas as demais fontes de ácidos graxos ômega-3 (TOSCO, 2004).

Para o mesmo autor suas pesquisas mostraram que a chia pode ser a fonte mais eficiente para enriquecer alimentos com ácidos graxos ômega-3. Ao adicionar na forma direta semente ou farinha de chia ao produto final, ou incluindo-a nas dietas animais, não apareceram nenhum dos problemas que têm outras fontes de ômega-3, como a linhaça ou os produtos marinhos que mostram sabor de pescado, perda de peso nos animais, problemas digestivos, diarreia, alergias etc.

Os antioxidantes são compostos que podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou outras moléculas, evitando o início ou a propagação das reações em cadeia de oxidação, essa atividade antioxidante dos compostos fenólicos se deve às suas propriedades de óxido-redução, as quais podem desempenhar um importante papel na absorção e neutralização de radicais livre (DEGÁSPARI et al., 2004).

O consumo de substâncias antioxidantes na dieta diária, pode produzir uma ação protetora efetiva contra os processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo. Foi descoberto que uma série de doenças entre as quais câncer, aterosclerose, diabetes, artrite, malária, síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV), doenças do coração, podem estar ligadas aos danos causados por formas de oxigênio extremamente reativas denominadas de “substâncias reativas ao oxigênio” ou simplesmente ROS.

Estas substâncias também estão ligadas com processos responsáveis pelo envelhecimento do corpo (DEGÁSPARI et al., 2004).

2.3 Compostos antimicrobianos

Como aumento dos micro-organismos resistentes às substâncias antimicrobianas já conhecidas, vários extratos de plantas medicinais foram testados, com a finalidade de procurar novos compostos com atividade antimicrobiana reconhecida. Uma grande variedade de métodos pode ser empregada para medir a atividade *in vitro* de micro-organismos contra os agentes antimicrobianos. Quando se trata de extratos vegetais, se aplica um grande número de metodologias para detecção de atividade antimicrobiana e, as técnicas de difusão são as mais adequadas para se trabalhar com extratos vegetais coloridos e/ou extraídos com solventes orgânicos, aliado ao fato que a cor não irá interferir na leitura dos resultados (SILVEIRA et al., 2009).

2.4 Utilização de chia em produtos alimentícios

Reyes-Caudillo et al. (2008) estudaram os compostos fenólicos de chia de duas regiões do México, sendo que o ácido clorogênico foi o predominante no extrato bruto de compostos fenólicos da chia, variando de $45,9 - 102 \mu\text{g.g}^{-1}$ chia seguida por ácido cafeico ($3 - 6,8 \mu\text{g.g}^{-1}$ chia). Segundo os autores, essas diferenças podem ser explicadas pelo fato de que o conteúdo de compostos fenólicos pode ser afetado por fatores externos, tais como condições meteorológicas e condições de pós-colheita.

Ferreira (2013) elaborou pães com diferentes concentrações de chia: Um pão padrão sem a adição de chia, e os demais com 3%, 6% e 9% de grão de chia respectivamente. Nesse estudo pode-se observar que os pães desenvolvidos com 6% e 9% apresentaram grande diferença no valor proteico em relação ao pão padrão, sendo que o pão com 3% de chia não se diferiu de nenhum outro pão quanto ao conteúdo proteico. Ainda pode-se observar por meio de um teste sensorial, que houve uma maior aceitabilidade e intenção de compra para o pão elaborado com 6% de grão de chia.

Em um outro estudo Utpott (2012) desenvolveu uma maionese, em que foi adicionado mucilagem de chia, combinada ou não com outros aditivos emulsificantes, reduzindo o teor de óleo e gema de ovo, e manteve as

características funcionais do produto, melhorando seus aspectos sensoriais e tecnológicos. Borneo et al. (2010) avaliaram a substituição de ovos ou óleo, em uma formulação de bolo, por gel de chia (25%, 50% e 75%) e como afetaria o conteúdo nutricional, as propriedades funcionais e as características sensoriais do produto. Em comparação com o controle de óleo e ovo, eles observaram que a substituição de ovos ou de óleo na formulação do bolo por gel de chia até um nível de 25% manteve as características sensoriais e funcionais do produto.

Puig e Haros (2011) desenvolveram um produto de panificação substituindo a farinha de trigo por 5% de sementes de chia e 5% de farinha integral de chia e puderam concluir que as sementes de chia ou a farinha podem ser utilizadas como ingrediente na fabricação de produtos de panificação para aumentar o valor nutricional do produto, sendo que neste trabalho o pão elaborado com semente de chia foi mais aceito pelos consumidores do que o pão adicionado da farinha de chia.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Analisar o potencial antioxidante e antimicrobiano de grãos, farinha de chia (*Salvia hispanica L.*) e desenvolver um biscoito a partir de chia avaliando a capacidade antioxidante no produto.

3.2 Objetivos específicos

- Quantificar os antioxidantes presentes no grão, na farinha de chia e no biscoito;
- Determinar a composição centesimal dos grãos, farinha de chia e biscoito;
- Avaliar a atividade antimicrobiana da chia;
- Elaborar um biscoito tipo aperitivo, utilizando a chia em diferentes processos: grãos, farinha, mucilagem–grão hidratado;

4 HIPÓTESES

Chia possui em sua composição componentes com alto poder

antioxidante, podendo ser utilizada na elaboração de produtos, assim como, apresenta um efeito antimicrobiano sobre algumas bactérias e fungos, podendo colaborar para o aumento da vida de prateleira de produtos de panificação.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes de chia foram adquiridas comercialmente, as mesmas são da marca **LaAbundancia**, produzidas em Montevideu no Uruguai, com validade até 19 de junho de 2016.

Serão realizadas análises de composição centesimal na chia, sendo estas fibras, proteínas, gorduras, acidez titulável, cinzas e umidade, todas segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (1985).

Para detecção da análise da atividade antimicrobiana da chia será realizada a obtenção de um extrato vegetal a partir dos grãos, e se utilizará a técnica do disco difusão de acordo com protocolo proposto pelo Manual *Clinical and Laboratory Standards Institute* – CLSI (CLSI, 2005), frente as espécies *S. aureus* (Gram positiva) e *Escherichia coli* (Gram negativa) e do gênero fúngico *Penicilium* spp (causam a deterioração de grãos e cereais).

5.1 Preparação do extrato vegetal

As amostras de grãos de chia serão imersas em álcool etílico 96°GL, em uma proporção 1:10. A solução obtida será colocada em banho-maria à 35 °C durante 24h. O extrato resultante será filtrado com algodão para a retirada do resíduo sólido e, posteriormente, concentrado em rota-evaporador à 50°C. O resíduo resultante vai ser reidratado com água estéril de forma a obter a concentração de 0,1mg/mL, passando a ser denominado extrato vegetal ou solução antimicrobiana (CARVALHO et al., 2006).

5.2 Preparação das culturas bacterianas

A partir de uma cultura pura microbiana armazenada congelada, o isolado microbiano será reativado por transferência de uma alçada desta cultura para Caldo BHI e este será incubado a 37°C por 24h.

Após o período de incubação do BHI uma alçada do isolado vai ser transferida e estriada para o isolamento de colônias em placas de Ágar Triptona de Soja (TSA) que serão incubadas a 37°C durante 24h.

A partir das culturas crescidas em TSA será retirada uma alçada e ressuspendida em solução salina (NaCl 0,85%) e a solução salina será padronizada na concentração 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) por comparação visual e diluição da solução salina inoculada.

5.3 Disco difusão

A solução salina inoculada será posteriormente semeada por espalhamento com *swab* estéril na superfície de placas com Ágar Muller-Hinton. Após a secagem do Ágar Muller-Hinton inoculado com a solução salina, discos de papel de filtro impregnados com as substâncias antimicrobianas supracitadas serão aplicadas sobre a superfície das placas, recomenda-se a utilização de pelo menos 10µL destas substâncias antimicrobianas em cada papel filtro. Após as placas serão incubadas a 35°C por 24h, e os halos de inibição serão medidos.

5.4 Análise antioxidantes pelo método DPPH

A análise de antioxidantes será feita pelo método DPPH, este método consiste na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1- picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 517nm. O DPPH é um radical livre que pode ser obtido diretamente por dissolução do reagente em meio orgânico (BRAND- WILLIAMS et al.,1995). Serão pesados 0,8g de chia e em seguida, as amostras serão diluídas em 10ml de etanol, agitadas em vórtex por 15 minutos. Após serão transferidas para tubos de centrifuga, sendo submetidas à centrifugação por 10 minutos a 519 xg. Em seguida, pipetou-se 500µL do sobrenadante em tubos de ensaio e adiciona-se 3mL de etanol e 300µL da solução de DPPH. A reação será mantida em temperatura ambiente por 45min, no escuro. As leituras serão realizadas a 517nm e os resultados expressos em miligramas da capacidade antioxidante equivalente a Trolox (TEAC).g⁻¹ de amostra.

Para esta análise 0,5mL do extrato será adicionado a 3mL de etanol P.A., recebendo em seguida 0,3mL de solução DPPH (0,5mM em etanol). Para o branco será substituído o volume da solução de DPPH por igual volume de etanol. Será feito uma amostra controle substituindo o volume de extrato pelo volume de etanol 80%, colocando-se em repouso os tubos contendo a mistura,

por 45min, ao abrigo da luz, realizando posteriormente a leitura de absorbância a 517nm em espectrômetro.

5.5 Elaboração do biscoito

Os biscoitos terão uma formulação padrão comercial tipo aperitivo em que e utilizará ingredientes como: farinha e grãos de chia.

Tabela 1. Formulação padrão de biscoito.

Ingredientes
600g de farinha de trigo
15g de sal
10g de açúcar
60g de margarina
300ml de água
10g de fermento biológico seco

5.6 Análise sensorial

O biscoito tipo aperitivo será elabora do e submetido a análise sensorial de Perfil Descritivo Otimizado –PDO. O PDO é uma metodologia rápida e precisa, que possibilita identificar e quantificar a intensidade dos atributos de aparência, aroma, sabor e textura dos alimentos. Essa metodologia se diferencia dos outros testes sensoriais por possuir um tempo curto de treinamento,o julgador leva de uma dois dias para ser treinado e este avalia uma amostra com todos os atributos ao mesmo tempo, podendo consultar referências que ancoramos extremos de uma escala de 9cm (SILVA, 2012).

5.7 Resultados parciais

Um trabalho foi desenvolvido e publicado no LACC3-2015 com resultados parciais do estudo, como segue:

Caracterização Físico-Química de grão de chia, farinha de chia e chia em molho

Oliveira.V; Getens.C; Pereira.A; Prietsch.K; Avila.B; Nickl.J; Gularte,M.

Introdução: Chia (*Salvia hispanica* L) é uma planta herbácea anual pertencente à família Lamiaceae, nativa do sul do México e do norte da Guatemala. É uma semente oleaginosa rica em proteínas, fibras, vitaminas, minerais, Ômega 3, atividade antioxidante. O objetivo deste estudo foi caracterizar fisicamente o grão de chia, farinha de chia e chia de molho.

Metodologia: A análise de inchamento da farinha e do grão de chia foi realizada segundo AACC (1994). A análise de antioxidantes foi feita segundo os métodos de DPPH e ABTS. O método de DPPH consiste no fotolorimétrico do radical livre estável DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazila. A capacidade de sequestrar radical livre é expressa como percentual de inibição de oxidação do radical. O método ABTS consiste na atividade antioxidante pelo método de redução do radical ABTS [2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolína-6-ácidosulfônico). O teor de umidade do grão e da farinha de chia foi realizada em estufa a 105°C por 18h.

Resultados: Tanto o grão quanto a farinha de chia não apresentaram aumento de volume e, conseqüentemente, o inchamento foi insignificante, e isso pode ser explicado pelo fato de ambos não terem grande capacidade de absorção de água. As análises de antioxidantes mostram que pelo método DPPH a chia em farinha apresentou maiores teores de antioxidantes, em seguida o grão de chia e a chia em molho apresentou quantidade menor. Pelo método ABTS a chia farinha também apresentou maiores quantidades de antioxidantes, em seguida a chia no molho e com menores quantidades a chia em grão. A quantidade de antioxidantes ser maior na farinha, pode ser explicado pelo fato do grão ter sido beneficiado por meio da moagem. A porcentagem de umidade não teve diferença em relação ao grão e a farinha, sendo que o grão apresentou uma porcentagem de 6% e a farinha de 5% de umidade.

Conclusão: Pode-se concluir que a chia é uma excelente fonte nutricional, pois possui agentes nutricionais que promovem benefícios para a saúde. A farinha de chia seria uma excelente fonte de antioxidantes, estes capazes de prevenir os efeitos causados pelos radicais livres e, além disso, poderia ser utilizada em várias receitas, proporcionando alimentos mais saudáveis.

6 ORÇAMENTO

O orçamento com os custos previstos para o estudo está apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Tabela dos custos para realização das análises.

Análises	Custo (R\$)
Avaliações físico-químicas	550,00
Avaliações antimicrobianas	500,00
Avaliações Antioxidantes	300,00
Análise Sensorial	250,00
Total	R\$ 1600,00

7 CRONOGRAMA

O cronograma previsto para o desenvolvimento do trabalho está apresentado no Quadro 1.

Quadro 1. Cronograma de execução das atividades da pesquisa, no período de agosto de 2014 a junho de 2015.

	2014	2015	2016
	Ago - Dez	Jan - Dez	Jan – Ago
Revisão bibliográfica	X		
Estudos preliminares com Hidratação da chia e elaboração de trabalho para o congresso lacc3		X	
Defesa de qualificação		X	
Avaliação antioxidante		X	
Análises de Composição centesimal		X	
Avaliação antimicrobiana		X	
Desenvolvimento do biscoito e análise sensorial			X
Avaliações antioxidantes no biscoito			X
Elaboração e apresentação de artigos em eventos da área			X
Defesa de Dissertação			X

REFERÊNCIAS

BORNEO, R.; AGUIRRE, A.; LEÓN, A.E. **Chia (*Salvia hispânica* L) gel can be used as egg or oil replacer in cake formulations.** Journal of the American Dietetic Association, v. 110, n. 6, p. 946-949, 2010.

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

DEGÁSPAR, C.H.; W. ASZCZYNSKY, J.N. **Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos.** Visão Acadêmica, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

FERREIRA, T.B.R. **Caracterização Nutricional e Funcional de Chia (*Salvia hispânica*) e sua aplicação no desenvolvimento de pães.** [Dissertação de Mestrado]. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2013.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** v. 1. São Paulo: O Instituto, 1985.

PUIG, E. I.; HAROS, M. **La Chia en Europa: El Nuevo Ingrediente en Productos de Panadería.** Alimentaria, v. 420, p. 73-77, 2011.

REYES-CAUDILLO, E.; TECANTE, A.; VALDIVIA-LÓPEZ, M.A. **Dietary Fibre Content and Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Present in Mexican Chia (*Salvia hispânica* L.) Seeds.** Food Chemistry, v. 107, n. 2, p. 656- 663, 2008.

SILVA, R.C.S.N.; MINIM, V.P.R.; SIMIQUELI, A.A.; MORAES, L.E.S.; GOMIDE, A.I.; MINIM, L.A. **Optimized Descriptive Profile: A rapid methodology for sensory description.** Food Quality and Preference, v. 24, p. 190-200, 2012.

SILVEIRA, M.L.S. et.al. **Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão**. Revista Brasileira de Farmacologia, v. 90, n. 2, p.124-128, 2009.

TOSCO, G. Os **benefícios da “chia” em humanos e animais**. Revista Atualidades Ornitológicas, v. 119, p. 7,2004.

UTPOTT, M. **Utilização da mucilagem da chia (*Salvia hispânica* L.) na substituição de gordura e/ou gema de ovo em maionese**. 2012. 50f. Monografia (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

BARA, M.T.F.; VANETTI, M.C.D.. **Estudo da atividade antibacteriana de plantas medicinais, aromáticas e corantes naturais**. Revista Brasileira de Farmacognosia, . v. 7-8, n. 1, p. 22-34, 1998.

BRAVO, L. **Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutriotion significance**. Nutr Rev v. 56, n. 11, p. 317-33, 1998.

4. RELATÓRIO DE CAMPO

As amostras de chia foram adquiridas comercialmente, produzidas em Montevideu no Uruguai, com validade até 19 de junho de 2016. As análises do projeto foram realizadas nos Laboratório de Bromatologia e Microbiologia da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas, os biscoitos de chia foram elaborados no Laboratório de Panificação e os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial, ambos na Universidade Federal de Pelotas, ambos no Campus Capão do Leão.

Durante o projeto houve algumas modificações nas análises que não estava previsto até a qualificação, foi acrescentado as análises de compostos fenólicos e digestibilidade proteica, a análise de fibra alimentar que estava programada não foi realizada por indisponibilidade de alguns reagentes. Algumas análises demoraram mais a ser realizadas pelo fato de, a verba oferecida não ter sido fornecida no prazo previsto.

5 ARTIGO

(Segundo as normas da revista Brazilian Journal of Food Technology)

Propriedades funcionais, nutricionais e antimicrobianas de chia em grão, farinha e mucilagem e desenvolvimento de um biscoito

Functional, nutritional and antimicrobial properties chia grain, flour and mucilage and development of a biscuit

Vanessa Klug Oliveira¹; Eliezer Gandra²; Simone Pieniz³; Márcia Arocha Gularte⁴

¹*Universidade Federal de Pelotas Fernando Ferrari 1645- 96600-000-Canguçu-RS- Brasil Fone: 53-81438925– vanessaklugoliveira@hotmail.com¹*

²*Universidade Federal de Pelotas- Pelotas-RS-Brasil– gandraea@hotmail.com²*

³*Universidade Federal de Pelotas – Pelotas-RS-Brasil nutrisimone@yahoo.com.br³*

⁴*Universidade Federal de Pelotas– Pelotas-RS-Brasil- marciagularte@hotmail.com⁴*

RESUMO

Objetivou-se neste estudo caracterizar os grãos de chia quanto a composição química, presença de compostos fenólicos, capacidade antioxidante e atividade antimicrobiana do extrato elaborado a partir dos grãos e, da mesma forma, desenvolver e avaliar sensorialmente biscoitos contendo chia e farinha de arroz em diferentes concentrações. Os grãos de chia apresentaram 23,3 % de proteínas solúveis, 1,2 % de proteínas insolúveis, 5,9 % de umidade, 25 % de lipídeos, 2,4 % cinzas, 3,1 % de fibras, 96,5 % de digestibilidade proteica, 4,52 µg/ml de antioxidantes e 0,52 µg⁻¹ de fenóis totais. Os biscoitos foram elaborados com 10 %, 20 % e 40 % de grãos, de gel e de farinha de chia respectivamente. Os teores de proteínas, lipídeos, cinzas, fibras, solubilidade e insolubilidade das proteínas os biscoitos com a maior concentração na formulação obtiveram os maiores valores. As formulações a base do gel de chia, apresentaram maiores teores de umidade e de digestibilidade proteica. Os compostos antioxidantes foram maiores nos biscoitos elaborados com 40 % de grão e com 10 % de gel, e os compostos fenólicos nos biscoitos com 40 % de farinha e com 20 % de farinha. Os biscoitos com 40 % de grão e de farinha foram caracterizados pelo teste Perfil Descritivo Otimizado, teste de aceitação e intenção de compra. Os biscoitos com grãos apresentaram menor intensidade nos atributos cor e dureza, para os atributos sabor e crocância, tanto os biscoitos com grãos quanto com farinha apresentaram-se ligeiramente característicos; 75,3 % dos avaliadores preferiram os biscoitos com grão e 77 % com farinha, 41 % comprariam biscoitos com grãos e 31,5 % com farinha. Nos antimicrobianos de disco difusão realizado a partir de um extrato de chia, frente as bactérias *Salmonela*, *Listeria*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* não apresentou halos de inibição, já no teste de mínima concentração inibitória, houve para *salmonela*.

Palavras-chave: *Salvia hispânica* L, glúten free, produtos de panificação, bioativos, atividade microbiana, PDO.

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize the chia grains as the chemical composition, the presence of phenolic compounds, antioxidant activity and antimicrobial activity of the extract prepared from the beans and, likewise, develop and evaluate sensory biscuits containing chia and rice flour different concentrations. The chia grains had 23.3% of soluble protein, 1.2% insoluble protein, 5.9% moisture, 25% fat, 2.4% ash, 3.1% fiber, 96.5% of protein digestibility, 4.52 g / ml of antioxidant and 0.52 ug-1 of total phenols. Cookies were made with 10%, 20% and 40% of grain, gel and chia flour. The protein, lipid, ash, fiber, protein solubility and insolubility of the cookies with the highest concentration in the formulation had the highest values. The formulations based gel chia, had higher moisture content of protein digestibility. The antioxidants were higher in cookies prepared with 40% of wheat and 10% gel, and phenolic compounds biscuits with 40% flour and 20% flour. The biscuits with 40% of grain and flour were characterized by test Profile Description Optimized, acceptance testing and purchase intent. The cookies with grains had a lower intensity in the attributes color and hardness to the flavor attributes and crispness, both cookies with grains as with flour had slightly characteristic; 75.3% of evaluators preferred the biscuits with grain and 77% with the flour, 41% would buy cookies with grains and 31.5% with the flour. In the antimicrobial disc diffusion performed from a creaky extract, opposite the bacteria *Salmonella*, *Listeria*, *E. coli* and *S. aureus* showed no inhibition halos, since the minimum inhibitory concentration test, there was for salmonella.

Keywords: *Salvia Hispanic* L, free gluten, bakery products, bioactive, microbial activity, PDO.

1 INTRODUÇÃO

A chia (*Salvia hispânica* L) da família das Lamiaceae, possui boa qualidade nutricional, sendo considerado um pseudocereal rico em fibras, minerais, proteínas e ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 os quais auxiliam na prevenção e proporcionam benefícios a saúde (COELHO et al., 2004)

A chia, também rica em antioxidantes é uma alternativa para aplicação em produtos alimentícios visando um aumento do valor nutricional, bem como a

substituição dos grupos alimentares restritos, como no caso dos portadores de doença celíaca.

Tendo em vista que a chia apresenta um potencial de compostos bioativos, nutricionais e possivelmente antimicrobiana, devido seu potencial antioxidante, foi realizado este estudo com o objetivo de caracterizar os grãos de chia quanto a composição físico-química, presença de compostos fenólicos, capacidade antioxidante e atividade antimicrobiana do extrato elaborado a partir dos grãos e, da mesma forma, desenvolver e avaliar sensorialmente biscoitos contendo chia e farinha de arroz em diferentes concentrações.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes de chia foram adquiridas comercialmente, produzidas em Montevideu, Uruguai, com validade até 19 de junho de 2016. As mesmas estavam descascadas e acondicionadas em saco plástico, que foram mantidas sob refrigeração (temperatura inferior a 5°C) até o período das avaliações.

As amostras foram utilizadas da seguinte forma: grão *in natura*, farinha através do grão moído em mixer (modelo 2616-057 Oster) e grão adicionado de água por 24 horas formando um gel, também chamado de mucilagem.

2.1 Elaboração dos biscoitos tipo aperitivo de chia

Os biscoitos foram elaborados no Laboratório de Panificação da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS. Foram preparadas 3 formulações, tendo como base padrão comercial tipo aperitivo. Os ingredientes foram adicionados com suas proporções pré-determinadas conforme visualizado na Tabela 1. Os ingredientes foram homogeneizados, as massas foram moldados, laminas e assados em forno industrial a 150 °C por 15 minutos, para posterior análise sensorial.

107 **Tabela 1:** Formulações dos biscoitos tipo aperitivos de chia

Ingredientes	Controle	Formulação (1)			Formulação (2)			Formulação (3)		
	100%	10 %			20 %			40%		
Farinha de Arroz	100	90			80			60		
Sal	3	3			3			3		
Açúcar	2	2			2			2		
Margarina	12	12			12			12		
Água	100	100			100			100		
Grão de Chia	—	10	-	-	20	-	-	40	-	-
Farinha de Chia	—	-	10	-	-	20	-	-	40	-
Gel Chia	—	-	-	10	-	-	20	-	-	40

108 Percentual de substituição em relação a farinha de arroz.

109

110 **2.1 Análises da composição química dos grãos e dos biscoitos de chia**

111 Os teores de umidade, proteína, lipídeos, cinzas, fibra bruta,
 112 carboidratos, foram determinados conforme metodologia descrita pela AOAC
 113 (2006). O valor energético (Kcal) foi calculado usando como referência
 114 carboidratos e proteínas com 4,0 kcal e lipídios 9,0 kcal. A solubilidade da
 115 proteína em água foi determinada de acordo com o método descrito por Liu, Mc
 116 Watters e Phillips (1992). As proteínas insolúveis foram determinadas pela
 117 diferença da proteína bruta e solúvel. A digestibilidade in vitro foi determinada
 118 pelo método descrito por Pires (2005).

119 **2.2 Extrato Vegetal de Chia**120 **2.2.1 Preparação do extrato vegetal**

121 A amostra de grãos de chia foram imersas em álcool etílico 96°GL, em
 122 uma proporção 1:10. A solução obtida foi colocada em banho-maria à 35 °C
 123 durante 24 horas. O extrato foi filtrado para a retirada do resíduo sólido e
 124 concentrado em rota-evaporador à 50 °C (CARVALHO et al., 2006).

125 **2.2.2 Atividade antimicrobiana**

126 A avaliação da atividade antimicrobiana da chia foi através do extrato
127 vegetal e da verificação do potencial antibacteriano deste extrato frente as
128 espécies *Staphylococcus aureus* ATCC 2931, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC
129 43895, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Listeria monocytogenes* ATCC
130 7644.

2.2.3 Disco difusão

A técnica de disco difusão foi baseada na imersão de discos de papel de filtro impregnados com as substâncias antimicrobianas supracitadas e aplicados sobre a superfície de placas de Petri, utilizou-se 10 µL em cada papel filtro. Após as placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas. A inibição foi verificada pela formação de um halo característico translucido ao redor do disco relacionado com cada micro-organismo testado (CLSI, 2005).

2.2.4 Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

A atividade antibacteriana foi avaliada pela técnica de microdiluição em caldo, por meio da determinação da CIM e CBM de acordo com a metodologia descrita por Cabral et al. (2009) com pequenas modificações. Após a homogeneização, a concentração do inóculo foi ajustada em espectrofotômetro (JENWAY 6705 UV/Vis) para corresponder a turbidez de 0,5 da escala McFarland. Um volume de 100 µL das suspensões bacterianas foi inoculado em 30 mL do caldo BHI, para uma concentração bacteriana em torno de $1-2 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹. A técnica foi desenvolvida em microplacas de 96 poços, nos quais foram adicionados 100 µL de caldo BHI previamente inoculado. Em seguida, foram adicionados 100 µL dos extratos em concentrações: 50 mg/ml, 10 mg/ml, 1 mg/ml e 0,1 mg/ml. Como controle foi utilizado água destilada estéril e extrato de chia, as microplacas foram incubadas a 37 °C por 24 horas. Após, foi realizada a leitura em espectrofotômetro da marca Biochrom ez Read 400, versão 2.2, com comprimento de onda de 650 nm. Para a determinação da CBM, alíquotas de 10 µL do meio de cultura dos poços considerados com efeito inibitório foram semeadas em placas de Petri contendo ágar BHI e incubados a 37 °C por 24 horas. A CBM foi considerada como a menor concentração na qual não houve crescimento de colônias na superfície do meio de cultura.

2.6 Capacidade antioxidante pelo método do DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e Compostos fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu

Para a análise de DPPH e compostos fenólicos foram utilizadas as seguintes amostras: chia em grão, biscoitos com chia em grão, farinha de chia e chia hidratada na forma de gel em diferentes formulações. A análise antioxidante foi realizada na concentração de 15 %, o método DPPH utilizado

foi o descrito por Brand-Williams *et al.* (1995), baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm. A concentração de fenóis totais foi determinada segundo o método Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton e Rossi Junior (1965) através da curva padrão de ácido gálico e o teor de fenóis totais expresso em equivalentes de ácido gálico ($\mu\text{g g}^{-1}$).

2.7 Análise sensorial

A análise sensorial dos biscoitos de chia foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, através do Perfil Descritivo Otimizado (PDO) para os atributos cor, dureza, sabor e crocância, utilizando 16 avaliadores. Foram realizados ainda o teste de preferência e intenção de compra com 100 consumidores. Os avaliadores receberam as amostras em potes de porcelana branca codificados com números de três dígitos aleatórios, com 10 g de amostra, a temperatura de 25 ± 2 °C. Foi fornecido o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, aprovado pelo Comitê de ética da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas, sobre o parecer 1.644.100. A preferência foi através da escala hedônica utilizou os termos 1- “desgostei muito” e 7- “gostei muito” (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1991) e na intenção de compra foi através da escala estruturada de 7 pontos, na qual 7 representou a nota máxima “certamente compraria” e 1 a nota mínima “certamente não compraria” (DUTCOSKY, 1996).

2.8 Estatística

Os resultados foram comparados através de análise de variância (ANOVA) e as médias obtidas foram comparadas através de teste de Tukey. As correlações foram realizadas pelo teste Correlação de Pearson a 5 % de significância. Ainda foi aplicado teste de frequência para testes sensoriais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição físico-química e análise antioxidante dos grãos de chia

Os resultados de composição química dos grãos de chia estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Composição química e compostos antioxidantes de grãos de chia

Parâmetros *	Grão de Chia
Proteína solúvel (%)	23,3 ± 0,7
Proteína Insolúvel (%)	1,2 ± 0,4
Umidade (%)	5,9 ± 0,1
Lipídeos (%)	25,0 ± 1,4
Cinzas (%)	2,4 ± 0,1
Fibra (%)	3,1 ± 0,1
Digestibilidade Proteica (%)	96,5 ± 0,7
Antioxidantes (EC ₅₀ µg mL ⁻¹)	4,52 ± 1,77
Fenóis Totais (µg g ⁻¹)	0,52 ± 0,32

*média ± desvio padrão.

De acordo com Weber et al. (1991) a semente de chia é uma boa fonte de proteína (19-27 g.100 g⁻¹). O conteúdo de proteína é mais elevado do que outros grãos tradicionais, tais como milho, trigo, arroz, aveia, cevada e amaranto (AYERZA e COATES, 2005). Puig e Haros (2011) e Bushway et al. (1981) encontraram um teor de 20,2 % de proteína total no grão de chia, valores semelhantes ao encontrado neste estudo.

A solubilidade de uma proteína é a manifestação termodinâmica do equilíbrio entre a interação proteína-proteína e proteína-solvente e está relacionada ao seu balanço de hidrofiliicidade/hidrofobicidade. Assim, sua composição de aminoácidos afeta sua solubilidade. Porém, as características de hidrofobicidade e hidrofiliicidade da proteína são os fatores mais importantes que afetam as características de solubilidade (DAMODARAN, 1997).

O teor da digestibilidade proteica (96,5%) foi alto, visto que acima de 70 % preconiza-se na literatura um valor de alta digestibilidade, já que esta é a medida da porcentagem das proteínas, que são hidrolisadas pelas enzimas digestivas e absorvidas, na forma de aminoácidos ou de qualquer outro composto nitrogenado, pelo organismo (MENDES, 2007). Castro et al. (2007) avaliaram o teor de digestibilidade proteica em grãos de quinoa termicamente tratados, e observaram que 81,36 % da proteína pode ser considerada absorvida. O tratamento térmico aplicado na quinoa ajudou no teor digerido.

As cinzas, ou seja, o conteúdo de minerais encontrado no grão de chia foi de 2,4 % (Tab. 2). Sandoval-Oliveros e Paredes-López (2013) obtiveram valores de cinzas em grãos de chia (3,7 %) acima do encontrado nesse estudo.

A análise de lipídeos revelou uma porcentagem de 25 % (Tab. 2). Dados semelhantes (33 % em chia) foram encontrados por Ixtaina et al. (2010).

Quanto as fibras encontraram-se uma porcentagem de 3,1% (Tab. 2), podendo este ser considerado fonte de fibras, uma vez que a legislação preconiza um mínimo de 2,5 % (BRASIL, 2012).

Ressalta-se que os fatores climáticos que ocorrem durante o cultivo do pseudocereal podem apresentar discrepâncias nos compostos químicos.

Quanto a análise de antioxidantes observou-se que pelo método de DPPH os grãos de chia apresentaram um valor de $4,52 \text{ EC}_{50} \mu\text{g mL}^{-1}$. Este resultado se difere ao encontrado por Ferreira (2013), tendo encontrou $15,29 \mu\text{g mL}^{-1}$. Pérez-Jiménez et al. (2008) relata que diferenças entre os valores encontrados deve-se as adaptações de metodologias, solventes e matérias-primas.

Na análise de compostos fenólicos totais o resultado foi de $0,52 \mu\text{g g}^{-1}$ (Tab. 2). Nos estudos de Reyes-Caudillo et al. (2008) o perfil de compostos fenólicos de sementes de chia de duas regiões do México, o ácido clorogênico foi o predominante no extrato bruto, variando de $45,9 - 102 \mu\text{g.g}^{-1}$ chia, seguido por ácido caféico ($3 - 6,8 \mu\text{g.g}^{-1}$ chia).

3.2 Composição química dos biscoitos

A Tabela 3 expressa os resultados da composição química dos biscoitos com grão, farinha e gel de chia.

Tabela 3: Composição química dos biscoitos de chia em grão, farinha e em gel em diferentes composições

Biscoitos de Chia									
Parâmetro	10% Grão	20% Grão	40% Grão	10% Farinha	20% Farinha	40% Farinha	10% Gel	20% Gel	40% Gel
CHO	76,25±0,07a	71,85±0,07c	64,65±0,07g	68,60±0,14f	69,75±0,07e	61,15±0,21h	74,85±0,07b	71,10±0,14d	55,75±0,21i
LIP	2,75±0,64i	3,85±0,0f	3,25±0,64g	6,65±0,07c	2,85±0,49h	7,95±0,35a	4,15±1,06d	3,90±0,00e	7,80±0,14b
PTN	9,40±0,28g	12,25±0,21d	17,50±0,71a	10,30±0,28e	13,23±1,34c	14,70±0,28b	7,70±0,00h	7,75±0,07h	9,75±0,64f
VET	366,60±0,14 d	370,30±0,14 c	357,35±0,21 e	349,40±0,14 g	356,40±0,56 e	375,20±0,14 b	387,15±0,21 a	350,80±0,14f	314,60±0,14 h
CIN	2,45±0,21g	3,20±0,14e	4,45±0,07b	4,35±0,21c	4,05±0,07d	5,45±0,07a	1,60±0,00i	1,75±0,07h	3,75±0,07f
UMI	6,10±0,70g	5,50±0,70i	5,80±0,14h	7,00±0,70d	6,65±1,62e	6,50±0,28f	8,55±0,63c	9,25±1,06b	10,50±0,28a
FIB	3,20±0,00h	3,55±0,70g	4,35±0,21a	3,15±0,70i	3,75±0,70d	4,20±0,14b	3,20±0,14h	3,70±0,28f	3,95±0,70c
OS	16,33±1,22h	28,54±6,97c	34,74±1,27 ^a	13,78±3,08i	19,22±2,72f	31,96±1,56b	19,55±6,14e	21,51±3,37d	17,50±2,47g
PI	6,93±1,50g	16,29±7,18c	17,24±0,57b	3,48±3,36i	5,99±4,07h	17,26±1,84a	11,85±6,14e	13,76±3,44d	7,75±3,11f
DG	73,96±0,01i	90,80±0,01d	92,43±0,01c	90,25±0,01e	81,57±0,01h	89,71±0,01f	89,54±0,01g	95,69±0,01a	93,88±0,01b
ANT	9,29±0,0b	8,59±0,0c	9,43±0,0a	6,96±0,0e	5,07±0,0g	5,10±0,0f	9,42±0,0a	8,30±0,0d	9,29±0,0b
FT	0,39±0,20f	0,48±0,07d	0,23±0,02h	0,69±0,38c	0,70±0,26b	0,76±0,08a	0,17±0,03i	0,32±0,14g	0,47±0,14e

* Médias (n=3) com letras distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

CHO: carboidratos; LIP: lipídios; PTN: proteínas; VET: valor energético total; CIN: cinzas; UMI: umidade; FIB: fibras; PS: proteína solúvel; PI: proteína insolúvel; DG: digestibilidade proteica; ANT: antioxidantes; FN: fenóis totais

Os biscoitos elaborados com maior quantidade de grão, de farinha e de gel de chia (40 %) apresentaram maiores valores em antioxidantes, compostos fenólicos, proteínas e lipídeos. Os biscoitos com 10 % de gel e de farinha apresentaram 74,85 % e 76,85 % respectivamente, para os carboidratos. A elevada porcentagem encontrada na amostra de 10 % de gel pode ser explicado, pelo fato da chia quando em contato com a água, formar um gel ou mucilagem rica em polissacarídeos, podendo estes serem responsáveis pelo aumento dos açúcares (HUSSEIN et al, 2011). Os biscoitos com 20 % de farinha, obtiveram maior teor de carboidratos em função de ter mais quantidade de farinha de arroz na sua formulação, que é rica em carboidratos, aproximadamente 76 % (HEISLER et al., 2008).

Já para os teores de lipídeos, os biscoitos com 40 % de farinha e de gel, obtiveram valores maiores, devido a maior quantidade de chia presente na formulação, e por esta ser rica em ácidos graxos ômega-3 e ômega-6. Segundo Tosco (2004) a chia possui em torno de 11 % de ômega-3 e 4 % de ômega-6 em sua composição.

Avaliando a Tabela 3 ficou evidenciado que os biscoitos com 40% de grão e de 40% farinha apresentaram alto teor proteico com diferenças significativas ($p > 0,05$). A literatura reporta que a chia possui em torno de 23 % de proteínas na sua composição e os biscoitos serem elaborados com quantidade significativa desse grão (WEBER et al. 1991).

Quanto ao teor de cinzas (minerais), observou-se maiores valores nos biscoitos com 40% de grão e de farinha. Este fato pode ser devido ao grão de chia possuir em torno de 2,4 % de cinza (Tabela 3), e os referidos biscoitos obtiveram respectivamente 4,45% e 5,45 % respectivamente. Em estudo realizado por Zoulias et al. (2000) elaborando biscoitos com farinha de linhaça, observaram que o teor de cinzas do biscoito foi de 1,9.

Todas as formulações a base de gel de chia, apresentaram maiores teores de umidade, devido a sua imersão em água e a utilização do gel nas formulações. No entanto, segundo a Resolução - CNNPA nº 12, de 1978, os biscoitos devem apresentar um teor de umidade de até 14 % e, sendo assim, todas as formulações estão dentro do padrão exigido.

Para as fibras, os biscoitos com 40 % de grão e de 40% farinha apresentaram os maiores valores (4,35 % e 4,25 %), apresentando diferenças

significativas ($p < 0,05$) devido a maior quantidade de chia na formulação. Segundo Resolução - RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012, é um produto considerado fonte de fibras, pois possui mais 2,5 % de fibras.

A solubilidade e insolubilidade das proteínas foram maiores nos biscoitos com 40 % de grão, seguido dos com 40 % de farinha, sendo que para as proteínas solúveis dos biscoitos com gel foram menores, indicando que a formação de gel dificulta a solubilidade das proteínas (Tab. 3). Observou-se também, que quanto menor a quantidade de grãos de chia nas formulações, menor foi detectada a insolubilidade das proteínas.

Ao analisar a digestibilidade proteica observou-se uma maior porcentagem nos biscoitos com 20 % de gel e 40 % de gel, porém todas as formulações apresentaram significativa digestibilidade ($p < 0,05$), uma vez que para ser considerada digerível, uma proteína deve apresentar teores acima de 70 %.

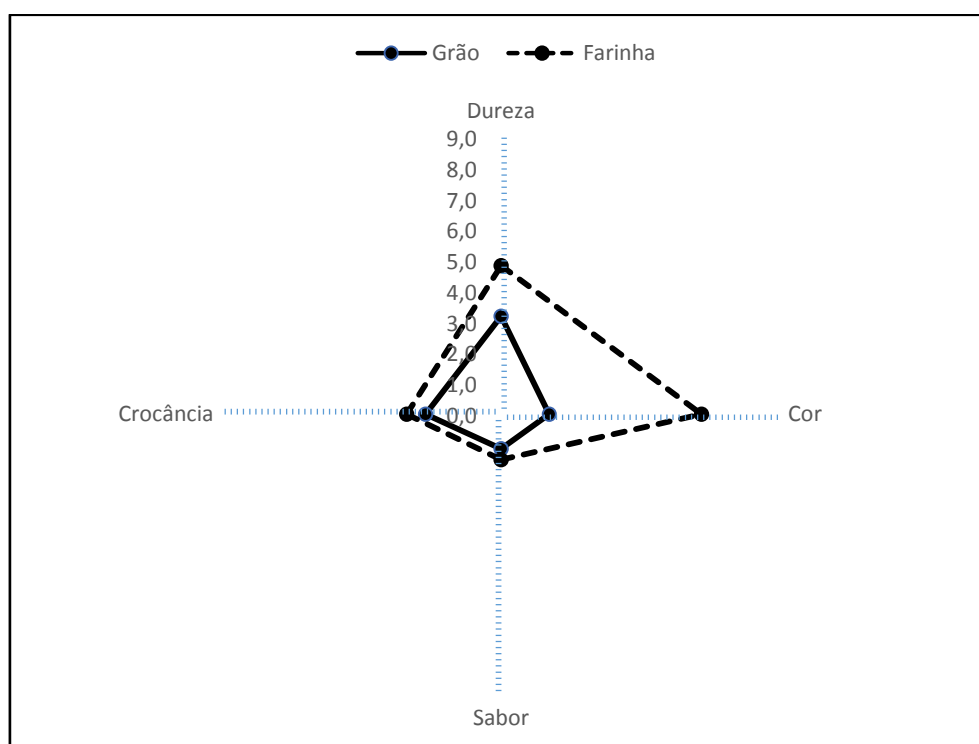
O teor de antioxidantes foi maior nos biscoitos elaborados com 40 % de grão e 10 % de gel. Os compostos fenólicos foram maiores nos biscoitos com 40 % de farinha e 20 % de farinha. Bick et al (2014) encontrou 7,6 % de antioxidantes e para fenóis totais 46,2 % em biscoitos elaborados com 10 % de farinha de quinoa. Uma hipótese para o resultado deste estudo ser maior em biscoitos com farinha do grão é que com a moagem, os compostos bioativos presentes na amostra foram extraídos do interior do grão, tornando a amostra com maior biodisponibilidade destes compostos.

Os lipídeos apresentaram correlação significativa ($p < 0,05$) com os antioxidantes, sendo inversamente proporcional, ou seja, quanto maior o teor de lipídeos menor foram os teores de antioxidantes ($p < 0,012$; -0,988), já com os fenóis totais apresentaram comportamento diretamente proporcional ($p < 0,001$; 0,999), sendo que, conforme aumenta os teores de lipídeos, também aumentam os teores de fenóis totais.

3.3 Análise sensorial dos biscoitos

Para os testes sensoriais foram escolhidos os biscoitos com 40% de grão e de 40% farinha de chia, pois ambos apresentaram melhores resultados para fibras, proteínas, digestibilidade proteica, antioxidantes. Os resultados do teste PDO estão apresentados na Figura 1.

Figura 1. Perfil do teste PDO de biscoitos elaborados com grão e farinha de chia para os atributos dureza, cor, sabor e crocância.



Legenda: Dureza: 1-duro 9-macio; Cor: 1-claro 9-escuro; Sabor: 1-característico 9-não característico; Crocância: 1- característico; 9- não característico.

Os biscoitos com grão apresentaram menor intensidade nos atributos cor (mais claro) e dureza (menor maciez), já para os atributos sabor e crocância tanto o biscoito com grão, quanto o com farinha foram caracterizados no termo ligeiramente característico.

Como já era esperado, no biscoito com chia na forma de farinha o atributo cor, sofreu a interferência da moagem do grão, em que a chia na forma de farinha homogeneizou-se melhor na mistura da massa, apresentando coloração mais escura.

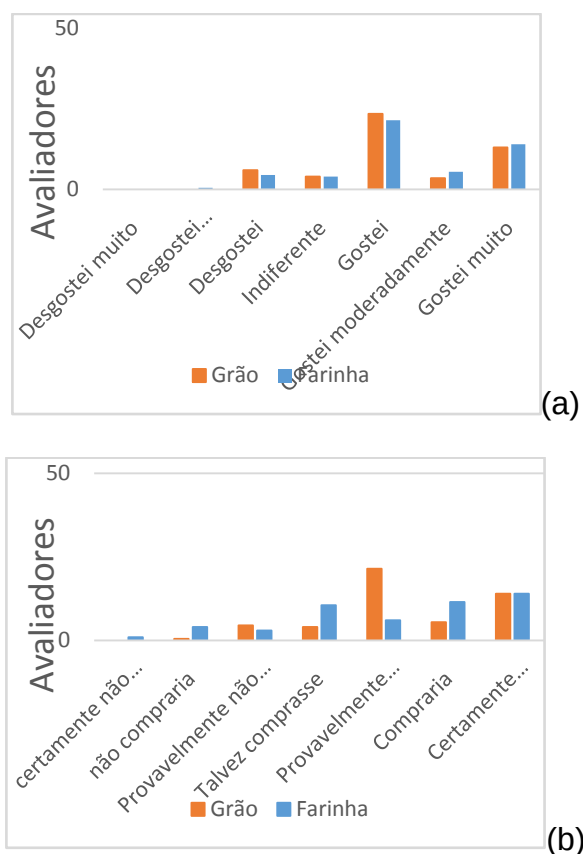
A cor caracterizada sensorialmente apresentou correlação diretamente proporcional ($p < 0,001$; $0,999$) aos teores de cinzas, quando aumentou os valores na escala para o atributo cor, aumentou proporcionalmente os teores de cinzas. Comportamento contrário ocorreu com os carboidratos, em que quando aumentou os valores do atributo cor, caracterizando como mais escuro, observou-se uma redução nos teores de carboidratos ($p < 0,012$; $-0,988$).

Possivelmente esse fato, foi devido a substituição da farinha de arroz pela chia (VIEIRA et.al, 2015).

3.4 Índice de aceitabilidade e Intenção de compra

Os dados referentes a aceitabilidade e intenção de compra dos biscoitos de grão e farinha de chia estão apresentados na Figura 2.

Figura 2. Frequência do teste de aceitação (a) e intenção de compra (b) dos biscoitos com grão e farinha de chia



Avaliando a Figura 2, observa-se que tanto os biscoitos com grão e com farinha de chia apresentaram 40 % dos termos hedônicos de "Gostar dos produtos". Isso vem de encontro ao índice de aceitabilidade que foi de 75,3 % para os biscoitos com grão e 77 % para os biscoitos com farinha, para que um produto seja considerado como aceito em termos de suas propriedades sensoriais é necessário que obtenha um índice de aceitabilidade de, no mínimo, 70 % (GOULARTE,2002).

Para a intenção de compra (Figura 2), os biscoitos com grãos de chia apresentaram 41 % de provavelmente compraria, enquanto que os biscoitos

com farinha obtiveram 31,5 %. Isso reflete que os biscoitos com grão apresentaram maior apelo de intenção de compra.

4.0 Disco e Difusão, Mínima concentração inibitória (CIM) e Máxima concentração bactericida (CBM)

Os resultado do teste Disco Difusão, CIM e CBM podem ser visualizados na Tabela 4.

Tabela 4. Atividade antimicrobiana de extratos de chia frente a *Salmonella typhimurium*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 e *S. aureus*.

Bactérias	Concentrações dos extratos de chia								
	10mg/mL			1mg/mL			0,1mg/mL		
	Disco Difusão	CIM	CBM	Disco Difusão	CIM	CBM	Disco Difusão	CIM	CBM
<i>Salmonella typhimurium</i>	A	I	C	A	I	C	A	C	C
<i>L. monocytogenes</i>	A	I	C	A	C	C	A	C	C
<i>E. coli</i> O157:H7	A	C	C	A	C	C	A	C	C
<i>S. aureus</i>	A	C	C	A	C	C	A	C	C

Legenda: A – ausência de halo de inibição no teste de disco difusão, C – crescimento microbiano, I - Inibição do crescimento, M – Morte microbiana.

No teste de Disco Difusão o extrato de chia não apresentou nenhum efeito frente as bacterias *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 e *Staphylococcus aureus*, não sendo verificados halos de inibição. Este resultado indica a inexistência de ação antimicrobiana dos extratos contra os micro-organismos avaliados, porém, como a técnica de difusão em ágar é um teste qualitativo, baseada na difusão das amostras pelo ágar para que estes exerçam a ação, a falta de atividade antimicrobiana pode ser atribuída à falta de difusibilidade dos extratos (ARAÚJO, 2011). Dessa forma, para verificar de forma mais especifica a existência de atividades antimicrobianas do extrato, também foram realizadas as técnicas CIM e CBM.

Na técnica CIM o extrato de chia, apresentou efeito bacteriostático, para as bactérias *Salmonella* nas diluições 10 mg/mL e 1 mg/mL, e para *Listeria* na diluição 10 mg/mL. O efeito bacteriostático significa, que inibiu o

desenvolvimento da bactéria, diferente do efeito bactericida verificado pelo CBM, que é a morte total, nesse caso o extrato de chia não apresentou efeito bactericida para nenhuma das bactérias estudadas. O efeito inibitório verificado para *Salmonella typhimurium* e *Listeria monocytogenes* tem grande relevância considerando o caráter patogênico destes micro-organismos sendo *Salmonella* um dos mais envolvidos em casos de doenças de origem alimentar em nível mundial e *Listeria monocytogenes* uma causadora de grave doença de origem alimentar com taxa de mortalidade de até 30% em população de risco. Em relação as bactérias *S. aureus* e *E.coli* o extrato não obteve resultados tanto para efeito bacteriostático (CIM), quanto para bactericida (CBM).

O fato do extrato de chia ter apresentado efeitos no teste de microdiluição e não ter apresentado no disco difusão, podem ser explicados pela dificuldade de difusão do extrato no meio de cultura. Bandeira et al (1998) observaram que a dificuldade de difusão de produtos naturais pode estar relacionada à sua hidrossolubilidade e à sua massa molecular. Rios et al. (1988) argumentaram que as pesquisas sobre atividade antimicrobiana de extratos de plantas e de substâncias isoladas encontram problemas devido à característica lipofílica de algumas amostras.

Em um estudo realizado por Burt (2004) também foi observado que a espécie *Escherichia coli* apresentou-se como a mais resistente, pois não foi constatado efeito inibitório dos óleos essenciais de *C. nardus*, e *Z. officinale* sobre esse micro-organismo nas concentrações avaliadas, sabe-se que, na maioria das vezes, bactérias Gram-negativas são menos sensíveis aos óleos essenciais e extratos que bactérias Gram-positivas, pois a parede celular das Gram-negativas é rica em polissacarídeos o que inibe a penetração das substâncias antimicrobianas.

5. CONCLUSÃO

A chia é uma boa fonte nutricional, tanto para consumo *in natura* como para implementação em outros alimentos. Os biscoitos elaborados com chia, obtiveram resultados em sua composição química demonstrando seu potencial nutricional e sensorial, podendo ser uma alternativa de praticidade na alimentação do consumidor. Os biscoitos elaborados com maiores quantidades

de 40 % de grãos e 40 % de farinha apresentaram potencial antioxidante e de compostos fenólicos, porém ambos podem ter sido afetados pelo processo de cocção. Estes biscoitos apresentaram um potencial viável para alimentos glúten *free*, indicado para grupos específicos de pessoas, como mais uma alternativa de consumo. O extrato de chia, apresentou resultados satisfatórios frente as bactérias *Salmonella* e *Listeria*, agindo com potencial bacteriostático.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A chia pode ser considerada uma boa fonte nutricional, tanto para consumo *in natura* como para implementação em outros alimentos, devido a presença de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, antioxidantes, compostos fenólicos, proteínas e etc. A chia pode ser uma aliada na redução de peso, pois quanto em contato com a água tem a capacidade de formar gel, devido a presença de polissacarídeos em sua composição e esse gel quando ingerido causa saciedade.

Os biscoitos elaborados com chia e farinha de arroz obtiveram bons resultados em sua composição química e sensorial, podendo ser uma alternativa de praticidade na alimentação do consumidor, principalmente para os portadores da doença celíaca, uma vez que os biscoitos são sem glúten.

O extrato de chia, apresentou resultados satisfatórios frente as bactérias *salmonella* e *listeria*, nos testes de antimicrobianos, porém, estudos mais aprofundados devem ser realizados para verificar este efeito.

Sendo assim, a chia é uma ótima opção para consumo, tanto *in natura* como para elaboração de novos produtos, visto que sua composição química é rica em compostos que podem auxiliar na prevenção e manutenção de algumas doenças.

REFERÊNCIAS

ABDOUL-LATIF, F.M. et al. **Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and methanol extract of Alaedini A, Green PH. Narrative review: celiac disease: understanding a complex autoimmune disorder.** Ann Intern Med. Alimentos, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2013.

ANVISA. Ministério da Saúde. **Resolução no 54.** Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial da União, Brasília, 13 de nov. 2012.

ARAÚJO, Isabella Santos. **Atividade antimicrobiana de plantas aromáticas que ocorrem no estado do Pará.** 2011. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 14141: **Escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas.** Rio de Janeiro, 1998.

BANDEIRA, M. F. C. L.; OLIVEIRA, M. R. B.; PIZZOLLITO, A. C.; BENATTI NETO, C.; J. Bras. Clin. Est. Odontol. 1998, 3, 46. BARA, M.T.F.; VANETTI, M.C.D. **Estudo da atividade antibacteriana de plantas medicinais, aromáticas e corantes naturais.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v.7-8, p.21- 34, 1998. Disponível em: Acesso em: 14 out. 2011. doi: 10.1590/S0102-695X1998000100003.

BARICEVIC, D.SS.; DELLA LOGGIA, R.; TUBARO, A.; SIMONOVSKA, B.; KRASNA, A.; ZUPANCIC, A. **Tropical anti-inflammatory activity of Salvia officinalis L. leaves: the relevance of ursolic acid.** Journal of Ethnopharmacology, Lausanne, v.75, n 2-3, p. 123-132. 2001.

BRAND-WILLIAMS W, CUVELIER ME, BERSET C. **Use of free radical method to evaluate antioxidant activity.** LebensmWiss Technol. 1995; 28: 25-30.

BRASIL.Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes.** Brasília, SNDA . Brasília, SNDADNDV/CLAV, 1992, CLAV, 1992, 365p

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – **Instrução Normativa nº 60, de 22/12/2011,** publicada no D.O.U. em 23/12/2011.

BURT, S. **Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods.** International Journal of Food Microbiology, v. 94, n. 03, p. 223-253, 2004.

CARVALHO, H.C.. **Atividade antibacteriana em plantas com indicativo etnográfico condimentar em Porto Alegre, RS/Brasil.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 7, n. 3, p. 25-32, 30 nov. 2004.

COELHO, M.S.; MERCEDES, M.L. **Revisão: Composição química, propriedades funcionais e aplicações tecnológicas da semente de chia (*Salvia hispanica* L) em alimentos.** Braz. J. Food Technol, Campinas, v. 17, n. 4, p.259-268, 2015. comercializadas no município de Niterói, RJ, Brasil, Ciência e Agrotecnologia, v. 31, n. 4, p.1226-1230, 2007.

CRUZ, C.D.; MARTINEZ, M.B.; DESTRO, M.T. ***Listeria monocytogenes*: um agente infeccioso ainda pouco conhecido no Brasil***. Alim. Nutr. Issn 0103-4235 v. 19, n. 2, p.195-206, abr. 2008.

DEGÁSPAR, C.H; W ASZCZYNSKY, J.N. **Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos.** Visão Acadêmica, v. 5, n. 1,p. 33-40, 2004.

DJIPA CD, DELMEE M, Quentin-Leclercq J 2000. **Antimicrobial Activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (Myrtaceae).** J Ethnopharmacol 71:307-313.

DSMZ. **German Collection of Microorganisms and Cell Cultures.** Bacterial Nomenclature up-to-date: Approved lists, validation lists. Disponível em: <<http://www.dsmz.de/bacterial-diversity/prokaryotic-nomenclature-up-to-date/prokaryotic-nomenclature-up-to-date.html>>. Acessado: agosto de 2016.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos.** Curitiba: Editora Champagnat, 123 p. 1996.

FERREIRA, T.B.R. Caracterização nutricional e funcional de chia (*Salvia hispânica*) e sua aplicação no desenvolvimento de pães. Dissertação de Mestrado.

GULARTE, M.A. **Manual de análise sensorial.** Pelotas: Edigraf UFPel, 2002.

HEISLER, Greice Elusa Rathke et al. **Viabilidade da substituição da farinha de trigo pela farinha de arroz na merenda escolar.** Alim. Nutr., Araraquara, Araraquara, v. 19, n. 3, p.299-306, set. 2008.

HUSSEIN, M.M., HASSAN, F., DAYM, H.H., SALAMA, A., SALAMA, ENAB, A.K., EL-GALIL, A. (2011). **Utilization of some plant polysaccharides for improving yoghurt consistency.** Annals of Agricultural Science, 56, 97–103.

Isolation and characterization of proteins from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 61, p. 193-201, 2013.

IXTAINA, V. Y.; VEGA, A.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C.; GIMENO, M.; BÁRZANA, E.; TECANTE, A.
Supercritical carbon dioxide extraction of oil from Mexican chia seed

(*Salvia hispanica* L.); **characterization and process optimization.** *Journal of Supercritical Fluids*, v. 55, p. 192-199, 2010.

JANSEN, A.M.; SCHEFFER, J.J.C.; BAERHEIM, S. A. **Antimicrobial activity of essential oils from Greek Sideritis species**, *Pharmazie*, v. 45, p. 70, 1987.

JIMÉNEZ, F.E.G.; BELTRÁN-OROZCO, M.C.; MARTÍNEZ, V.M.G. **The antioxidant capacity and phenolic content of chia's (*Salvia hispanica* L.) integral seed and oil.** *Journal of Biotechnology*, v. 150, p. 315, 2010.

KALEMBA, D.; KUSEWICZ, D.; SWIADER, K. **Antimicrobial properties of the essential of *Artemisia asiatica nakai*.** *Phytother Res*, v. 16, p. 288-291, 2002.

KOTZE, L.M.S.; Barbieri, D. Doença celíaca. In: Kotze LMS, Barbieri D. **Afeções Gastrointestinais da Criança e do Adolescente.** 1ª edição. Rio de Janeiro:

LACIAR, A.L.; HASUOKA, R.P.; CORREA, S. M.; MIRANDA, A.M.; CENTORBI, O.N.P. **Symptomatic hydrocephalus in a newborn infected with *Listeria monocytogenes*.** *Brazilian Journal Of Microbiology*, v. 31, n. 9, p.9-11, 2000.

MANTILLA, Samira Pirola Santos et al. **OCORRÊNCIA DE *Listeria* spp. EM AMOSTRAS DE CARNE BOVINA MOÍDA COMERCIALIZADAS NO MUNICÍPIO DE NITERÓI, RJ, BRASIL:** Occurrence of *Listeria* spp. in bovine ground meat samples commercialized in Niterói, RJ, Brazil. *Ciênc. Agrotec., Lavras, Lavras*, v. 31, n. 4, p.1226-1230, jul. 2007.

MAZZUCO, H.; SILVA, R.D.M.; BERCHIERI, J.R.A.; OLIVEIRA, E. **Utilização da própolis e álcool etílico no controle de *Salmonella* em rações avícolas.** *Scientia Agrícola*, v.53, n.1, p.1-7, 1996.

MENDES, F. Q et al. **Digestibilidade protéica e caracterização bromatológica de linhagens de soja com ausência ou presença do inibidor de tripsina kunitz e das isozimas lipoxigenases.** *Biosci. J, Uberlândia*, v. 23, n. 1, p.14-21, jan. 2007. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

MICHAEL, Geovanna Brenner et al. **Sorotipos de *salmonella* isolados em uma propriedade de suínos de terminação no sul do brasil.** *Ciência Rural, Santa Maria, Santa Maria-rs*, v. 32, n. 3, p.525-527, 29 ago. 2001.

MUÑOZ, L.A.; COBOS, A.; DIAZ, O.; AGUILERA, J.M. **Chia seeds: microstructure, mucilage extraction and hydration.** *Journal of Food Engineering*, 108, 216–224, 2012. Revinter, 2003, Cap. 27, p. 189-208.

REYES-CAUDILLO, E.; TECANTE, A.; VALDIVIA-LÓPEZ, M.A. **Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds.** *Food Chemistry*, v. 107, p. 656-663, 2008.

RIOS, J. L.; RECIO, M. C.; VILLAR, A.; J. *Ethnopharmacol.* 1988, 23, 127.

SANDOVAL-OLIVEROS, M.R.; PAREDES-LÓPEZ, O. SIVARAMAKRISHNAN, H. P.; SENGE, B.; CHATTOPADHYAY, P. K. **Rheological properties of rice dough for making rice bread.** *Journal of Food Engineering*, Meppel, v. 62, n. 1, p. 37-45, 2004.

SIMONETTI, E.; ETHUR, M.E.; CASTRO, L.C.; KAUFFMANN, C.; GIACOMIN, A.C.; LEDUR, A.; AROSSI, K.; PACHECO, L.A.; GOETTERT, M.I.; FALEIRO, D.; FREITAS, E.M. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anomala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*.** *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v. 18, n. 1, p. 9-18, 2015.

Sivaramakrishnan, H.P.; Senge, B.; Chattopadhyay, P.K. **Rheological properties of rice dough for making rice bread.** *Journal of Food Engineering*, v. 62, n. 1, p. 37-45, 2004.

SWAIN T, HILLIS WE. **The phenolic constituents of *prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents.** *J. Sci. Food Agric.* 1959; 10: 63-68.

TAVARES, Bruna Oliveira et al. **Stability of gluten free sweet biscuit elaborated with rice bran, broken rice and okara.** *Food Science And Technology*, Campinas, v. 36, n. 2, p. 296-303, 04 mar. 2016.

TEIXEIRA, Lílian Viana. **Análise sensorial na indústria de alimentos.** *Rev. Inst. Latic.* "cândido Tostes, Minas Gerais, v. 64, n. 366, p. 12-21, fev. 2009.

VÁZQUEZ-OVANDO, J.A., ROSADO-RUBIO, J.G., CHEL-GUERRERO, L.A., BETANCUR-ANCONA, D.A. (2009). **Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.).** *LWT - Food Science and Technology*, 42, 168-173.

WALSH, C. **Antibiotics: Actions, Origins, Resistance,** ASM Press: Washington, 2003.

ZOULIAS, EI, PIKNIS, S., & OREOPOULOU, V. (2000). **Efeito da substituição do açúcar por polióis e acesulfame-K nas propriedades de biscoitos baixo teor de gordura.** *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 (14), 2049-2056.

APÊNDICES

Apêndice 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ANÁLISE SENSORIAL DE BISCOITOS TIPO APERITIVO DE CHIA

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa sobre **BISCOITOS FUNCIONAIS ELABORADOS A PARTIR DE CHIA**.

Esta análise serve para as pessoas identificarem sua preferência quanto aos biscoitos produzidos com chia. Para que você possa decidir se quer participar ou não deste estudo, precisa conhecer seus riscos e implicações.

OBJETIVO DO ESTUDO

Verificar a aceitação e a preferência do consumidor em relação aos biscoitos tipo aperitivos de chia.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Você receberá três biscoitos, ambos com formulações diferentes, em pequenas porções (aproximadamente 25g), em pratos descartáveis, para realizar a análise sensorial. Os pratos foram codificados com números aleatórios. A análise sensorial será realizada através de um teste de aceitação afim de identificar qual a sua preferência.

RISCOS

Poderá ter algum risco a sua saúde, caso tenha algum componente no biscoito o qual você seja intolerante.

BENEFÍCIOS

Você estará consumindo um biscoito funcional, rico em fibras e compostos antioxidantes. O biscoito se consumido regularmente, trará benefícios a sua saúde.

CARÁTER CONFIDENCIAL DOS REGISTROS

Seu nome não será revelado ainda que informações sejam utilizadas para propósitos educativos ou de publicação, que ocorrerão independentemente dos resultados obtidos.

CUSTOS

Não haverá qualquer custo ou forma de pagamento para sua participação no estudo.

BASES DA PARTICIPAÇÃO

É importante que você saiba que a sua participação neste estudo é completamente voluntária e que você pode recusar-se a participar ou interromper sua participação a qualquer momento.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTOS

Li as informações acima e entendi o propósito deste estudo assim como os riscos potenciais da participação no mesmo. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, por intermédio deste, dou livremente meu consentimento para participar neste estudo.

Eu recebi uma cópia assinada deste formulário de consentimento.

____/____/_____

(Assinatura do Avaliador) dia mês ano

____/____/_____

(Assinatura do Pesquisador) dia mês ano

Apêndice 2 - AVALIAÇÃO SENSORIAL BISCOITOS TIPO APERITIVOS DE CHIA

Nome: _____

Data: ____/____/____

Gênero: () M () F

Faixa etária: () 15 – 25 anos () 26 – 35 anos

() 36 – 45 anos () acima de 45 anos

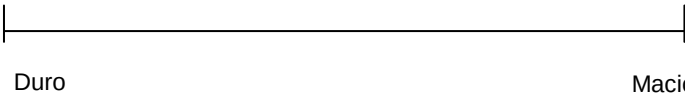
Instrução:

Você está avaliando amostras de biscoitos tipo aperitivos de chia, codificadas. Você deve colocar um traço vertical na escala, escolhendo a melhor posição que reflete o julgamento para cada termo descritivo.

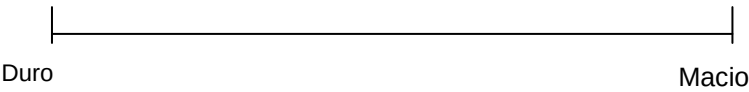
Dureza

Amostra

239



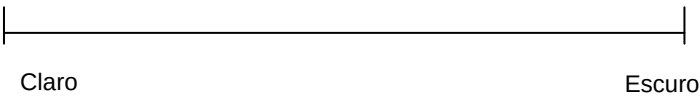
147



Cor

Amostra

239



Apêndice 3: Aceitação e Intenção de compra de biscoitos de chia

Nome: _____
M () F

Data: ____/____/____

Gênero: ()

147

Claro

Escuro

Sabor

Amostra

239

Característico

Não Característico

147

Característico

Não Característico

Faixa etária: () 15 – 25 anos () 26 – 35 anos () 36 – 45 anos
() Superior a 45 anos

I – Você está recebendo duas amostras codificadas (239) e (147) de Biscoitos tipo aperitivo de chia. Por favor, prove e avalie o quanto você gostou do produto, marcando com um **X** a alternativa que mais lhe convier:

Amostra 239

- 7 - () Gostei muito
 6 - () Gostei moderadamente
 5 - () Gostei
 4 - () Indiferente
 3 - () Desgostei
 2 - () Desgostei moderadamente
 1 - () Desgostei muito

Amostra 147

- 7 - () Gostei muito
 6 - () Gostei moderadamente
 5 - () Gostei
 4 - () Indiferente
 3 - () Desgostei
 2 - () Desgostei moderadamente
 1 - () Desgostei muito

Quanto a sua intenção de compra Quanto a sua intenção de compra
 produto **239**, marque com um X: frente ao produto

- 7 - () Certamente compraria 7 - ()
 6 - () Compraria 6 - ()
 5 - () Provavelmente compraria 5 - ()
 4 - () Talvez comprasse 4 - ()
 3 - () Provavelmente não compraria 3 - ()
 2 - () Não compraria 2 - ()
 1 - () Certamente não compraria 1 - ()

intenção de compra frente ao
 produto **147**, marque com um X:

- 7 - () Certamente compraria 7 - ()
 6 - () Compraria 6 - ()
 5 - () Provavelmente compraria 5 - ()
 4 - () Talvez comprasse 4 - ()
 3 - () Provavelmente não compraria 3 - ()
 2 - () Não compraria 2 - ()
 1 - () Certamente não compraria 1 - ()

