

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO REGIONAL  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

THIAGO DA SILVA LIMA

DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE DE BISCOITO SEM GLÚTEN COM FARINHA DE  
INHAME ENRIQUECIDO COM FARINHA DE SEMENTE DE UVA

João Pessoa

2015

THIAGO DA SILVA LIMA

DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE DE BISCOITO SEM GLÚTEN COM FARINHA DE  
INHAME ENRIQUECIDO COM FARINHA DE SEMENTE DE UVA

Trabalho de Conclusão do Curso Superior de  
Tecnologia de Alimentos, do Centro de  
Tecnologia e Desenvolvimento Regional, da  
Universidade Federal da Paraíba, apresentado  
como pré-requisito para obtenção do título de  
Tecnólogo em Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Ismael Ivan Rockenbach

João Pessoa

2015

L732d Lima, Thiago da Silva.

Desenvolvimento e análise de biscoito sem glúten com farinha de inhame enriquecido com farinha de semente de uva. [recurso eletrônico] / Thiago da Silva Lima. -- 2015.

54 p. : il. color. + CD.

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Orientador: Dr. Ismael Ivan Rockenbach.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação - Tecnologia de Alimentos) – CTDR/UFPB.

1. Farinha de inhame. 2. Farinha de semente de uva. 3. Doença celíaca. 4. Antioxidante. 5. Análise sensorial. I. Rockenbach, Ismael Ivan. II. Título.

CDU: 664.641.2

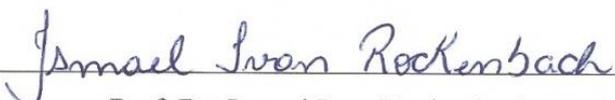
THIAGO DA SILVA LIMA

DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE DE BISCOITO SEM GLÚTEN COM FARINHA DE  
INHAME ENRIQUECIDO COM FARINHA DE SEMENTE DE UVA

Trabalho de Conclusão do Curso Superior de  
Tecnologia de Alimentos, do Centro de  
Tecnologia e Desenvolvimento Regional, da  
Universidade Federal da Paraíba, apresentado  
como pré-requisito para obtenção do título de  
Tecnólogo em Alimentos.

DATA DA APROVAÇÃO 10 / 12 / 2015

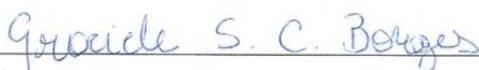
BANCA AVALIADORA



Prof. Dr. Ismael Ivan Rockenbach

Universidade Federal da Paraíba – UFPB

(Orientador e Presidente da Banca Avaliadora)



Profª. Dra. Graciele da Silva Campelo Borges

Universidade Federal da Paraíba – UFPB

(Membro da Banca Avaliadora)



Profª. Dra. Ana Alice da Silva Xavier Costa

Universidade Federal da Paraíba – UFPB

(Membro da Banca Avaliadora)

## DEDICATÓRIA

À minha mãe.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe, heroína que me deu apoio, e que sempre se esforçou para dar a melhor educação. Além do seu carinho e amor, espero sempre ser merecedor do seu orgulho.

À Alma, minha companheira, que sempre acreditou em mim nos momentos mais difíceis.

Ao meu filho, Benjamin, por me motivar a evoluir para que eu possa ser uma grande referência.

Aos meus irmãos, pelo apoio. Sei que sempre posso contar com vocês.

Ao meu orientador Prof. Ismael, exemplo de dedicação à docência e à pesquisa científica, pela orientação deste trabalho. Por sempre persistir e me ajudar a superar as dificuldades para a realização das análises. Por toda a aprendizagem e contribuição para o meu desenvolvimento profissional.

Aos professores do Departamento de Tecnologia de Alimentos, por todo o conhecimento que me foi transmitido.

À Universidade Federal da Paraíba, obrigado.

## RESUMO

Conhecida como uma enteropatia induzida por glúten, a doença celíaca é desencadeada em indivíduos geneticamente predispostos, pela ingestão do glúten presente no trigo, centeio, cevada, malte e aveia. O tratamento caracteriza-se basicamente pela exclusão de alimentos fonte de glúten. A maior dificuldade na alimentação dos celíacos está no acesso aos produtos elaborados com substitutos da farinha de trigo e que apresentem características sensoriais favoráveis e agradáveis ao consumidor. Entre as propriedades funcionais, a atividade antioxidante pode ser incrementada com a introdução de ingredientes alternativos como fontes de compostos fenólicos com atividade biológica reconhecida, incluindo os coprodutos do processamento do vinho, especialmente as sementes de uva. Portanto, este trabalho teve como objetivo a avaliação de biscoitos elaborados com farinha de inhame e enriquecidos com farinha de semente de uva. Para a obtenção da farinha de inhame, os tubérculos passaram pelas etapas de seleção, lavagem e sanitização, descascamento e lavagem, corte, branqueamento, resfriamento, secagem, acondicionamento, moagem e peneiramento. Para a elaboração dos biscoitos foram desenvolvidas três formulações: 1) a formulação controle; 2) a formulação A, com substituição de 25% da quantidade de farinha de arroz relativa ao controle por farinha de semente de uva; e 3) a formulação B, com substituição de 50% da quantidade de farinha de arroz relativa ao controle por farinha de semente de uva. Foram realizadas as análises de composição centesimal, cor e textura instrumental, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, análise microbiológica e sensorial. O teor de umidade dos biscoitos não ultrapassou o percentual de 10,50%, estando de acordo com o padrão estipulado pela legislação vigente, que deve ser menor que 14%. A adição da farinha de semente de uva aumentou de forma considerável o teor de fibras do biscoito, dessa maneira sendo responsável pelo incremento de até 3,3 vezes no teor de fibras em relação ao biscoito controle. Em relação à cor instrumental, a adição de farinha de semente de uva tornou as amostras de biscoito mais escuras, ou seja, obtiveram-se menores valores de luminosidade, além da tendência para as tonalidades amarela e vermelha. A textura instrumental indicou que a substituição de 50% da farinha de arroz por farinha de semente de uva aumentou a firmeza dos cookies em relação à formulação controle. Houve também um aumento considerável de compostos fenólicos nas formulações com a adição da farinha de semente de uva, obtendo-se um teor até 3 vezes maior que na amostra controle, demonstrando a presença abundante destes compostos nos coprodutos da vinificação, como a semente de uva. Como consequência, a atividade antioxidante apresentou um aumento de mais de 330% na formulação B em relação à formulação controle. No aspecto microbiológico, verificou-se que os biscoitos estavam aptos para o consumo e para os procedimentos de avaliação sensorial. Os biscoitos sem glúten com farinha de inhame e enriquecidos com farinha de semente de uva desenvolvidos neste estudo mostraram grande potencial para suprir as carências nutricionais no que diz respeito ao aporte de fibras, além de possuir uma quantidade expressiva de antioxidantes e compostos fenólicos provenientes da semente de uva, que promovem benefícios para a saúde do consumidor. Os resultados apontaram que a substituição de 25% da farinha de arroz por farinha de semente de uva na formulação dos biscoitos obteve melhor aceitação na análise sensorial.

**Palavras-chave:** Biscoito. Doença celíaca. Inhame. Semente de uva. Antioxidante. Compostos fenólicos. Fibras.

## ABSTRACT

Known as a gluten-induced enteropathy, celiac disease is triggered in genetically predisposed individuals through the ingestion of gluten present in wheat, rye, barley, malt and oats. The treatment consists in the exclusion of gluten on the daily diet. The greatest difficulty in the diet of the celiac people is the access to products made with wheat flour substitutes and products that present characteristics that please the consumer. Among the functional properties, the antioxidant activity may be enhanced with the introduction of alternative ingredients, such as sources of phenolic compounds that have well-known biological activity, including by-products of wine processing, especially grape seeds. Therefore, this study aimed to evaluate cookie made with yam flour and enriched with grape seed flour. To obtain the yam flour, the tubers went through steps of selecting, washing and sanitizing, peeling and washing, cutting, blanching, cooling, drying, packaging, grinding and sieving. To elaborate the cookies, three formulations were developed: 1) Control formulation; 2) Formulation A, 25 % of the relative amount of rice flour in the Control Formulation was replaced with grape seed flour, and 3) Formulation B, where the replacement of rice flour with grape seed was of 50% as compared to the amount of rice flour used in the Control Formulation. The analysis of chemical composition, color and texture, total phenolic compounds, antioxidant activity, microbiological and sensory analysis were performed. The moisture content of the cookies did not exceed the percentage of 10.50%, which is consistent with the standard stipulated by law that must be less than 14%. The addition of grape seed flour increased the Cookie fiber content considerably, thus being responsible for the increase of up to 3.3 times the present fiber content of the Control Formulation cookie. Regarding the instrumental color, the addition of grape seed flour turned the cookie samples darker, in other words, lower brightness values were obtained, also the tendency to yellow and red shades. The instrumental texture indicated that the substitution of 50% of rice flour by grape seed flour increased the firmness of the cookies when compared to the Control Formulation. There was a considerable increase of phenolic compounds in the formulations with the addition of grape seed flour, obtaining content up to 3 times higher than the one in the Control Formulation, showing abundant presence of these compounds in wine by-products such as grape seed. Consequently, the antioxidant activity presented in Formulation B increased more than 330% compared to the Control Formulation. In the microbiological aspect it was noted that the cookies were ready for consumption and for sensory evaluation procedures. The biscuits without gluten, made with yam flour and enriched with grape seed flour developed in this study, showed great potential to meet the nutritional needs concerning the fiber input, in addition to having a significant amount of antioxidants and phenolic compounds from the seed grape, which promote benefits for the consumer's health. The results showed that the cookies received better acceptance in the sensory analysis when 25% of rice seed flour was replaced by grape seed flour in the formulation.

**Key words: Cookies. Celiac disease. Yam. Grape seed. Antioxidant. Phenolic compounds. Fibers.**

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produtos que mais despertam desejo do consumidor quando são lançados no mercado. ....	15
Figura 2 - Semente de uva. ....	18
Figura 3 - Fluxograma do processamento artesanal de farinha de inhame. ....	24
Figura 4 - Fluxograma do processamento dos biscoitos com farinha de inhame. ....	25
Figura 5 - Biscoitos sem glúten com farinha de inhame. ....	35
Figura 6 – Índice de aceitação (%) dos biscoitos de farinha de inhame sem glúten. ....	39
Figura 7 – Índice de intenção de compra dos biscoitos de farinha de inhame sem glúten. ....	40

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação dos biscoitos sem glúten.....	26
Tabela 2 - Composição centesimal (g/100g) e valor calórico da farinha de inhame.....	32
Tabela 3 - Composição centesimal (g/100g) e valor calórico dos biscoitos sem glúten elaborados com farinha de inhame e farinha de semente de uva.....	32
Tabela 4 - Medidas instrumentais de cor e textura dos biscoitos sem glúten elaborados com farinha de inhame e farinha de semente de uva.....	34
Tabela 5 - Diferença de cor dos biscoitos sem glúten com farinha de inhame. ....	35
Tabela 6 – Teor de Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante (DPPH) dos biscoitos sem glúten com farinha de inhame. ....	36
Tabela 7 – Resultados médios dos atributos sensoriais dos biscoitos de farinha de inhame sem glúten. ....	38

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Verificação dos parâmetros microbiológicos dos biscoitos sem glúten com farinha de inhame.....	37
---	----

## LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC - Association of Official Analytical Chemists International

°C - grau Celsius

CTDR - Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional

DC - Doença Celíaca

FIESP - Federação das Indústrias do Estado de São Paulo

GAE - Equivalente ao Ácido Gálico

g - grama

h - hora

hab - habitante

kg - quilograma

min - minuto

mL - mililitro

mm - milímetro

N - Newtons

NMP - Número Mais Provável

s - segundo

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TEAC - Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox

UFC - Unidade Formadora de Colônia

UFPB - Universidade Federal da Paraíba

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 .....	27
Equação 2 .....	27
Equação 3 .....	28
Equação 4 .....	31

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	13
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	15
2.1 BISCOITOS	15
2.2 ALTERNATIVAS PARA CELÍACOS	16
2.3 INHAME	17
2.4 SEMENTE DE UVA E SEU POTENCIAL ANTIOXIDANTE	17
2.5 RADICAIS LIVRES	19
2.6 COMPOSTOS FENÓLICOS	20
2.7 APROVEITAMENTO DE COPRODUTOS DA VINIFICAÇÃO	20
2.8 ALIMENTOS FUNCIONAIS	21
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	24
3.1 MATERIAL	24
3.2 OBTENÇÃO DA FARINHA DE INHAME	24
3.3 OBTENÇÃO DOS BISCOITOS COM FARINHA DE INHAME	25
3.4 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	26
3.4.1 Umidade	26
3.4.2 Cinzas	26
3.4.3 Proteína	26
3.4.4 Lipídeos	27
3.4.5 Fibra bruta	27
3.4.6 Carboidratos	27
3.4.7 Valor calórico (VC)	27
3.5 ANÁLISE DE COR INSTRUMENTAL	27
3.6 ANÁLISE DE TEXTURA INSTRUMENTAL	28
3.7 AVALIAÇÃO DO CONTEÚDO FENÓLICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	28
3.7.1 Obtenção de extratos	28
3.7.2 Determinação de fenólicos totais	28
3.7.3 Método DPPH	29
3.8 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	29
3.9 ANÁLISE SENSORIAL	30
3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	32
4.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	32
4.2 COR E TEXTURA INSTRUMENTAL	34
4.3 FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	35
4.4 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	37
4.5 ANÁLISE SENSORIAL	37
<b>5 CONCLUSÃO</b>	41
<b>REFERÊNCIAS</b>	42
<b>APÊNDICES</b>	50

## 1 INTRODUÇÃO

Conhecida como uma enteropatia induzida por glúten, espru celíaco ou espru não-tropical, a Doença Celíaca – DC é desencadeada em indivíduos geneticamente predispostos, pela ingestão do glúten presente no trigo, centeio, cevada, malte e aveia (CRAIG et al. 2007). Esta doença caracteriza-se por um estado de inflamação crônica da mucosa intestinal. Na base da inflamação crônica estão as reações imunológicas complexas que vão induzir alterações morfológicas e funcionais na mucosa do intestino delgado proximal, com grave prejuízo na absorção de nutrientes e risco aumentado de morbidade e malignidade (PIMENTA-MARTINS et al. 2014; WAKIM-FLEMING et al. 2014).

O tratamento caracteriza-se basicamente pela exclusão de alimentos fonte de glúten, mesmo nos períodos de latência, uma vez que esses tendem a ser transitórios. A importância de se manter uma dieta rigorosa está no fato da doença não só causar sintomas digestivos, mas também por provocar outras condições extra digestivas como anemia, lesões de pele, osteopenia, infertilidade, ataxia e polineuropatia, além de adenocarcinoma do intestino delgado e linfoma de células T (TRONCONE et al. 2008).

A maior dificuldade na alimentação dos celíacos está no acesso aos produtos elaborados com substitutos da farinha de trigo e que apresentem características sensoriais favoráveis e agradáveis ao consumidor. É possível encontrar no mercado alguns produtos sem glúten desenvolvidos a partir de cereais como o arroz e batata. Porém, por se tratarem de alimentos não produzidos em larga escala, agregam alto valor comercial tornando-os caros e inacessíveis às classes sociais menos favorecidas.

Como exemplos de ingredientes mais usados na elaboração de produtos isentos de glúten, está a farinha de arroz, amplamente utilizada na substituição total da farinha de trigo (MARTI; SEETHARAMAN; PAGANI, 2010). Além dessa, outras farinhas de alto teor proteico e nutricional como a farinha de quinoa (TAYLOR; PARKER, 2002) e inhame também podem ser utilizadas.

Conforme Arendt et al. (2002), devido aos produtos isentos de glúten não possuírem sabor, textura e qualidade igual aos produtos elaborados com farinha de trigo, muitos estudos estão sendo realizados para avaliar novos ingredientes e suas proporções, que terão como função melhorar as características sensoriais desses produtos. Sendo assim, as indústrias alimentícias e estabelecimentos comerciais poderão atender especialmente ao público celíaco, fornecendo produtos de melhor qualidade e maior confiabilidade.

A utilização de farinhas mistas expandiu-se, sendo utilizada na fabricação de biscoitos, já que este é um produto altamente aceito e consumido por pessoas de todas as faixas etárias. Tais características, aliadas à sua enorme diversidade, apresentam-se como uma oportunidade para o estudo de diferentes tipos de farinhas e suas propriedades físicas, químicas e sensoriais, possibilitando o aumento das propriedades tecnológicas e funcionais (SILVA et al., 2001; KOPPER et al., 2009).

Entre as propriedades funcionais, a atividade antioxidante pode ser incrementada com a introdução de ingredientes alternativos como fontes de compostos fenólicos com atividade biológica reconhecida, incluindo os coprodutos do processamento do vinho, especialmente as sementes de uva. Estes materiais, originalmente considerados de baixo valor comercial e subutilizados, podem ser inseridos com esta finalidade na formulação de biscoitos e outros produtos de panificação na medida em que seus componentes ativos submetidos ao processamento térmico mantenham suas características funcionais e não afetem negativamente as percepções sensoriais relevantes associadas a estes produtos.

Tendo em vista a importância da cultura do inhame no país, a necessidade de introdução desta raiz como matéria-prima industrial, e o papel que pode desempenhar como alternativa de alimento sem glúten, este trabalho teve como objetivo a produção de biscoitos utilizando a farinha de inhame com características nutricionais e funcionais da farinha de semente de uva incorporadas ao biscoito, oferecendo dessa forma um produto que pode trazer benefício à saúde dos portadores da doença celíaca.

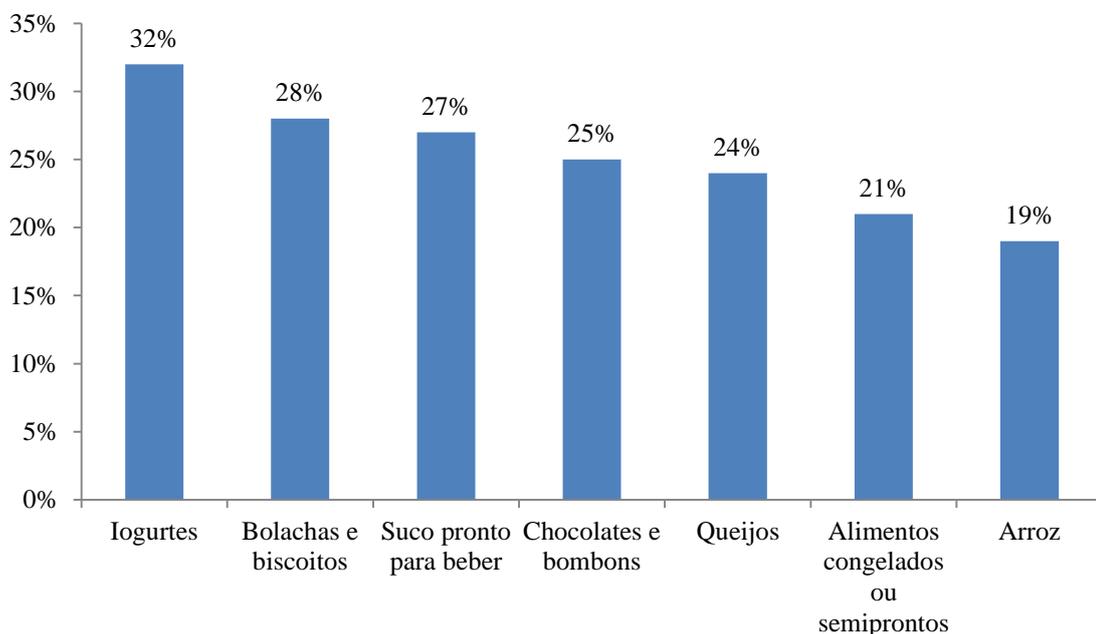
## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 BISCOITOS

O Brasil é o quarto maior produtor mundial de biscoitos, com 1,2 milhão de t/ano, sendo superado apenas pela China (3,1 milhão de t), Estados Unidos (2,2 milhão de t) e Índia (1,7 milhão de t). O consumo per capita/ano está em 6,0 kg/hab, dessa forma ocupando a quinta posição global. No cenário nacional é um mercado que gerou mais de 17 bilhões de reais no ano de 2013, representando assim um aumento de 35% em relação ao ano de 2010 no qual gerou pouco mais de 11 bilhões, demonstrando o crescimento deste produto ao longo dos anos (ABIMAPI e EUROMONITOR, 2014).

Na avaliação do perfil dos consumidores brasileiros, os biscoitos estão entre os produtos que mais despertam desejo quando são lançados no mercado, de acordo com uma pesquisa da FIESP (Figura 1).

Figura 1 - Produtos que mais despertam desejo do consumidor quando são lançados no mercado.



Fonte: Adaptado de FIESP, 2015.

A resolução RDC n° 263/05 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária define biscoito ou bolacha como os produtos obtidos pela mistura de farinha(s), amido(s) ou fécula(s) com outros ingredientes, submetidos a processos de amassamento e cocção, fermentados ou não. Podem apresentar cobertura, recheio, formato e textura diversos

(BRASIL, 2005). O termo cookie, empregado nos Estados Unidos e na Inglaterra, pode ser considerado como sinônimo de biscoito (MANLEY, 1983)

Dentre as diversas variedades de biscoitos comercializados, o cookie apresenta-se como um produto de grande consumo, sendo de ampla aceitação por pessoas de todas as idades, particularmente entre crianças. Os cookies possuem características sensoriais atrativas, durabilidade e propriedades nutricionais agregadas. Os biscoitos tipo cookie têm sido formulados com a intenção de implementar sua fortificação com fibra ou proteína, devido ao forte apelo nutricional existente com relação aos alimentos consumidos (GUTKOSKI et al. 2003; SILVA et al. 1998 apud COSTA, 2008).

## 2.2 ALTERNATIVAS PARA CELÍACOS

Muitos ingredientes passaram a ser utilizados como novas opções para a fabricação de alimentos isentos de glúten e também para o aumento de seu valor nutritivo, como por exemplo, o amaranto, sorgo, a quinoa, chia, semente de uva, entre outros, e assim atender um mercado carente de opções de produtos para se alimentar. Portanto, existem várias pesquisas com o intuito de desenvolver alimentos isentos de glúten de maneira segura para o consumo destas pessoas. Como Freitas et al. (2014), que utilizaram farinha de semente de abóbora (FSA) e farinha de semente de baru (FSB) na confecção de biscoitos para celíacos e avaliaram suas propriedades físicas, químicas e sensoriais. Já Sindhuja et al. (2005) avaliaram o efeito da incorporação de farinha de amaranto na qualidade de biscoitos, farinha essa rica em proteínas. Além de Pereira et al. (2013), que fizeram análise físico-química e sensorial do pão de batata isento de glúten enriquecido com farinha de chia, objetivando a melhoria das propriedades nutricionais do pão de batata com recheio de ricota e alho-poró.

Algumas opções de ingredientes como farinha de arroz, farinha de inhame, creme de arroz, amido de milho, farinha de milho, fubá, farinha de mandioca, polvilho doce, polvilho azedo e fécula de batata são utilizadas na fabricação de produtos de panificação sem glúten (CÉSAR et al. 2006). Entretanto, essa substituição provoca mudanças sensoriais nos alimentos, modificando seu sabor, textura, hidratação e aparência (ANDRADE et al. 2011), e, muitas vezes, por estas farinhas e amidos serem refinados, apresentam baixos teores de micronutrientes e fibra alimentar, um dos fatores responsáveis pelo consumo inadequado desses nutrientes por celíacos (THOMPSON et al. 2005).

### 2.3 INHAME

De origem africana, o inhame (*Dioscorea* sp.) também denominado cará-da-costa ou inhame da Costa, ao longo dos séculos tem constado no cardápio de diversas civilizações, como na Índia e antigo Egito, no qual era alimento de faraós. No Brasil, os primeiros relatos são do período de colonização portuguesa, pelo trânsito de mercadorias entre a costa africana a caminho da Índia. Esta denominação, “da-costa”, refere-se a uma alusão à costa africana, principal centro de dispersão da cultura (MESQUITA, 2002).

Além de ser utilizado para consumo direto, o inhame é útil na elaboração de uma ampla variedade de produtos tais como pães, bolos e sopas. Algumas variedades, em vista de sua alta produtividade, prestam-se também como forrageiras para alimentação animal (MIAMOTO, 2008).

O inhame é muito consumido no Nordeste do Brasil, geralmente como substituto do pão. Na cozinha, seu uso é muito diversificado, podendo ser preparado da mesma forma que a batata (CONTADO et al., 2009). Como alternativa, o inhame pode ser cozido e consumido na sua forma natural ou como purês, ou ainda adicionado a outros alimentos (MIAMOTO, 2008).

A inexistência do processamento de inhame para a obtenção de amido e menos ainda para a mucilagem como fonte de matéria-prima para as indústrias, principalmente as alimentícias, dificulta a sua utilização em grande escala (TAVARES, 2009). Ocorre um atraso na industrialização do inhame no Brasil devido a um funcionamento precário das atividades relacionadas à produção agrícola, ou pela falta de diversificação no consumo. Em outros países, embora este consumo seja substancialmente diversificado, especialmente por meio de aproveitamento industrial ou artesanal, este aproveitamento é baixo e os produtos elaborados não ultrapassam fronteiras pela falta de qualidade, servindo apenas para o consumo local ou regional (MIAMOTO, 2008).

### 2.4 SEMENTE DE UVA E SEU POTENCIAL ANTIOXIDANTE

A semente da uva (Figura 2) é composta aproximadamente de: 40% fibra, 16% óleo, 11% proteínas, 7% compostos fenólicos complexos (taninos), açúcares e sais minerais. Ela é rica em óleo essencial, o qual possui um alto valor agregado, sendo utilizado nas indústrias químicas, de cosméticos e farmacêutica (MURGA et al., 2000).

Figura 2 - Semente de uva.



Fonte: TARAC, 2015.

Sementes e cascas de uvas são onde a maior parte dos compostos fenólicos se acumula. Por essa razão, o extrato obtido do subproduto da vinificação tem se tornado popular para a obtenção de ingredientes funcionais, tais como antioxidantes naturais e suplementos alimentares (BAGCHI et al. 2000; SHRIKHANDE, 2000; XU et al. 2010).

A semente de uva obtida como um subproduto do vinho e do processamento de suco de uva é rico em proantocianidinas. Os múltiplos mecanismos da sua atividade antioxidante são expressos em sua capacidade de desativar radicais livres, quelar metais, e de apresentar sinergismo com outros antioxidantes (LU e FOO, 1999). A atividade antioxidante de extratos de semente de uva foi confirmada pelos métodos de co-oxidação do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico (JAYAPRAKASHA, SINGH, e SAKARIAH, 2001), bem como por desativação de radicais livres DPPH (JAYAPRAKASHA, SELVI e SAKARIAH, 2003).

Durante a vinificação, apenas uma parte das catequinas e procianidinas são extraídas das sementes e difundidas para o vinho. O alto conteúdo remanescente torna a semente de uva uma rica fonte de antioxidantes (HATZIDIMITRIOU et al. 2007; KÖHLER et al. 2008).

Os antioxidantes são compostos químicos que restringem os efeitos maléficos ao organismo, pois possuem capacidade de reagir com os radicais livres, sendo bloqueadores dos processos óxido redutivos. Quando presentes em baixas concentrações, comparados a outros que oxidam um substrato, os antioxidantes previnem a oxidação desse substrato. Eles são responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células. Entre os antioxidantes têm-se o sistema de enzimas como glutatona redutase, superóxido dismutase, dentre outros; e entre os não enzimáticos têm-se vitaminas, ácido úrico, polifenóis, entre outros (DANI, 2006; PIMENTEL et al. 2005; VEDANA, 2008).

Os antioxidantes podem ser classificados em primários, que atuam como doadores de prótons, impedindo o processo de iniciação desencadeado pelos radicais livres. Nesta classe

de antioxidantes encontramos os compostos fenólicos, o tocoferol, os aminoácidos, os carotenoides e os antioxidantes sintéticos. A maioria dos flavonoides tem a capacidade de reagir com radicais livres e exercer funções antioxidantes no organismo. Os antioxidantes podem também ser classificados como secundários, atuando no bloqueio da decomposição dos peróxidos e hidroperóxidos e convertendo-os na forma inativa por ação de agentes redutores, bloqueando a reação em cadeia através da captação de intermediários reativos como os radicais peroxila e alcooxila. Nesta classe estão os antioxidantes sintéticos, as vitaminas A, C e E, e também os compostos fenólicos (DONELLI e ROBINSON, 1995; PIETTA, 2000).

Um método de avaliação da atividade antioxidante muito utilizado é o DPPH (radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila), que é um radical estável em solução e que reage com compostos capazes de doar elétrons. Para essa análise utiliza-se uma solução alcoólica de DPPH, que absorve no comprimento de onda próximo de 517 nm, e à medida que seu elétron deixa de ser desemparelhado, a absorção decresce e ocorre a mudança de coloração frente às moléculas antioxidantes testadas (DI MAMBRO; MARQUELE e FONSECA, 2005).

## 2.5 RADICAIS LIVRES

Os radicais livres e outros oxidantes vêm sendo considerados nos últimos anos como grandes causadores de várias doenças como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune, disfunções cerebrais e diabetes mellitus tipo I (SOUSA et al. 2007).

No entanto, a produção desses radicais livres em nosso organismo é inevitável, já que quando há necessidade de ativação do sistema imunológico, os macrófagos utilizam o peróxido de hidrogênio para destruir bactérias e outros elementos estranhos. Há também produção de radicais na desintoxicação de drogas e de óxido nítrico, importante para desencadear o relaxamento dos vasos sanguíneos (MONCADA e HIGGS, 2003).

Os radicais livres são classificados como moléculas orgânicas, inorgânicas ou átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, tendo estas moléculas existências independentes (BOYCE, 1999). Esse tipo de estrutura faz com que os radicais livres sejam moléculas de alta instabilidade, tendo meia-vida curta e sendo muito reativos. Levando-se em consideração a manutenção de muitas das funções fisiológicas normais, a presença dos radicais livres é crítica (POMPELLA, 1997).

## 2.6 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos podem ser definidos como “substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais” (MALACRIDA e MOTTA, 2005).

Compostos fenólicos são encontrados nas camadas internas de cascas e sementes de uva, sendo que seu conteúdo na polpa é usualmente muito baixo. Sua concentração depende da variedade e é influenciada por fatores viticulturais e ambientais (MUÑOZ et al. 2008).

Essas substâncias desempenham diversas funções na uva e derivados, sendo o fator determinante da cor e da qualidade dos vinhos (MANFROI e GIOVANINNI, 2009). É atribuído aos polifenóis em geral a capacidade de quelar metais, inibição da atuação de radicais livres, além de apresentar atividade antitrombótica, antiviral, antialérgica, anti-inflamatória, atividade anticancerígena e também de proteção aos hepatócitos (DANI, 2006).

Os compostos fenólicos das uvas podem ser classificados em flavonoides e não-flavonoides. Do primeiro grupo fazem parte os flavanóis (catequina, epicatequina e epigallocatequina), flavonóis (caempferol, quercetina e miricetina) e antocianinas, e ao segundo grupo pertencem os ácidos fenólicos, hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos (ABE et al. 2007), além do resveratrol pertencente à classe dos estilbenos.

Flavonoides são compostos polifenólicos biossintetizados a partir da via dos fenilpropanoides e do acetato, precursores de vários grupos de substâncias como aminoácidos alifáticos, terpenoides, ácidos graxos dentre outros (MANN, 1987). Eles participam de importantes funções no crescimento, desenvolvimento e na defesa dos vegetais contra o ataque de patógenos (DIXON & HARRISON, 1990) e estão presentes na maioria das plantas, concentrados em sementes, frutos, cascas, raízes, folhas e flores (FELDMANN, 2001). As principais fontes de flavonoides incluem frutos (uvas, cerejas, maçã, groselhas, frutas cítricas, entre outros) e hortaliças (pimenta, tomate, espinafre, cebola, brócolis, dentre outras folhosas) (BARNES et al. 2001)

Os taninos condensáveis, também chamados proantocianidinas, são polímeros de unidades de flavonoides do tipo flavanóis, como as catequinas e epicatequinas. Estes compostos podem conter de duas até cinquenta unidades de flavonoides (MONTEIRO et al. 2005).

## 2.7 APROVEITAMENTO DE COPRODUTOS DA VINIFICAÇÃO

Estima-se que cerca de 61 milhões de toneladas de uvas são produzidas anualmente, onde 80% é destinado a produção de vinho e 20% deste total é representado pelo peso do bagaço, de modo que são produzidos mais de 9 milhões de toneladas de resíduos vinícolas, o que torna esse setor uma potencial fonte geradora de resíduos (MELO, 2010).

Muitos destes resíduos agroindustriais gerados contêm uma variedade de espécies biologicamente ativas que são desperdiçadas, muitos deles ricos em compostos polifenólicos (CATANEO et al. 2008). Contudo, esses coprodutos ricos em compostos polifenólicos se utilizados como matéria-prima, resultam em um produto ou subproduto de maior valor agregado (LIMA et al. 2009). A riqueza fenólica desses materiais faz deles fontes de antioxidantes naturais.

Balestro et al. (2011) utilizaram a farinha de uva tinta, com elevada atividade antioxidante, como ingrediente para a elaboração de barra de cereais, o que permitiu formular um produto integral e com características de alimento rico em fibras, além do aproveitamento do resíduo produzido durante o processamento da uva.

Já Piovesana et al. (2013) verificaram a aceitabilidade de biscoitos enriquecidos com aveia e farinha de bagaço de uva, constatando que os biscoitos elaborados com substituição de até 50% da farinha de trigo por farinha integral de aveia e farinha de bagaço de uva obtiveram uma boa aceitabilidade em relação aos atributos sensoriais avaliados, demonstrando, assim, que é possível utilizar matérias-primas de baixo valor agregado, disponibilizando nova opção de produto saudável.

## 2.8 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Os alimentos funcionais devem apresentar propriedades benéficas além das nutricionais básicas, sendo apresentados na forma de alimentos comuns. São consumidos em dietas convencionais, e demonstram capacidade de regular funções corporais de forma a auxiliar na proteção contra doenças como hipertensão, diabetes, câncer, osteoporose e coronariopatias (SOUZA et al. 2003). Segundo Cândido e Campos (2005) alimentos funcionais são todos os alimentos ou bebidas que, consumidos na alimentação cotidiana, podem trazer benefícios fisiológicos específicos, graças à presença de ingredientes fisiologicamente saudáveis.

Segundo Roberfroid (2002) Os alimentos funcionais apresentam as seguintes características:

- a) devem ser alimentos convencionais e serem consumidos na dieta normal/usual;

b) devem ser compostos por componentes naturais, algumas vezes, em elevada concentração ou presentes em alimentos que normalmente não os supririam;

c) devem ter efeitos positivos além do valor básico nutritivo, que pode aumentar o bem-estar e a saúde e/ou reduzir o risco de ocorrência de doenças, promovendo benefícios à saúde além de aumentar a qualidade de vida, incluindo os desempenhos físico, psicológico e comportamental;

d) a alegação da propriedade funcional deve ter embasamento científico;

e) pode ser um alimento natural ou um alimento no qual um componente tenha sido removido;

f) pode ser um alimento onde a natureza de um ou mais componentes tenha sido modificada;

g) pode ser um alimento no qual a bioatividade de um ou mais componentes tenha sido modificada.

No Brasil, o Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamentou os alimentos funcionais por meio da Resolução ANVISA/MS 18/99 e Resolução ANVISA/MS 19/99 (BRASIL, 1999a; BRASIL, 1999b), e as diretrizes para a utilização da alegação de propriedades funcionais e ou de saúde são:

a) A alegação de propriedades funcionais e ou de saúde é permitida em caráter opcional;

b) O alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzirem efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica;

c) São permitidas alegações de função ou conteúdo para nutrientes e não nutrientes, podendo ser aceitas aquelas que descrevem o papel fisiológico do nutriente ou não nutriente no crescimento, desenvolvimento e funções normais do organismo, mediante demonstração da eficácia. Para os nutrientes com funções plenamente reconhecidas pela comunidade científica não será necessária a demonstração de eficácia ou análise da mesma para alegação funcional na rotulagem (item 3.3 da Resolução ANVISA nº 18);

d) No caso de uma nova propriedade funcional, há necessidade de comprovação científica da alegação de propriedades funcionais e ou de saúde e da segurança de uso, segundo as Diretrizes Básicas para avaliação de Risco e Segurança dos alimentos (Resolução ANVISA nº 18);

e) As alegações podem fazer referências à manutenção geral da saúde, ao papel fisiológico dos nutrientes e não nutrientes e à redução de risco de doenças. Não são permitidas alegações de saúde que façam referência à cura ou prevenção de doenças.

O êxito dos alimentos funcionais, de acordo com Hasler (2000) se dá por conta da preocupação crescente pela saúde e pelo bem estar, mudanças na regulamentação dos alimentos e à crescente comprovação científica das relações existentes entre dieta e saúde. Já para Sanders (1998) existem seis causas para este êxito, são elas, os consumidores optam por prevenir ao invés de curar doenças; aumento dos custos médicos; os consumidores estão mais cientes sobre a relação entre a saúde e a nutrição; envelhecimento da população; desejo de combater os males causados pela poluição, por microrganismos e agentes químicos no ar, água e nos alimentos e aumento das evidências científicas sobre a sua eficácia.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

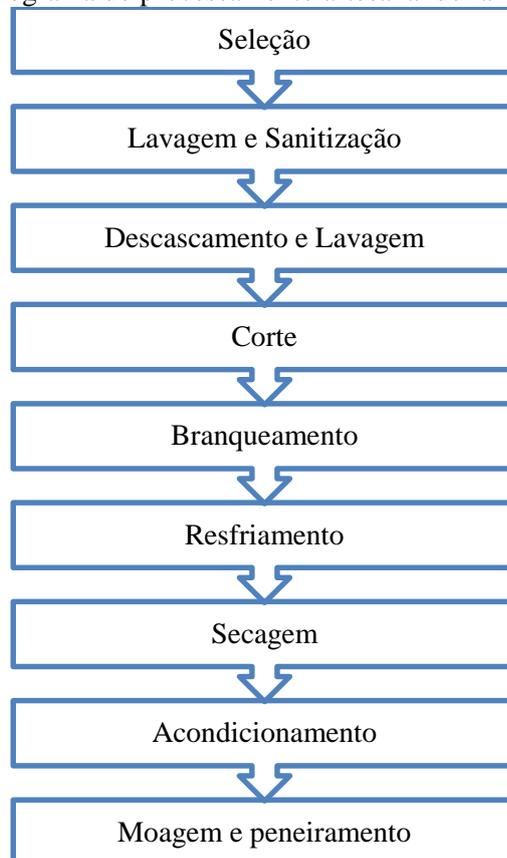
#### 3.1 MATERIAL

Os ingredientes inhame *in natura*, açúcar, farinha de arroz, amido de milho, mel, água, margarina, fermento químico e ovo foram adquiridos em supermercados de João Pessoa-PB. As sementes de uva, provenientes do bagaço da vinificação da variedade Syrah (*Vitis vinifera*) que foi coletado em visita a uma vinícola da região do Vale do Rio São Francisco, na cidade de Petrolina, Pernambuco, foram separadas manualmente do bagaço, sendo posteriormente liofilizadas e em seguida trituradas para se obter a farinha.

#### 3.2 OBTENÇÃO DA FARINHA DE INHAME

O processamento do inhame para obtenção da farinha foi realizado no Laboratório de Processamento de Alimentos (CTDR/UFPB). A elaboração da farinha de inhame foi realizada seguindo as etapas apresentadas no fluxograma da Figura 3.

Figura 3 - Fluxograma do processamento artesanal de farinha de inhame.



Fonte: Próprio autor.

Os tubérculos de inhame foram selecionados, descartando-se aqueles com ferimentos, lavados e devidamente sanitizados em hipoclorito de sódio (200 mg/L) em imersão por 10 min para remoção das sujidades e redução da carga microbiana, em seguida pesado em balança mecânica. As cascas foram removidas manualmente com auxílio de uma faca e o tubérculo foi novamente pesado. Para facilitar o fracionamento, o inhame foi lavado em água corrente, para remoção da mucilagem presente na superfície do vegetal.

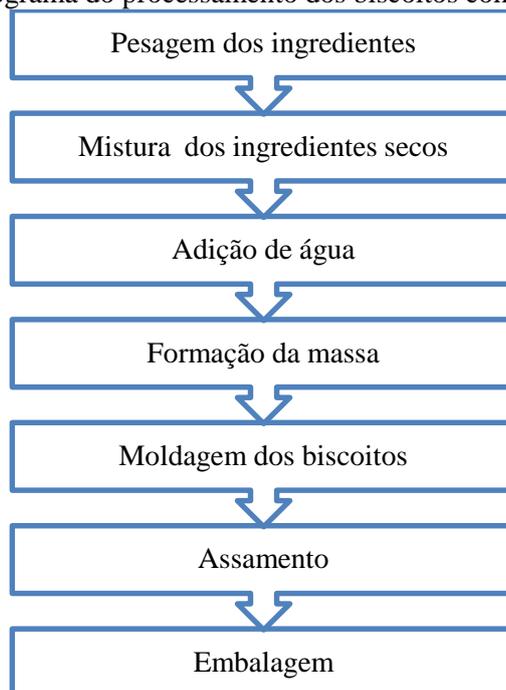
O inhame foi fracionado com auxílio de processador de alimentos da marca Becker, em fatias com espessura de 2 mm. Após, uma etapa de branqueamento em água 100 °C por aproximadamente 30 s foi realizada visando à inativação enzimática de forma a evitar o escurecimento enzimático.

Conforme Santana (2014), a secagem foi realizada em secador de bandejas com circulação forçada de ar, à temperatura de 55 °C durante 26 h. O produto após a secagem foi então acondicionado em embalagens plásticas para posterior aplicação. Após três dias de elaborado o inhame desidratado, o mesmo foi triturado e homogeneizado com auxílio de liquidificador industrial.

### 3.3 OBTENÇÃO DOS BISCOITOS COM FARINHA DE INHAME

A elaboração dos biscoitos foi realizada conforme o fluxograma da Figura 4.

Figura 4 - Fluxograma do processamento dos biscoitos com farinha de inhame.



Fonte: Próprio autor.

Na elaboração dos biscoitos com farinha de inhame, foram testadas três formulações (controle, A e B, conforme a Tabela 1), com variação na quantidade de farinha de semente de uva em substituição à parte da farinha de arroz. Após a realização de testes, nos quais houve a variação de tempo e temperatura do forno, os biscoitos foram submetidos a uma temperatura de 150°C por 26 min.

Tabela 1 - Formulação dos biscoitos sem glúten.

Ingrediente	Controle (g)	A (g)	B (g)
Farinha de inhame	98,5	98,5	98,5
Farinha de arroz	80	60	40
Farinha de semente de uva	—	20	40
Açúcar	100	100	100
Amido de milho	30	30	30
Mel	22	22	22
Água	30	30	30
Ovo	25	25	25
Margarina	30	30	30
Fermento químico	2	2	2

Controle- 0% de substituição da farinha de arroz, A- Substituição de 25% da farinha de arroz por farinha de semente de uva, B- Substituição de 50% da farinha de arroz por farinha de semente de uva.

### 3.4 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

#### 3.4.1 Umidade

A umidade foi determinada pela secagem em estufa, à temperatura de 105°C, de acordo com a metodologia nº 925.09 da AOAC (2000), até obter-se peso constante. O resultado foi expresso em g/100 g de umidade na amostra.

#### 3.4.2 Cinzas

Método gravimétrico nº 923.03 da AOAC (2000), com calcinação a 550°C, com permanência da amostra na mufla por um período suficiente para queima de toda matéria orgânica. O resultado foi expresso em g/100 g de cinzas na amostra.

#### 3.4.3 Proteína

Método de micro-Kjeldahl nº 920.87 da AOAC (2000). O teor de amônia encontrado na amostra foi convertido em proteína total, sendo multiplicado o valor obtido pelo fator de

conversão 6,25, expresso em g/100 g de proteína na amostra.

#### 3.4.4 Lipídeos

O método utilizado para extração dos lipídeos foi de extração contínua em aparelho tipo Soxhlet, utilizando-se o éter etílico como solvente, de acordo com a metodologia nº 925.38 da AOAC (2000). O resultado foi expresso em g/100 g de lipídeos totais na amostra.

#### 3.4.5 Fibra bruta

Método gravimétrico, após hidrólise ácida, segundo a metodologia de Van de Kamer & Van Ginkel (1952). O resultado foi expresso em g/100 g de fibra bruta na amostra.

#### 3.4.6 Carboidratos

O método utilizado foi aquele por diferença como determina a AOAC (2000), segundo a equação 1.

$$\% C = 100 - (U + L + P + F + CI) \quad (1)$$

Sendo C = Carboidratos (%); U = Umidade (%); L = Lipídeos (%); P = Proteína (%); F = Fibra bruta (%) e CI = Cinzas (%). O resultado foi expresso em g/100 g de carboidratos na amostra.

#### 3.4.7 Valor calórico (VC)

Foram utilizados fatores de conversão de Atwater, conforme metodologia de Osborne & Voogt, (1978), considerando 4 kcal/g para proteínas, 4 kcal/g para carboidratos e 9 kcal/g para lipídeos. O resultado foi expresso em kcal/100 g, baseado na equação 2.

$$VC = (\% \text{ proteína} \times 4) + (\% \text{ lipídeos} \times 9) + (\% \text{ carboidratos} \times 4). \quad (2)$$

### 3.5 ANÁLISE DE COR INSTRUMENTAL

As características cromáticas dos biscoitos foram medidas utilizando-se um colorímetro ColorQuest XE, fabricado pela Hunter Lab, no qual foi feita a leitura dos valores de L, a, b, de 9 biscoitos de cada tratamento ( $n = 9$ ).

Conforme Tiwari et al. (2008), para encontrar os valores de diferença de cor ( $\Delta E^*$ ) dentre as amostras, foi utilizada a equação 3.

$$\Delta E^* = [\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2]^{1/2} \quad (3)$$

Sendo  $L$  = luminosidade ou brilho (variação de 0 a 100),  $a$  = variação de verde a vermelho (de -60 a +60) e  $b$  = variação de azul a amarelo (de -60 a +60).

### 3.6 ANÁLISE DE TEXTURA INSTRUMENTAL

A firmeza do biscoito foi medida através do texturômetro CT3 Texture Analyzer, fabricado pela Brookfield, a geometria utilizada foi a TA 7 "knife edge" e a base TASBA "Shear Blade Assembly". Os biscoitos foram colocados na base e foram cortados ao meio pela geometria. A velocidade do pré-teste foi de 2 mm/s e a ativação da força a 0,1 N. Para determinar a firmeza dos biscoitos foi realizada a análise de 8 biscoitos de cada tratamento ( $n = 8$ ), com resultados expressos em Newtons (N).

### 3.7 AVALIAÇÃO DO CONTEÚDO FENÓLICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

#### 3.7.1 Obtenção de extratos

O biscoito foi triturado, retirou-se uma alíquota de 5 g de cada amostra para se extrair com 50 mL de solução (Metanol (70%), Água destilada (29,7%) e Ác. Acético (0,3%)), por 30 min em banho ultrassônico.

#### 3.7.2 Determinação de fenólicos totais

O conteúdo total de polifenóis em cada extrato foi determinado espectrofotometricamente de acordo com o método de Folin-Ciocalteu (ROSSI e SINGLETON, 1965) com a leitura da absorbância em 765 nm, e os resultados expressos em gramas de equivalente a ácido gálico (GAE) por grama de amostra. Uma alíquota de 0,1 mL da amostra diluída foi misturada com 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu e 1,5 mL de carbonato de sódio 20 % em balão volumétrico de 10 mL, completando o volume com água destilada. A concentração do conteúdo de fenólicos totais foi medida após 2 h de repouso da mistura e seu valor comparado com o do padrão de ácido gálico.

### 3.7.3 Método DPPH

Método de sequestro de radicais livres desenvolvido por Brand-Willams, Cuvelier e Berset (1995), está baseado na descoloração de uma solução composta de radicais estáveis DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) de cor violeta quando da adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio ou na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante. Os resultados foram expressos em TEAC (Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox) por grama de amostra.

## 3.8 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Para verificar a adequação dos parâmetros microbiológicos dos biscoitos elaborados foram realizadas as análises microbiológicas exigidas pelo Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, estabelecido na RDC nº 12 de 02/01/01 (BRASIL, 2001), sendo elas: coliformes a 45 °C (termotolerantes), *Salmonella* spp e *Staphylococcus* coagulase positiva. Além destas, foi feita também a investigação da presença de bactérias aeróbias mesófilas e de fungos. Para tanto, empregou-se metodologia segundo Silva et al. (2010).

Para preparar o biscoito para a análise foram pesados 25 g de cada amostra bem triturada e transferidos para 225 mL de salina peptonada, depois transferindo à diluição  $10^{-1}$  assim obtida para um frasco estéril e, em seguida à diluição seriada decimal = 1 mL da diluição  $10^{-1}$  adicionado a 9 mL de diluente, obtendo  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ .

Para a contagem padrão de bactérias mesófilas aeróbias, 1 mL de cada uma das diluições, em triplicata, foi depositado no fundo de placas de Petri e, imediatamente após, adicionado 20 mL de ágar padrão para contagem (PCA) esfriado a 45 °C, em cada placa semeada e homogeneizado girando suavemente as placas em movimentos na forma de oito, uma vez solidificado o ágar, invertida as placas e incubadas a 35-37 °C durante 48 h em estufa.

Para enumeração de Fungos (bolors e leveduras) foi retirada uma alíquota de cada diluição do biscoito, sendo transferido 1 mL para placas de Petri esterilizadas, que foram espalhadas com alça de Drigalski, posteriormente incubadas a 25°C, sem inverter, durante 3-5 dias.

Para a investigação de coliformes totais, coliformes a 45°C (termotolerantes) e de *Escherichia coli*, foi retirada uma alíquota de 1 mL de cada diluição, que foi depositada em 3 tubos contendo cada um 9 mL do caldo LST (Lauril sulfato triptose) homogeneizado e 1 tubo

de Durham, através de agitação cuidadosa, logo após sendo incubados a 35 °C durante 48 h. No final, foi observado se havia tubos com turvação do meio e gás no interior do tubo de Durham.

Para a pesquisa de *Salmonella*, foram homogeneizados 25 g das amostras com 225 mL de caldo lactosado e incubados a 35-37 °C, por 18-24 h. Posteriormente transferiu-se 1 mL deste homogeneizado para um tubo contendo 10 mL de caldo TT (Tetrionato) e 0,1 mL para um tubo contendo 10 mL de caldo RP (Rappaport-Vassilidis Soja), sendo em seguida feita a incubação, a primeira em uma temperatura de 35 °C e a segunda em uma temperatura de 43 °C em estufas por 24 h. Por fim, foi observado se houve alteração da cor.

Para a determinação de *Staphylococcus aureus*, foi transferido 0,1 mL de cada diluição de biscoito para a superfície do meio ágar BP (Baird-Parker) e espalhado com alça de Drigalski. Após completa secagem da superfície do ágar, foram invertidas as placas e incubadas a 35 °C durante um período de 48 h, sendo no final observado se houve, após o tempo de incubação, colônias suspeitas com um ou dois halos e coloração negra.

### 3.9 ANÁLISE SENSORIAL

A avaliação sensorial foi realizada por 57 julgadores não treinados, entre funcionários, visitantes e alunos da Universidade Federal da Paraíba que foram recrutados, por meio de questionário impresso (APÊNDICE A), Os julgadores avaliaram a aceitação dos biscoitos em relação à aparência, cor, sabor, textura e impressão global utilizando-se escala hedônica estruturada de nove pontos, com extremos variando de 9 (gostei muitíssimo) a 1 (desgostei muitíssimo), e teste de atitude de compra com escala estruturada de cinco pontos tendo seus extremos variando de 1 (certamente não compraria) a 5 (certamente compraria) (APÊNDICE B). A cada julgador, foi apresentado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE C), norteado pela Resolução n° 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (CNS), autorizando sua participação voluntária na pesquisa, informando sobre a natureza desta, objetivos, finalidade, riscos potenciais e/ou incômodos. Foi adotado como critério de seleção o consumo de biscoitos, não apresentar intolerância, alergia ou restrição a qualquer um dos ingredientes da formulação e terem disponibilidade e interesse em realizar o teste. Este estudo foi aprovado previamente pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, sendo registrado no CAAE de número 39397214.9.0000.5188.

Para o cálculo do índice de aceitação (IA %) empregou-se a equação de Teixeira et al. (1987), em que M é igual ao valor médio obtido da frequência de repostas dos valores de 1 a 9 da escala de aceitação, pelo maior valor mencionado pelos consumidores (K+). Segundo os autores, para que determinado produtos seja aceito em termos de suas propriedades sensoriais, o mesmo deve alcançar índice de aceitação de no mínimo 70%.

$$IA = \frac{M \cdot 100}{K+} \quad (4)$$

### 3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi conduzido em um arranjo de blocos inteiramente casualizados com repetições. Todo o experimento foi repetido três vezes e todas as análises foram realizadas em triplicata. Os dados foram comparados por Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey utilizando-se o software *Statistica* versão 10.0 (Statsoft, Tulsa, Oklahoma). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  desvio-padrão.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A Tabela 2 apresenta a composição centesimal e o valor calórico da farinha de inhame. No que diz respeito ao teor de umidade, pode-se observar que a farinha de inhame apresentou 10,60% de umidade e encontra-se dentro do valor máximo estipulado pela legislação (BRASIL, 2005) para farinhas, que é de 15,0%. Farinhas com umidade acima de 14% favorecem o crescimento de microrganismos, além da água ser um componente essencial para que ocorram reações químicas e enzimáticas (SILVA, 1991).

Tabela 2 - Composição centesimal (g/100g) e valor calórico da farinha de inhame.

Amostra	Farinha de inhame
Umidade	10,60 ± 0,14
Cinzas	2,57 ± 0,02
Proteínas	6,35 ± 0,11
Lipídeos	0,45 ± 0,03
Fibras	2,26 ± 0,07
Carboidratos	77,77
Valor calórico (Kcal/100g)	340,53

Valores expressos como média ± desvio padrão (n = 3).

A Tabela 3 apresenta a composição centesimal e o valor calórico dos biscoitos da formulação controle (isentos de farinha de semente de uva), dos biscoitos da formulação A (com substituição de 25% da farinha de arroz por farinha de semente de uva), e dos biscoitos da formulação B (com substituição de 50% da farinha de arroz por farinha de semente de uva).

Tabela 3 - Composição centesimal (g/100g) e valor calórico dos biscoitos sem glúten elaborados com farinha de inhame e farinha de semente de uva.

Amostra	Controle	A	B
Umidade	9,06 ± 0,06 b	8,71 ± 0,04 b	10,50 ± 0,28 a
Cinzas	1,41 ± 0,04 b	1,46 ± 0,02 b	1,64 ± 0,07 a
Proteínas	5,15 ± 0,13 b	5,16 ± 0,10 b	5,72 ± 0,18 a
Lipídeos	8,54 ± 0,12 c	8,93 ± 0,08 b	9,97 ± 0,04 a
Fibras	1,99 ± 0,12 c	4,05 ± 0,05 b	6,76 ± 0,07 a

Carboidratos	73,85	71,69	65,41
Valor calórico (kcal/100g)	392,86	387,77	374,25

Valores expressos como média  $\pm$  desvio padrão (n = 3).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

A = Biscoitos com substituição de 25% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.

B = Biscoitos com substituição de 50% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.

Com relação ao teor de umidade dos biscoitos, não houve diferença estatística significativa entre o controle e amostra A. Para a amostra B, houve diferença estatística significativa em relação às demais amostras de biscoito, sendo a amostra B aquela com maior quantidade de farinha de semente de uva incorporada, e por consequência maior quantidade de fibras, justificando assim o fato de se ter obtido um maior valor de umidade nesse biscoito, pois as fibras possuem a propriedade de reter água.

Com relação ao teor de cinzas, não houve diferença estatística significativa entre a amostra controle e a amostra A, porém a amostra B apresenta um teor significativamente maior em relação às demais amostras de biscoito analisadas.

Já para o teor proteico, apesar de apresentar diferença estatística significativa, não houve uma diferença numérica expressiva entre as amostras, apenas a amostra B apresentando uma maior quantidade dentre as amostras de biscoito.

Para o teor de lipídeos, há uma tendência de aumento quando se tem uma maior quantidade de farinha de semente de uva incorporada ao biscoito, por se tratar de uma semente oleaginosa, neste sentido houve variação de 8,54 até 9,97 g/100g.

Além do teor de lipídeos, a adição da farinha de semente de uva também aumentou de forma considerável o teor de fibras do biscoito, dessa maneira sendo responsável pelo incremento de até 3,3 vezes o teor de fibras presente no biscoito controle, merecendo assim destaque, pois para portadores de doença celíaca os produtos sem glúten apresentam baixo teor de fibras por serem oriundos de farinhas refinadas ou amido.

Como se esperava, o teor de carboidratos diminuiu na medida em que se reduziu a quantidade de farinha de arroz na formulação e se aumentou a quantidade de farinha de semente de uva. Segundo Murga et al. (2000), a semente de uva tem baixo teor de carboidrato e uma maior quantidade de fibras e lipídeos.

O valor calórico expressado na Tabela 2 demonstra que a adição da farinha de semente de uva e consequente aumento do teor de fibras resultou na redução da energia calórica das amostras de biscoito enriquecidas com esta farinha.

## 4.2 COR E TEXTURA INSTRUMENTAL

Os resultados de cor instrumental estão dispostos na Tabela 4. A adição de farinha de semente de uva resultou em valores menores de luminosidade ou brilho ( $L^*$ ), ou seja, tornando as amostras de biscoito mais escuras. Os biscoitos desenvolvidos neste estudo apresentaram menores valores de luminosidade ( $L^*$ ) do que os apresentados por Schober et al. (2003), para biscoitos isentos de glúten ( $L^* = 70,3$  a  $75,2$ ), e os de Marangoni (2007), para biscoitos funcionais com farinha de yacon e aveia em flocos ( $L^* = 72,8$  a  $76,93$ ).

Tabela 4 - Medidas instrumentais de cor e textura dos biscoitos sem glúten elaborados com farinha de inhame e farinha de semente de uva.

Amostra	$L^*$	$a^*$	$b^*$	Textura (N)
Controle	$57,20 \pm 1,55$ a	$9,71 \pm 0,33$ b	$23,78 \pm 1,03$ a	$21,52 \pm 2,28$ b
A	$51,37 \pm 0,57$ b	$10,67 \pm 0,24$ a,b	$22,83 \pm 1,28$ a	$24,32 \pm 4,88$ b
B	$47,90 \pm 1,41$ c	$11,34 \pm 0,56$ a	$18,19 \pm 1,30$ b	$29,60 \pm 4,60$ a

Valores expressos como média  $\pm$  desvio padrão (n = 9).

Letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

A = Biscoitos com substituição de 25% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.

B = Biscoitos com substituição de 50% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.

$L^*$  (luminosidade ou brilho, variação de 0 a 100),  $a^*$  (variação de verde a vermelho, de -60 a +60) e  $b^*$  (variação de azul a amarelo, -60 a +60).

Em relação às coordenadas de cromaticidade, para a coordenada  $a^*$  (variação de verde a vermelho, de -60 a +60) observa-se que a adição de farinha de semente de uva em substituição parcial da farinha de arroz provocou o aumento no valor deste parâmetro, indicando uma tendência para a tonalidade avermelhada, como pode ser visto na Figura 5. Já para a coordenada  $b^*$  (variação de azul a amarelo correspondente a -60 a +60), observou-se um decréscimo no valor deste parâmetro ao se adicionar farinha de semente de uva, indicando uma tendência para a tonalidade amarela.

Figura 5 - Biscoitos sem glúten com farinha de inhame.



A = Biscoitos com substituição de 25% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.  
 B = Biscoitos com substituição de 50% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.  
 Fonte: Próprio autor.

Na Tabela 5 verificamos comparações da diferença de cor das amostras. Foi observado que a maior diferença de cor ocorreu entre as amostras controle e B, ou seja,  $\Delta E^* = 10,89$ . Quanto à diferença de cor, Tiwari et al. (2008) classificaram analiticamente as diferenças perceptíveis na cor em: muito distintas, distintas e pouco distintas, quando o valor de  $\Delta E^*$  for superior a 3,0, entre 1,5 e 3,0, e inferior a 1,5, respectivamente. De acordo com esta classificação, pode-se afirmar que houve em nosso estudo uma variação muito distinta na cor dos biscoitos analisados.

Tabela 5 - Diferença de cor dos biscoitos sem glúten com farinha de inhame.

	$\Delta E^*$
Controle-A	5.94
Controle-B	10.89
A-B	6.02

A = Biscoitos com substituição de 25% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.  
 B = Biscoitos com substituição de 50% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.  
 $\Delta E^*$  = Diferença de cor

Quanto à textura instrumental dos biscoitos, pode-se concluir a partir da Tabela 4 que houve variação significativa ( $p > 0,05$ ) entre as amostras controle e B, o que indica que a substituição de 50% da farinha de arroz por farinha de semente de uva aumentou a firmeza dos biscoitos em relação à formulação controle isenta de farinha de semente de uva.

#### 4.3 FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Na Tabela 6 são apresentados os valores de compostos fenólicos totais encontrados nos biscoitos sem glúten com farinha de inhame. A adição de farinha de semente de uva aos biscoitos resultou no aumento considerável de compostos fenólicos das amostras analisadas, obteve-se um teor 3 vezes maior relacionando as amostras controle e B, demonstrando a presença abundante destes compostos nos coprodutos da vinificação, como a semente de uva. Dessa forma, propriedades funcionais são incorporadas ao produto, potencializando assim os benefícios nutricionais do consumo destes biscoitos.

De acordo com o resultado que se encontra na Tabela 6 observamos que se obteve para a formulação com maior quantidade de farinha de semente de uva, ou seja, formulação B, um valor de 1,26 mg GAE/g, este teor de compostos fenólicos sendo 10,4 vezes maior em relação ao estudo feito por Perin e Schott (2011) que avaliaram cookies feitos com 10% de farinha do bagaço de uva, e obtiveram como resultado 0,1207 mg GAE/g.

Tabela 6 – Teor de Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante (DPPH) dos biscoitos sem glúten com farinha de inhame.

Amostra	Fenólicos Totais (mg GAE <sup>1</sup> /g)	DPPH (uMol TEAC <sup>2</sup> /g)
Controle	0,44 ± 0,02 c	1,56 ± 0,12 c
A	0,91 ± 0,02 b	3,71 ± 0,02 b
B	1,26 ± 0,08 a	5,15 ± 0,04 a

Valores expressos como média ± desvio padrão (n = 3).

Letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatisticamente significativa (p < 0,05).

A = Biscoitos com substituição de 25% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.

B = Biscoitos com substituição de 50% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.

<sup>1</sup>GAE = equivalente ao ácido gálico.

<sup>2</sup>TEAC = Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox.

Como mostra a Tabela 6, a atividade antioxidante aumentou mais de 330% relacionando as amostras controle e B. Obteve-se o valor de 5,15 µmol de Trolox/mL de atividade antioxidante para o extrato da amostra B, que contém o maior percentual de farinha de semente de uva, resultado esse semelhante ao encontrado no estudo de Perin e Schott (2011), no qual obtiveram 6,74 µmol de Trolox/mL em cookies feitos com 10% de farinha do bagaço de uva. Levando-se em consideração que a adição de compostos antioxidantes naturais em produtos processados representa um desafio em relação à preservação destes compostos frente aos tratamentos térmicos utilizados, observou-se no presente estudo que, mesmo nas temperaturas de forneamento aplicadas, os compostos antioxidantes mantiveram uma expressiva atividade nos biscoitos das formulações A e B. Sugere-se, assim, que a manutenção destes compostos na estrutura da matriz vegetal de origem pode contribuir na

proteção contra a perda de suas propriedades funcionais. Peng et al. (2010), relataram um decréscimo de 30-40% na atividade antioxidante de pães adicionados de extrato de semente de uva, resultante do processo de forneamento. Por outro lado, Davidov-Pardo et al. (2012), que avaliaram a microencapsulação de extratos de sementes de uva na adição destes antioxidantes aos cookies, observaram um acréscimo de até 800% na atividade antioxidante dos biscoitos.

#### 4.4 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

No Quadro 1 podemos observar que os biscoitos estão dentro do padrão microbiológico preconizado pelo Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, estabelecido na RDC nº 12 de 02/01/01 (BRASIL, 2001), estando aptos para o consumo e para os procedimentos de avaliação sensorial.

Quadro 1 – Verificação dos parâmetros microbiológicos dos biscoitos sem glúten com farinha de inhame.

MICROORGANISMOS	CONTAGEM
Bactérias aeróbias mesófilas (UFC/g)	$>10^{-1}$ UFC
Fungos – bolores e leveduras (UFC/g)	$>10^{-1}$ UFC
Coliformes a 45°C (termotolerantes) (NMP/g) e <i>Escherichia coli</i> /25 g	< 3
<i>Salmonella</i> spp.	Ausência/25 g
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	$>10^{-1}$ UFC

NMP = Número Mais Provável.

UFC = Unidade Formadora de Colônia.

#### 4.5 ANÁLISE SENSORIAL

Na Tabela 7 observamos as médias das notas atribuídas pelos provadores para cada atributo sensorial analisado. Verificamos que para o atributo aparência não houve diferença estatística significativa para a amostra controle em relação às amostras A e B, que obtiveram escore médio 7 e 6, que correspondem aos critérios “Gostei moderadamente” e “Gostei ligeiramente”, respectivamente. Já para o atributo cor, não houve diferença significativa entre a amostra controle e A, porém estas amostras diferiram estatisticamente em relação à amostra B. Tanto para o atributo cor quanto para o atributo aparência, as amostras controle e A

obtiveram melhores resultados em comparação com a amostra B. Para os atributos sabor, textura e impressão global, não houve diferença estatística significativa entre as amostras.

Tabela 7 – Resultados médios dos atributos sensoriais dos biscoitos de farinha de inhame sem glúten.

Atributos Sensoriais	Amostras		
	Controle	A	B
Aparência	7,12 a,b	7,40 a	6,54 b
Cor	7,16 a	7,44 a	6,32 b
Sabor	6,54 a	6,47 a	6,39 a
Textura	5,60 a	5,49 a	5,39 a
Impressão global	6,54 a	6,68 a	6,35 a

Valores expressos como média (n = 57).

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

A = Biscoitos com substituição de 25% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.

B = Biscoitos com substituição de 50% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.

Notas = 9 - Gostei muitíssimo, 8 - Gostei muito, 7 - Gostei moderadamente, 6 - Gostei ligeiramente, 5 - Nem gostei/nem desgostei, 4 - Desgostei ligeiramente, 3 - Desgostei moderadamente, 2 - Desgostei muito e 1 - Desgostei muitíssimo.

Bauer (2014) avaliou biscoitos integrais tipo cookie com a utilização de farinha extraída do bagaço de uva e encontrou médias semelhantes para os atributos sensoriais aparência e cor deste estudo, ou seja, média 7 que corresponde ao critério “Gostei moderadamente”.

Mariani et al. (2015) avaliaram biscoitos sem glúten a partir de farelo de arroz e farinhas de arroz e de soja e obtiveram médias menores para os atributos sensoriais analisados neste trabalho.

Quanto à cor, observa-se que as amostras melhor avaliadas sensorialmente, controle e A, correspondem, na determinação instrumental de cor, àquelas de maior luminosidade e com tonalidade tendendo a cor amarela.

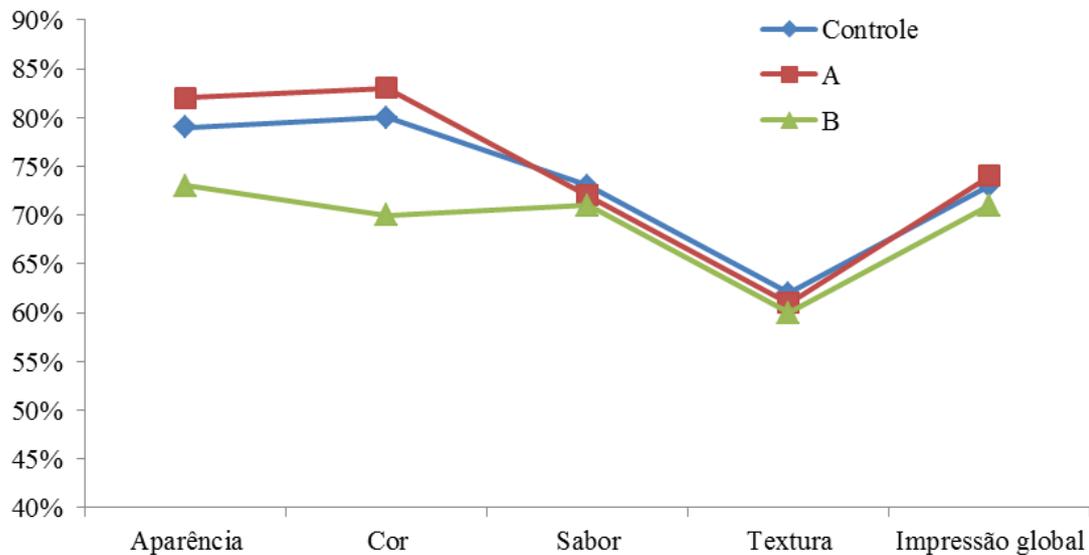
Quanto à textura, apesar de não haver diferença estatística na média das respostas atribuídas pelos provadores, na determinação da textura instrumental, a amostra B necessitou de maior força para se romper, apresentando assim uma textura mais firme, porém esta diferença não foi percebida na análise sensorial.

Na Figura 6 observa-se o índice de aceitação dos biscoitos de farinha de inhame sem glúten. O biscoito A obteve maior aceitação nos atributos aparência, cor e impressão global, com índices acima de 74%. Os biscoitos analisados obtiveram um índice de aceitação superior a 70 % para o atributo sabor, indicando que as amostras foram aceitas neste quesito. Em

relação à textura, o índice de aceitação foi semelhante para as três amostras, porém obteve-se índice abaixo de 70% para as amostras analisadas.

Borges, Bonilha e Mancini (2006) desenvolveram cookies utilizando farinhas provenientes de sementes de jaca e abóbora. Os biscoitos tiveram excelente aceitação, 90% dos consumidores gostaram de extremamente a muito, sendo este resultado semelhante ao encontrado neste estudo.

Figura 6 – Índice de aceitação (%) dos biscoitos de farinha de inhame sem glúten.



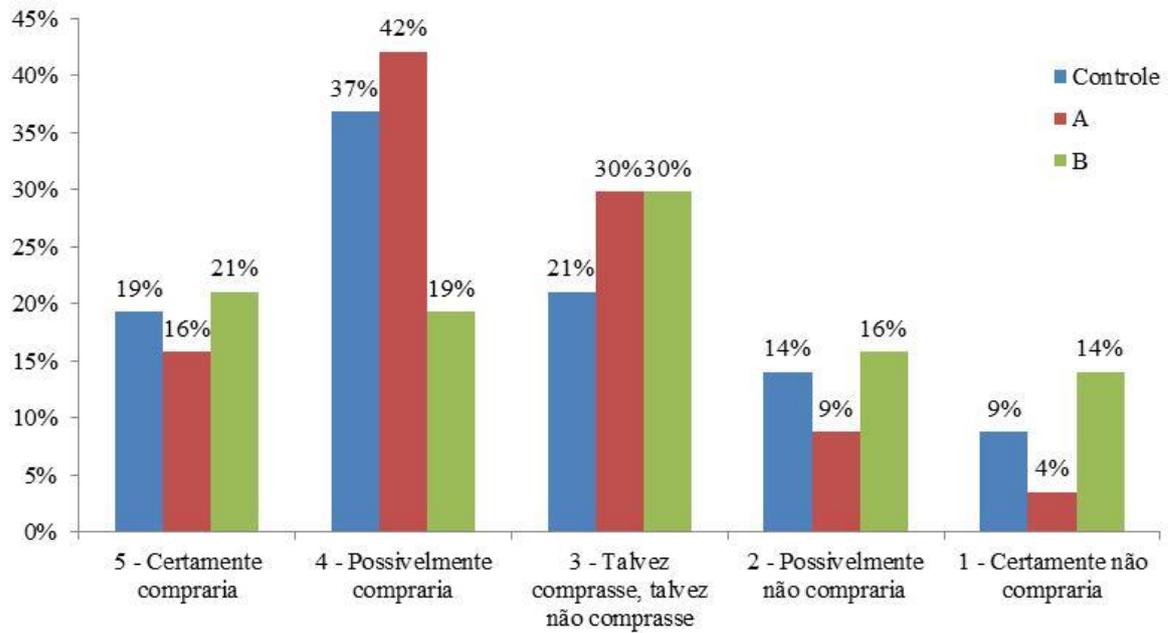
A = Biscoitos com substituição de 25% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.

B = Biscoitos com substituição de 50% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.

Fonte: Próprio autor.

Na Figura 7 estão os índices de intenção de compra dos biscoitos de farinha de inhame sem glúten. Considerando-se a amostra A, com substituição de 25% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva, 58% dos provadores indicaram que certamente ou possivelmente comprariam o biscoito caso estivesse disponível no mercado, enquanto apenas 13% indicaram que certamente ou possivelmente não comprariam. Podemos concluir que a amostra A apresenta maior potencial de comercialização em relação às demais amostras, pois obteve melhores índices de intenção de compra.

Figura 7 – Índice de intenção de compra dos biscoitos de farinha de inhame sem glúten.



A = Biscoitos com substituição de 25% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.  
 B = Biscoitos com substituição de 50% do teor de farinha de arroz na formulação por farinha de semente de uva.

Fonte: Próprio autor.

## 5 CONCLUSÃO

Os biscoitos sem glúten com farinha de inhame e enriquecidos com farinha de semente de uva desenvolvidos neste estudo têm grande potencial para suprir as carências nutricionais no que diz respeito ao aporte de fibras, além de possuir uma quantidade expressiva de antioxidantes e compostos fenólicos provenientes da semente de uva, que promovem benefícios para a saúde do consumidor. A valorização do inhame como cultura regional é assim associada ao aproveitamento do subproduto da vinificação, uma matéria orgânica rica que seria desprezada, refletindo em impacto ambiental, mas que pode representar agregação de valor no desenvolvimento de novos produtos.

Observou-se no presente estudo que, mesmo nas temperaturas de forneamento aplicadas, os compostos antioxidantes mantiveram uma expressiva atividade nos biscoitos das formulações A e B. Sugere-se, assim, que a manutenção destes compostos na estrutura da matriz vegetal de origem pode contribuir na proteção contra a perda de suas propriedades funcionais.

Os resultados apontam que a substituição de 25% da farinha de arroz por farinha de semente de uva na formulação dos biscoitos obteve melhor aceitação na análise sensorial. Em relação à textura dos biscoitos, percebeu-se que é um atributo que pode ser melhorado, mesmo sabendo-se que é muito difícil obter textura semelhante à de biscoitos com farinha de trigo, por isso estudos como esse são importantes para o aprimoramento dos produtos de panificação sem glúten, de tal forma que venha a atender cada vez melhor as necessidades desse público.

## REFERÊNCIAS

- ABE, L. T.; MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de uvas *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera*. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 394 - 400, 2007.
- ANDRADE, A. A.; COELHO, S. V.; MALTA, H. L.; JORGE, M. N. Avaliação sensorial de panificação enriquecidos com farinha de feijão branco para pacientes celíacos. **Nutrir Gerais**, v. 5, n. 8, p. 727-739, 2011.
- ARENDT, E. K.; O'BRIE, C. M.; GORMLEY, T. R., GALLAGHER, E. Development of gluten-free cereal products. **Farm and Food**, v.12, p. 21–27, 2002.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17th ed. Gaithersburg: AOAC, 2000.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE BISCOITOS, MASSAS ALIMENTÍCIAS E PÃO & BOLOS INDUSTRIALIZADOS - ABIMAPI. **Dados Estatísticos: Mercado Brasileiro de Biscoitos**. Disponível em: <<http://abima.com.br/estatistica-biscoito.php>>. Acesso em 11 abr. 2015.
- BAGCHI, D. et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: Importance in human health and disease prevention. **Toxicology**, v. 148, n. 2, p.187-197, 2000
- BARNES J.; ANDERSON L. A.; PHILLIPSON J. D. St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, n. 5, p. 583-600, 2001.
- BAUER, V. F. **Elaboração de biscoito integral tipo cookie com a utilização de farinha extraída do bagaço de uva**. Trabalho de conclusão de curso - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014
- BORGES, S. V.; BONILHA, C. C.; MANCINI, M. C. Sementes de jaca (*Artocarpus Integrifolia*) e de abóbora (*Curcubita Moshata*) desidratadas em diferentes temperaturas e utilizadas como ingredientes em biscoitos tipo cookies. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 3, p. 317-321, 2006.

BOYCE, M. C. Simultaneous determination of antioxidants, preservatives and sweeteners permitted as additives in food by mixed micellar electrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 847, p. 369-375, 1999.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução- RDC nº12 de janeiro de 2001. **Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Disponível em: < [http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC\\_12\\_2001.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES) > Acesso em: 28 nov. 2015.

BRASIL. Resolução RDC nº 263 de 22 de setembro de 2005. **Aprova o Regulamento Técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos, constantes do anexo desta Portaria**. Diário Oficial União, Brasília, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 18, de 30 de abril de 1999. **Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos**. Brasília, 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 19, de 30 de abril de 1999. **Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem**. Brasília, 1999b.

CANDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. Alimentos funcionais. Uma revisão. **Boletim da SBCTA**, v. 29, n. 2, p. 193-203, 2005.

CATANEO, C. B.; CALIARI, V. GONZAGA, L. V.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n.1, p. 93-102, 2008.

CÉSAR, A.S. et al. Elaboração de pão sem glúten. **Ceres**, v. 53, n. 306, p. 150-155, 2006.

COSTA, M. T. **Desenvolvimento de Cookies com gotas de chocolate – “Cookyτος”**. 2008. Disponível em: <<http://www.unimep.br/phpg/mostracademica/anais/6mostra/4/391.pdf>> Acesso em 11 abr. 2015.

CRAIG, D.; ROBINS, G.; HOWDLE P. D. Advances in celiac disease. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 23, p. 142-148. 2007.

DANI, C. **Avaliação nutricional, antioxidante, mutagênica e antimutagênica de sucos de uva orgânicos e convencionais**. Caxias do Sul, 90 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, 2006.

DAVIDOV-PARDO, J. E., FERNÁNDEZ, E., RUBIO, M., A. ALVARRUIZ AND G. L. ALONSO. Characterization of grape seed oil from different grape varieties (*Vitis vinifera*). **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, p. 188-193, 2009.

DONELLI, J. K.; ROBINSON, D. S. Free radical in foods. **Free Radical Resource**, v. 22, n. 2, p. 147-176, 1995.

DI MAMBRO, V. M.; MARQUELE, F. D.; FONSECA, M. J. V. Avaliação in vitro da ação antioxidante em formulações antienvhecimento. **Cosmetics & Toiletries**, v. 17, n. 4, p. 74-78, 2005.

DIXON, R. A.; HARRISON, M. J. Activation, structure, and organization of genes involved in microbial defense in plants. **Advances in Genetics**, v. 28, p. 165-234, 1990.

FELDMANN, K. A. Cytochrome P450s as genes for crop improvement. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 4, p. 162-167, 2001.

FIESP, 2015. **Pesquisa Nacional Fiesp/IBOPE sobre o Perfil do Consumo de Alimentos no Brasil**. Disponível em: <[http://www.abic.com.br/media/EST\\_PESQFoodTrendsI.pdf](http://www.abic.com.br/media/EST_PESQFoodTrendsI.pdf)>. Acesso em 21 abr. 2015.

FREITAS, C. J.; VALENTE D. R.; CRUZ, S. P. Caracterização física, química e sensorial de biscoitos confeccionados com farinha de semente de abóbora (FSA) e farinha de semente de baru (FSB) para celíacos. **Demetra**, v. 9, n. 4, p. 1003-1018, 2014.

HASLER, C. M. The Changing Face of Functional Foods. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. 5, p. 499-506, 2000.

HATZIDIMITRIOU, E.; NENADIAS, N.; TSIMIDOU, M.Z. Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity (aw) conditions. **Food Chemistry**, v. 105, p. 1504-1511, 2007.

JAYAPRAKASHA, G. K., SINGH, R. P., & SAKARIAH, K. K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. **Food Chemistry**, v. 73, p. 285-290, 2001.

JAYAPRAKASHA, G. K., SELVI, T., & SAKARIAH, K. K. Antibacterial and antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. **Food Research International**, v. 36, p. 117-122, 2003.

KÖHLER, N.; WRAY, V.; WINTERHALTER, P. Preparative isolation of procyanidins from grape seed extracts by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1177, p. 114-125, 2008.

KOPPER, A. C.; SARAIVA, A. P. K.; RIBANI, R. H.; LORENZI, G. M. A. C. Utilização tecnológica da farinha de bociúva na elaboração de biscoitos tipo cookie. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, n. 3, p. 463-469, 2009.

LIMA, F. A.; LIMA, C. S.; SANTOS, G. V.; VANZELA, E. S. L.; SILVA, R. **Aproveitamento do bagaço da uva Isabel de Jales para a produção de geléia**. Campus São José do Rio Preto – Instituto de Biociência, Letras e Ciências exatas – Engenharia de Alimentos, 2009.

LU, Y., FOO, Y. L. The polyphenol constituents of grape pomace. **Food Chemistry**, v. 65, p. 1-8, 1999.

MANLEY, D. J. R. **Technology of biscuits: crackers and cookies**. England: Ellis Horwood, p. 446, 1983.

MANN, J. **Secondary metabolism**. Oxford: Clarendon Press; p.374, 1987.

MARIANI, M. et al. Elaboração e avaliação de biscoitos sem glúten a partir de farelo de arroz e farinhas de arroz e de soja. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 1, p. 70-78, 2015.

MARANGONI, A. L. **Potencialidade de Aplicação de Farinha de Yacon (*Polymnia sonchifolia*) em Produtos à Base de Cereais**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

MARTI, A.; SEETHARAMAN, K.; PAGANI, M. A. Rice-based pasta: A comparison between conventional pasta -making and extrusion-cooking. **Journal of Cereal Science**, v. 52, n. 3, p. 404-409, 2010.

MELO, P. S. **Composição química e atividade biológica de resíduos agroindustriais.** Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, 2010.

MESQUITA, A. S. **Inhame – *Dioscorea cayennensis* Lam. – e taro – *Colocasia esculenta* (L.) Schott., cenários dos mercados brasileiro e internacional.** In: SANTOS, E. S. (Ed.). *Simpósio Nacional sobre as Culturas do Inhame e do Taro, 2., 2002.* João Pessoa, PB. Anais... João Pessoa, PB: EMEPA-PB, v.1, p. 312, 2002.

MONCADA, S.; HIGGS, A. **Nitric oxide: role in human disease.** *Encyclopedia of Life Sciences*, 2003. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1038/npg.els.0003390/full>> Acesso em: 13 de abr. 2015.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v.28, p.892-896, 2005.

MUÑOZ, S.; MESTRES, M.; BUSTO, O.; GUASCH, J. Determination of some flavan-3-ols and anthocyanidins in red grape seed and skin extracts by HPLC-DAD: Validation study and response comparison of different standards. **Analytica Chimica Acta**, v. 628, p. 104-110, 2008.

MURGA, R.; RUIZ, R.; BELTRÁN, S.; CABEZAS, J. L. Extraction of natural complex phenols and tannins from grape seeds by using supercritical mixtures of carbon dioxide and alcohol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n.8, p. 3408-3412, 2000.

OSBORNE, D. R.; VOOGT, P. **The analysis of nutrient in foods.** London: Academic, p. 47, 1978.

PENG, X., MA, J., CHENG, K.-W., JIANG, Y., F. CHEN AND M. WANG. The effects of grape seed extract fortification on the antioxidant activity and quality attributes of bread. **Food Chemistry**, v. 119, p. 49-53, 2010.

PEREIRA, B. S. et al. Análise físico-química e sensorial do pão de batata isento de glúten enriquecido com farinha de chia. **Demetra**, v. 8, p. 125-136, 2013.

PERIN, E. C.; SCHOTT, I. B. **Utilização de farinha extraída de resíduos de uva na elaboração de biscoito tipo *cookie*.** [Trabalho de Conclusão de Curso] Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2011.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.

PIMENTA-MARTINS, A. E. P., GOMES, A. M. P. Percepção do estado de saúde e da qualidade de vida numa amostra de celíacos portugueses. **Jornal Português de Gastroenterologia**, Elsevier, v. 21, n. 3, p. 109-116, 2014.

PIMENTEL, B. M. V.; FRANCKI, M.; GOLLÜCKE, B. P. **Alimentos funcionais: introdução as principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Editora Varela, 2005.

PIOVESANA, A; BUENO, M. M.; KLAJN, V. M.. Elaboração e aceitabilidade de biscoitos enriquecidos com aveia e farinha de bagaço de uva. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 1, p. 68-72, 2013.

POMPELLA, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. **International Journal of Vitamin and Nutrition Research**, v. 67, n. 5, p. 289-297, 1997.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, n. 2, p. 105-110, 2002.

SANDERS, M. E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v.8, p. 341-347, 1998.

SANTANA, J. S. **Elaboração de biscoitos com farinha de inhame: uma alternativa para celíacos**. [Trabalho de Conclusão de Curso] Curso Superior em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

SCHOBBER, T. J.; O'BRIEN, C. M.; McCARTHY, D.; DARNEDDE, A.; ARENDT, E. K. Influence of gluten-free flour mixes and fat powders on the quality of gluten-free biscuits. **European Food Research and Technology**, v. 216, p. 216-376, 2003.

SHRIKHANDE, A. J. Wine by-products with health benefits. **Food Research International**, v. 33, p. 469-474, 2000.

SILVA, R. M. G. S. **Uso da farinha de batata doce (*Ipamoea batatas*) em substituição parcial de farinha de trigo na produção de pão tipo francês**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, p. 79, 1991.

- SILVA, M. R.; SILVA, M. S.; MARTINS, K. A.; BORGES, S. Utilização tecnológica dos frutos de jatobá-do-cerrado e de jatobá-da-mata na elaboração de biscoitos fontes de fibra alimentar e isentos de açúcares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 176-182, 2001.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 4ª ed. São Paulo: Varela, p. 632, 2010.
- SINDHUJA A.; SUDHA M. L.; RAHIM A. Effect of incorporation of amaranth flour on the quality of cookies. **European Food Research and Technology**, v. 221, p. 597–601, 2005.
- SOUSA, C. M. M.; SILVA H. R.; VIEIRA G. M.; AYRES M. C. C.; COSTA, C. S.; ARAÚJO D. S. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.
- SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.
- TARAC, 2015. **Grape seeds**. Disponível em: <<http://www.tarac.com.au/wine-industry/products/grape-seeds>> Acesso em 20 abr. 2015.
- TAYLOR, J. R. N.; PARKER, M. L. **Quinoa**. In: Pseudocereals and less common cereals, grain properties and utilization potential. **Berlin: Springer Verlag**, p. 93–122, 2002.
- TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. **Análise sensorial de alimentos**. Florianópolis: UFSC, p. 180, 1987
- TIWARI, B. K.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; O'DONNELL, C. P.; CHENCHAIAH, M.; CULLEN, P. J. Effect of ozonization on the rheological and colour characteristics of hydrocolloid dispersions. **Food Research International**, v. 41, n. 10, p. 1035-1043, 2008.
- THOMPSON, T et al. Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommend amount of fibre, iron, calcium and grain foods?. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, v. 18, n. 3, p. 163-169, 2005.
- TRONCONE, R., AUROCCHIO, R., GRANATA, V. Issues related to gluten free diet in coeliac disease. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 11, p. 329-333, 2008.

VAN DE KAMER, J.H.; VAN GINKEL, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. **Cereal Chemistry**, v. 29, n. 4, p. 239-251, 1952.

VEDANA, M. I. S. **Efeito do processamento na atividade antioxidante da uva.** Dissertação (Mestrado em Tecnologia em Alimentos) Universidade Federal do Paraná (UFPR), p. 88, 2008.

WAKIM-FLEMING, J., M. R. PAGADALA, A. J. MCCULLOUGH, R. LOPEZ, A. E. BENNETT, D. S. BARNES, AND W. D. CAREY. Prevalence of celiac disease in cirrhosis and outcome of cirrhosis on a gluten free diet: A prospective study. **Journal of Hepatology**, v. 61, p. 558-563, 2014.

XU, C. et al. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1557-1565, 2010.



## APÊNDICES

Apêndice A – Questionário de Recrutamento.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO REGIONAL

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

### Questionário de recrutamento para análise sensorial de biscoito

Prezado participante, convido você a responder este questionário cujo objetivo de sua aplicação é recrutar pessoas que possuam interesse e disponibilidade de tempo em participar de uma análise sensorial de biscoito sem glúten.

Nome: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_ E-mail: \_\_\_\_\_

1. **Faixa etária:** ( ) 18-30 ( ) 31-40 ( ) 41-50 ( ) 51-59

2. **Gênero:** ( ) Feminino ( ) Masculino

3. **Grau de escolaridade:**

( ) Ensino médio completo ( ) Ensino superior incompleto ( ) Ensino superior completo

( ) Pós-Graduação incompleta ( ) Pós-Graduação completa

4. **Consome biscoito?** ( ) Não ( ) Sim

5. **Se SIM, com que frequência consome?** ( ) Diariamente ( ) Semanalmente

( ) Quinzenalmente ( ) Mensalmente ( ) Raramente

6. **Apresenta alguma intolerância alimentar (ex.: a glúten, a lactose, ...)**

( ) Não ( ) Sim

Quais? \_\_\_\_\_

7. **Apresenta alguma alergia alimentar (ex.: crustáceo, amendoim, ...)**

( ) Não ( ) Sim

Quais? \_\_\_\_\_

8. **Apresenta alguma restrição alimentar em virtude de alguma doença (ex.: diabetes, dislipidemia,..)**

( ) Não ( ) Sim

Quais? \_\_\_\_\_

9. **Tem disponibilidade para participar da análise sensorial?** ( ) Não ( ) Sim

**Obrigado por sua participação!**

Apêndice B - Ficha para realização do teste sensorial de aceitação e intenção de compra.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO REGIONAL**  
**DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**  
**AVALIAÇÃO SENSORIAL**

Nome: ..... Data: ...../...../.....

A. Você irá receber três amostras de biscoitos tipo cookie. Avalie cada uma das amostras codificadas da esquerda para a direita e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra.

- 9 - Gostei muitíssimo
- 8 - Gostei muito
- 7 - Gostei moderadamente
- 6 - Gostei ligeiramente
- 5 - Nem gostei/nem desgostei
- 4 - Desgostei ligeiramente
- 3 - Desgostei moderadamente
- 2 - Desgostei muito
- 1 - Desgostei muitíssimo

Amostra	Aparência	Cor	Sabor	Textura	Impressão Global

B. Você compraria este produto?

- 5 - Certamente compraria
- 4 - Possivelmente compraria
- 3 - Talvez comprasse, talvez não comprasse
- 2 - Possivelmente não compraria
- 1 - Certamente não compraria

Amostra	Valor

Comentários:

.....  
 .....

Obrigado por sua participação!

Apêndice C – Termo de consentimento livre e esclarecido.

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Prezado (a) Senhor (a)

Esta pesquisa é sobre a elaboração de biscoitos sem glúten e está sendo desenvolvida pelos pesquisadores Thiago da Silva Lima, aluno do Curso de Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do Prof. Dr. Ismael Ivan Rockenbach e está norteado pela Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

Os objetivos do estudo são o aproveitamento da matéria-prima inhame como substituinte da farinha de trigo na elaboração de biscoitos sem glúten para a população celíaca.

A finalidade deste trabalho é contribuir para o desenvolvimento de um produto alimentício com valor nutritivo significativo, agregando valor a uma matéria-prima pouco utilizada.

Solicitamos a sua colaboração para a avaliação sensorial de biscoito sem glúten, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de alimentos e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Informamos que essa pesquisa não oferece riscos, previsíveis, para a sua saúde. Durante o decorrer da análise sensorial, caso o(a) senhor(a) se sentir constrangido a responder determinada pergunta e não querer proceder com o teste sensorial, é possível não responder ou deixar o local sem qualquer prejuízo. Os benefícios deste estudo incluem o desenvolvimento de um produto alimentício com valor nutritivo significativo, agregando valor a uma matéria-prima pouco utilizada.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador. Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano.

Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

---

Assinatura do Participante da Pesquisa  
ou Responsável Legal

---

Assinatura da Testemunha

Contato do Pesquisador Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para o pesquisador Prof.

Ismael Ivan Rockenbach

Endereço (Setor de Trabalho): Departamento de Tecnologia de Alimentos /CTDR/UFPB

Avenida dos Escoteiros, s/nº, Mangabeira VII

Distrito Industrial de Mangabeira, João Pessoa - PB, CEP 58055-000

Telefone: 83-99672565

Ou

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba

Campus I - Cidade Universitária - 1º Andar – CEP 58051-900 – João Pessoa/PB

☎ (83) 3216-7791 – E-mail: [eticaccsufpb@hotmail.com](mailto:eticaccsufpb@hotmail.com)

Atenciosamente,

---

Dr. Ismael Ivan Rockenbach

Assinatura do Pesquisador Responsável

---

Thiago da Silva Lima,

Assinatura do Pesquisador Participante

Obs.: O sujeito da pesquisa ou seu representante e o pesquisador responsável deverão rubricar todas as folhas do TCLE apondo suas assinaturas na última página do referido Termo.

Apêndice D – Certidão de aprovação no comitê de ética.

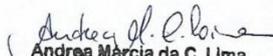


UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

### CERTIDÃO

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou por unanimidade na 12ª Reunião realizada no dia 11/12/2014, o Projeto de pesquisa intitulado: **“ELABORAÇÃO DE BISCOITO COM FARINHA DE INHAME: UMA ALTERNATIVA PARA CELÍACOS”**, do pesquisador Ismael Ivan Rockenbach. Protocolo 0648/14. CAAE: 39397214.9.0000.5188.

Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à apresentação do resumo do estudo proposto à apreciação do Comitê.

  
Andrea Márcia da C. Lima  
Mat. SIAPE 1117510  
Secretária do CEP-CCS-UFPB