



BIOTRANSFORMAÇÃO DE FARINHAS DE CASTANHA-DO-BRASIL E DE BABAÇU POR PROCESSO FERMENTATIVO PARA OBTENÇÃO DE PRODUTOS CARREADORES DE PROBIÓTICOS E COM MELHORES PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES

Palavras-Chave: babaçu; castanha-do-Brasil; fermentação.

Autores (as):

Cecília Midori H. Henriques; Beatriz V. Costa; Caroline Lopes; Letícia N. da Cruz, FEA - UNICAMP

Prof. Dr. Ruann Janser Soares de Castro (orientador), FEA - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A utilização de matérias-primas do Bioma Amazônico como substratos para processos fermentativos apresenta-se como uma estratégia inovadora para obtenção e diversificação de ingredientes produzidos por comunidades tradicionais desta região. Nesse contexto, a presente pesquisa teve como objetivo utilizar farinhas de castanha-do-Brasil e de mesocarpo de babaçu como substratos para fermentação pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* e avaliar a viabilidade destes insumos como carreadores de micro-organismos probióticos, além de verificar o impacto da fermentação sobre as propriedades antioxidantes e na composição de macronutrientes das farinhas.

METODOLOGIA:

As farinhas de babaçu e de castanha-do-Brasil utilizadas como substrato para o processo fermentativo foram adquiridas da Rede de Cantinas (marca Vem do Xingu) (Altamira, Pará, Brasil). A levedura liofilizada *S. boulardii* (Repoflor® 200, Legrand Pharma, Brasil) foi utilizada como agente biotransformador. Para a ativação da levedura e preparação do pré-inóculo, o conteúdo de uma cápsula foi disperso em meio YPD (Yeast Peptone Dextrose) e cultivado por quatro gerações consecutivas a 30°C sob agitação de 150 rpm, de acordo com o método descrito por Adeyanju et al. (2019).

A fermentação das farinhas foi realizada de acordo com as seguintes etapas: i) preparação do substrato (10 g de farinha foram acondicionados em frascos Erlenmeyer de 250 mL, autoclavados 121°C por 15 min e dispersos em 100 mL de água destilada estéril), ii) inoculação da levedura ativada (1% do pré-inóculo na concentração de 10^9 células mL⁻¹) e iii) incubação a 30°C sob agitação de 150 rpm. Para avaliação da cinética de crescimento da levedura, a fermentação foi avaliada por um período de 48 h, com amostras recolhidas a cada 2 h até 12 h de fermentação e então a cada 12 h até completar 48 h. O pH das amostras foi aferido e uma alíquota foi plaqueada para contagem de células viáveis pela técnica *drop plate* utilizando meio ágar YPD.

Para a avaliação das propriedades antioxidantes, o processo fermentativo foi avaliado por 12 h, com amostras recolhidas a cada 4 h. As amostras foram liofilizadas e armazenadas sob congelamento. A amostra não fermentada foi utilizada como controle.

A caracterização físico-química das farinhas fermentadas e não fermentadas de babaçu e de castanha do Brasil foi realizada utilizando os métodos da Association of Official Analytical Chemists (AOAC). O teor de carboidratos foi calculado pela diferença dos demais componentes previamente determinados.

Para a avaliação das propriedades antioxidantes, as farinhas liofilizadas foram dissolvidas em água ou solução tampão na concentração de 10 mg mL^{-1} , incubadas em banho de ultrassom à temperatura ambiente por 10 min e centrifugadas. As análises foram realizadas com o sobrenadante obtido.

A atividade antioxidante foi determinada pelos métodos ABTS (Re et al. 1999), DPPH (Brand-Williams, Cuvelier & Berset, 1995, com as modificações propostas por de Matos, Novelli & de Castro, 2021) e FRAP (Benzie & Strain, 1996 com as modificações propostas por Alves Magro & de Castro, 2020) e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol TE g}^{-1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A contagem de células viáveis nos produtos fermentados em um período de 48 h está representada na **Figura 1**. Para ambas as farinhas, o perfil de crescimento do micro-organismo apresentou comportamento semelhante. A fase lag, na qual a levedura adapta-se ao meio e não apresenta produção de biomassa expressiva, estende-se por um período de 2 h nos dois substratos. Em seguida, o crescimento entra na fase logarítmica, em que há máximo crescimento celular, atingindo valores na ordem de $7,78 \text{ log UFC mL}^{-1}$ para o babaçu e $8,09 \text{ log UFC mL}^{-1}$ para a castanha-do-Brasil. A partir de 12 h de fermentação, o número de células não apresenta variação considerável, o que indica que o crescimento atingiu a fase estacionária.

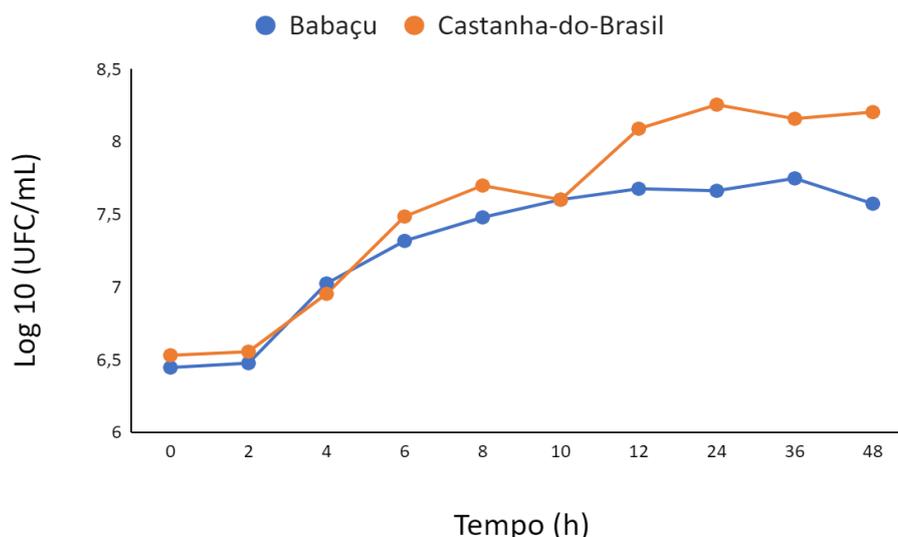


Figura 1 - Contagem das células viáveis em placa da levedura *S. boulardii* durante cinética de fermentação, utilizando as farinhas de babaçu e de castanha-do-Brasil como substratos.

Observa-se que a levedura apresentou um bom crescimento nos dois substratos avaliados, e a farinha de castanha-do-Brasil permitiu uma maior produção de biomassa quando comparada a de babaçu. Esse resultado pode estar relacionado com um melhor equilíbrio de nutrientes, como proteínas e lipídios, para a farinha de castanha, quando comparada à farinha de babaçu, que possui majoritariamente carboidratos em sua composição. A composição centesimal das farinhas não fermentadas e fermentadas por 12 h está apresentada na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Composição centesimal das farinhas de babaçu e de castanha-do-Brasil.

Parâmetro	Farinha de babaçu	Farinha de babaçu fermentada	Variação percentual	Farinha de castanha-do-Brasil	Farinha de castanha-do-Brasil fermentada	Variação percentual
Carboidratos	96,41 ± 0,26	96,63 ± 0,03	0,23	15,03 ± 0,63	14,06 ± 0,55	-6,47
Proteínas	1,77 ± 0,07	2,17 ± 0,06	22,24	33,65 ± 0,22	33,68 ± 0,13	0,09
Lipídios	0,64 ± 0,64	0,29 ± 0,06	-54,02	44,62 ± 0,85	45,77 ± 0,55	2,59
Cinzas	1,18 ± 1,18	0,91 ± 0,07	-23,05	6,70 ± 0,05	6,49 ± 0,03	-3,17

Resultados em termos percentuais apresentados como média (n = 3) ± desvio padrão.

Considerando a variação percentual dos componentes das farinhas após o processo fermentativo, ficou evidente que a fermentação promoveu alterações destacáveis na farinha de babaçu, com aumento de 22% no teor de proteínas, diminuição de 54% no teor de lipídios e 23% no teor de cinzas. Por outro lado, a composição da farinha de castanha-do-Brasil praticamente não foi afetada pela fermentação.

Os valores de pH das amostras das farinhas de castanha e de babaçu também foram acompanhados durante a cinética de fermentação e estão apresentados na **Tabela 2**. Pelo exposto, ficou evidente que há uma pequena variação nos valores de pH dos meios ao longo da fermentação, sendo a queda um pouco maior para o meio contendo farinha de castanha-do-Brasil.

Tabela 2 - Variação do pH das farinhas de babaçu e de castanha-do-Brasil fermentadas pela levedura *Saccharomyces boulardii* ao longo da cinética de fermentação.

Amostra	Tempo (h)									
	0	2	4	6	8	10	12	24	36	48
Farinha de babaçu	5,44	5,06	5,10	5,03	5,15	5,22	5,16	6,25	6,00	5,80
Farinha de castanha-do-Brasil	6,16	5,91	5,97	5,81	5,59	5,59	5,66	5,40	5,35	4,80

Para atividade antioxidante, a farinha de babaçu destacou-se pelo alto potencial quando comparada à farinha de castanha-do-Brasil (**Tabela 3**). Matérias-primas vegetais são especialmente ricas em compostos bioativos, como os fenólicos, os quais possuem reconhecido poder antioxidante; estes compostos estão presentes em grandes quantidades no mesocarpo do babaçu (FIGUEREDO, 2019). Devido ao tratamento térmico inicial intenso realizado nas farinhas, com o objetivo de eliminar quaisquer possíveis contaminações com microorganismos nativos, há a degradação de parte dos compostos bioativos presentes.

Isso explica o porquê do valor de atividade antioxidante detectado no primeiro ponto da cinética de fermentação ser inferior em comparação à farinha in natura (não esterilizadas). Além disso, a redução da atividade também pode estar relacionada ao metabolismo do micro-organismo, uma vez que para se multiplicar e produzir biomassa, a levedura pode utilizar os compostos bioativos como fonte de carbono e nitrogênio. Desta maneira, ao longo da fermentação, à medida que a levedura cresceu, a disponibilidade de compostos responsáveis pela atividade antioxidante diminuiu. Contudo, observa-se um aumento considerável da atividade antioxidante na amostra de 8h; esse aumento pode estar relacionado à liberação de compostos antioxidantes como resultado do metabolismo da levedura ou à biotransformação de componentes do substrato (SURYAVANSHI et al., 2013).

Tabela 3 - Atividade antioxidante ($\mu\text{mol TE g}^{-1}$) das farinhas de babaçu e de castanha-do-Brasil fermentadas pela levedura *S. boulardii* ao longo da cinética de fermentação.

Tempo (h)	Farinha de babaçu			Farinha de castanha-do-Brasil		
	ABTS	DPPH	FRAP	ABTS	DPPH	FRAP
Farinha in natura	202,72 ± 6,55	130,77 ± 0,39	223,86 ± 3,64	12,58 ± 0,21	6,32 ± 0,54	3,46 ± 0,35
0	149,47 ± 2,11	114,99 ± 2,01	133,64 ± 3,09	10,65 ± 0,32	5,68 ± 0,09	4,22 ± 0,31
2	76,04 ± 3,17	74,90 ± 3,31	76,38 ± 1,69	12,67 ± 0,63	7,32 ± 0,30	4,48 ± 0,06
4	74,15 ± 0,85	61,52 ± 2,35	68,24 ± 1,09	12,11 ± 0,25	6,65 ± 0,12	6,52 ± 0,69
6	77,84 ± 2,06	64,55 ± 1,33	69,62 ± 0,92	11,48 ± 0,22	7,23 ± 0,31	6,41 ± 0,17
8	143,65 ± 3,84	111,10 ± 1,54	126,11 ± 1,73	12,97 ± 0,60	7,18 ± 0,07	7,27 ± 0,15
10	76,67 ± 4,28	63,88 ± 1,63	70,43 ± 1,43	12,42 ± 0,06	7,07 ± 0,16	9,93 ± 0,32
12	66,53 ± 3,06	63,43 ± 1,04	63,67 ± 1,02	12,15 ± 0,42	7,41 ± 0,12	9,32 ± 0,24

A atividade antioxidante da amostra controle de castanha-do-Brasil também está relacionada à presença de compostos antioxidantes como compostos fenólicos e selênio (SCHONS, 2017; COSTA et al., 2011). No entanto, observou-se que, ao longo da cinética de fermentação, não há variação expressiva nos valores, como ocorreu com a farinha de babaçu.

CONCLUSÕES:

A fermentação das farinhas de babaçu e castanha-do-Brasil pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* resultou em potenciais produtos carreadores de probióticos, com destaque para a farinha de castanha-do-Brasil. Observou-se alterações na composição das farinhas, relacionados ao consumo, liberação e transformação de diversos compostos ao longo do processo fermentativo, além da própria produção de biomassa; alterações mais proeminentes foram detectadas na farinha de babaçu. Embora a fermentação tenha apresentado um efeito pouco significativo sobre as propriedades antioxidantes da farinha de castanha-do-Brasil, há um aumento da atividade antioxidante da farinha de babaçu após 8h de fermentação. Este trabalho demonstrou que é possível obter produtos carreadores de probióticos e com propriedades antioxidantes a partir de espécies nativas da região Amazônica, uma excelente alternativa para agregar valor às espécies nativas e contribuir com a bioeconomia das comunidades ribeirinhas.

BIBLIOGRAFIA

- ADEYANJU, A. A. et al. Effects of different souring methods on the protein quality and iron and zinc bioaccessibilities of non-alcoholic beverages from sorghum and amaranth. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 54, p. 798–809, 2019.
- ALVES MAGRO, A. E.; DE CASTRO, R. J. S. Effects of solid-state fermentation and extraction solvents on the antioxidant properties of lentils. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 28, p. 101753, 2020.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Washington: AOAC, 2005.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70–76, 1996.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25–30, 1995.
- COSTA, Tainara; JORGE, Neuza. Compostos bioativos benéficos presentes em castanhas e nozes. **Journal of Health Sciences**, v. 13, n. 3, 2011.
- DE MATOS, F. M.; NOVELLI, P. K.; DE CASTRO, R. J. S. Enzymatic hydrolysis of black cricket (*Gryllus assimilis*) proteins positively affects their antioxidant properties. **Journal of Food Science**, v. 86, p. 571–578, 2021.
- FIGUEREDO, Igor de Mesquita. **Atividade antioxidante de compostos fenólicos e aminado no biodiesel de babaçu: avaliação por Rancimat e calorimetria exploratória diferencial**. 2019. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/48303>. Acesso em 9 de jul. 2023.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.
- SCHONS, J. I. et al. Extração assistida por ultrassom e caracterização do óleo da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* HBK). **Interciência**, v. 42, n. 9, p. 586-590, 2017.
- SURYAVANSHI, A.; AGARWAL, A.; KALER, A.; BIHADE, U.; KAUR, J. TIKOO, K. B.; BANERJEE, U. C. Comparative studies on the antioxidant potential of vanillin producing *Saccharomyces boulardii* extracts. **Oxidants and Antioxidants in Medical Science**, v. 2(3), p. 201-209, 2013.