



COMPARAÇÃO ENTRE OS PROCESSOS FERMENTATIVOS NATURAIS DE POLPAS DE PIMENTA TABASCO (*Capsicum frutescens*) COM E SEM ADIÇÃO DE SAL

V. L. de FARIAS^{1,2}, D. S. GARRUTI¹, G. A. S. PINTO¹

¹EMBRAPA Agroindústria Tropical

e-mail: gustavo@cnpat.embrapa.br / deborah@cnpat.embrapa.br

²Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia Química

e-mail: virnaluiza@yahoo.com.br

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi comparar a fermentação natural de polpas de pimenta Tabasco com e sem adição de sal. As polpas *in natura* e contendo 10% (m/m) de cloreto de sódio foram avaliadas por meio de análises microbiológicas, químicas e físico-químicas e enzimáticas, durante 9 semanas. As enterobactérias foram inibidas na terceira semana nas duas polpas. Na ausência de sal observou-se produção de gás nos recipientes. As bactérias lácticas, homofermentativas, predominaram, decrescendo com o tempo. O pH decresceu e a acidez aumentou, sendo esta maior na polpa sem sal. Não foi detectada atividade de poligalacturonase (PG) e pectinoliase (PL), enquanto a de pectinametilsterase (PME) foi detectada em ambas as polpas. Apesar de o sal ter reduzido a população dos microrganismos responsáveis pela fermentação da polpa, ele direcionou o processo para uma fermentação homoláctica, sem produção de gás.

PALAVRAS-CHAVE: *Capsicum*; cloreto de sódio; bactérias lácticas; pectinases.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum* (família *Solanaceae*) compreende mais de 200 variedades de pimentas e é o mais cultivado no mundo (CONTRERAS-PADILLA; YAHIA, 1998). Os atributos de promoção de benefícios à saúde, nutricional e sensorial fazem das pimentas um dos vegetais mais consumidos mundialmente. Os frutos de pimenta possuem um largo espectro de compostos antioxidantes, em particular, polifenóis, vitamina C, flavonóides e carotenóides (DI CAGNO *et al.*, 2009 a).

Os vegetais são freqüentemente contaminados por um grande número de microrganismos deteriorantes e, em alguns

casos, patogênicos, devido ao seu contato com o solo durante o cultivo e a colheita. A fermentação ácido-láctica de vegetais, usualmente utilizada como um método de biopreservação para a manufatura de produtos prontos e semiprontos, é uma biotecnologia importante para manter e/ou melhorar as propriedades de segurança, nutricionais, sensoriais e de vida-de-prateleira. Uma das opções de tecnologia geralmente considerada para a fermentação ácido-láctica de vegetais é a fermentação espontânea por bactérias ácido-láticas autóctones (DI CAGNO *et al.*, 2009 b).

Quando ocorre espontaneamente, a fermentação de vegetais é freqüentemente caracterizada pela sucessão de bactérias ácido



láticas hetero e homofermentativas, juntamente ou não com leveduras, responsáveis pelos processos de fermentação em várias etapas (DI CAGNO *et al.*, 2009 b). Um entendimento da dinâmica microbiana durante a fermentação natural pode permitir uma fermentação mais rápida e obtenção de um produto final de melhor qualidade (SILVA *et al.*, 2008).

A fermentação de pimentas é um processo complexo e dinâmico dependente de vários fatores. Fatores intrínsecos da planta incluem a presença de enzimas e carboidratos disponíveis. Fatores externos como temperatura, pH, concentração de sal, exposição ao ar e contaminação microbiana também são importantes para tal processo (FLORES *et al.*, 2007).

O processo fermentativo de vegetais inicia-se com a adição de sal, em geral, o cloreto de sódio (CRISÓSTOMO *et al.*, 2008). O sal serve como agente de seleção para bactérias ácido láticas homofermentativas, que rapidamente crescem e convertem açúcares fermentescíveis a ácido láctico e outros produtos finais (MARUVADA; MCFEETERS, 2009).

Durante a fermentação, o tecido vegetal é desintegrado, uma enzima específica age a nível celular. A pectinametilesterase (PME) atua especificamente quebrando grupos metil em cadeias lineares de pectina, encontradas em paredes celulares, liberando ácido pectico, metanol e íons hidrogênio (FLORES *et al.*, 2007).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi comparar a fermentação natural de polpas de pimenta Tabasco com e sem adição de sal.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

Foram utilizadas para o estudo pimentas Tabasco (*Capsicum frutescens*) cedidas pela Agropecuária Avaí (Limoeiro do Norte-CE). As pimentas foram trituradas em liquidificador industrial, no Laboratório de Processos Agroindustriais da EMBRAPA Agroindústria Tropical, sendo que metade foi adicionada de 10% (m/m) de cloreto de sódio no momento do processamento. As polpas foram acondicionadas em frascos de vidro de 260 g de capacidade, com tampa e hermeticamente fechados, ao abrigo da luz e em temperatura ambiente. A cada recipiente foram adicionados cerca de 180 g de polpa. Amostras de polpa sem e com sal foram retiradas durante 9 semanas para análises microbiológicas, físico-químicas e enzimáticas.

2.2 Determinação do pH, acidez e açúcares redutores

O pH foi medido em potenciômetro, segundo metodologia 201/IV IAL (2004); a acidez titulável foi medida por potenciometria e expressa como a quantidade (mL) de NaOH 0,1N para atingir o pH 8,3, segundo metodologia 311/IV IAL (2004). A concentração de açúcares redutores totais foi determinada, em glicose, pelo método do ácido dinitrosalicílico (MILLER, 1959).

2.3 Análises microbiológicas

Amostras de 25 g foram assepticamente suspensas em 225 mL de água peptonada tamponada estéreis, homogeneizadas e diluídas sucessivamente. As polpas foram avaliadas quanto às contagens de enterobactérias, bactérias ácido láticas e bolores e leveduras, segundo Downes e Ito (2001) e Tournas *et al.* (2009).



A contagem de enterobactérias foi realizada em meio agar bile vermelho brilhante (VRBA). Utilizou-se o caldo HHD desenvolvido por MacDonald et al. (1987) adicionado de agar bacteriológico, para contagem e diferenciação de bactérias lácticas homo e heterofermentativas. Bolores e leveduras foram quantificados em agar batata dextrose (PDA) acidificado com 10% de ácido tartárico.

As placas foram incubadas em estufa biológica a 35°C por 24 horas para enterobactérias, a 30°C por 72 horas e em jarra de anaerobiose para bactérias ácido lácticas, e a 21°C por 96 horas para bolores e leveduras.

2.4 Análises enzimáticas

As polpas foram analisadas quanto à atividade das enzimas pectinolíticas poligalacturonase (PG), pectinametilsterase (PME) e pectinoliase (PL), segundo Couri et al. (2000), Jen e Robinson (1984), Zetelaki e Harváth (1982), respectivamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se um decréscimo na concentração de bactérias lácticas, bolores e leveduras e enterobactérias com o tempo nas polpas avaliadas, conforme mostram as Figuras 1 e 2. Com exceção de bolores e leveduras, a população dos outros microrganismos avaliados foi maior do que na polpa de pimenta Tabasco com sal estudada por Crisóstomo et al. (2008).

Em ambas as polpas (sem e com sal) não foram detectadas a presença de enterobactérias a partir da terceira semana de avaliação, o que garante uma segurança microbiológica deste produto após esse tempo de fermentação. Em Crisóstomo et al. (2008) as enterobactérias foram inibidas já na segunda semana. Essa variação pode ser

devido à maior carga microbiana inicial na polpa utilizada neste trabalho.

Diferenças no processo fermentativo de um mesmo tipo de pimenta, nas mesmas condições, podem ocorrer devido à variação da composição e concentração de características químicas, como conteúdo de açúcares, pH, acidez; assim como da microbiota presente, resultante de diferenças na genética e grau de maturação da matéria-prima.

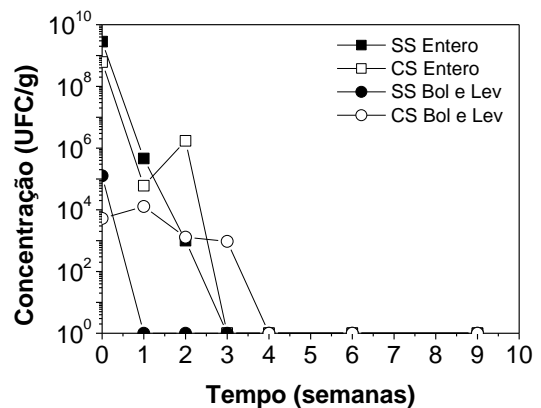


Figura 1 – Populações de enterobactérias e bolores e leveduras (Bol e Lev) nas polpas de pimenta sem sal (SS) e com sal (CS).

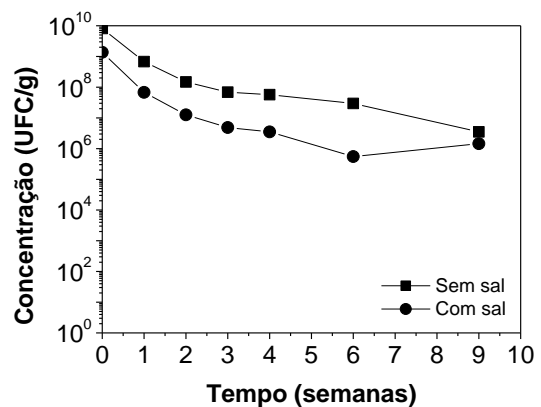


Figura 2 – Populações bacterias lácticas (BAL) nas polpas de pimenta sem e com sal.

As contagens de bactérias lácticas decresceram ao longo do tempo, entretanto na polpa com sal essa redução foi mais significativa, conforme mostra a Figura 2.



Isso foi comprovado uma vez que entre o tempo 0 e a 6ª semana de avaliação, a concentração de bactérias lácticas decresceu 99,64% na ausência do sal e 99,96% na polpa salgada. Após a 6ª semana, a concentração continuou decrescendo na polpa sem sal, havendo uma redução de 99,96% da população inicial na 9ª semana; enquanto na presença do sal observou-se uma elevação de 0,07% da população de bactérias lácticas.

As bactérias homofermentativas convertem 95% dos açúcares fermentescíveis em ácido lático, ao passo que as heterofermentativas formam uma quantidade de outros produtos como etanol, ácido acético, glicerol e gás carbônico (SILVA e MURATORE, 2003). Apesar de as bactérias lácticas homofermentativas terem predominado durante praticamente todo o período de estudo principalmente na polpa sem sal, conforme mostra a Figura 3, esta apresentou formação de gás no interior do recipiente em todos os tempos de avaliação, o que não ocorreu na presença do sal. Isso foi verificado através da presença de espaços vazios na polpa, conforme mostra a Figura 4.

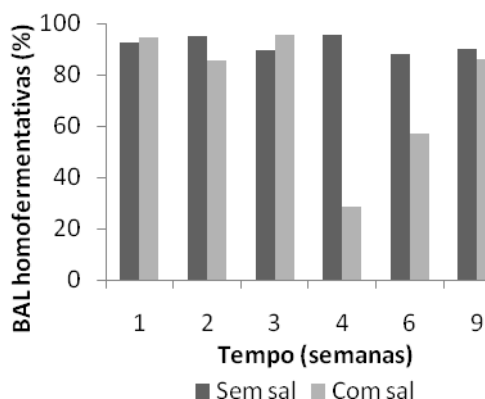


Figura 3 – Percentual de bactérias lácticas (BAL) homofermentativas durante as semanas 1 a 9 de avaliação das polpas de pimenta.

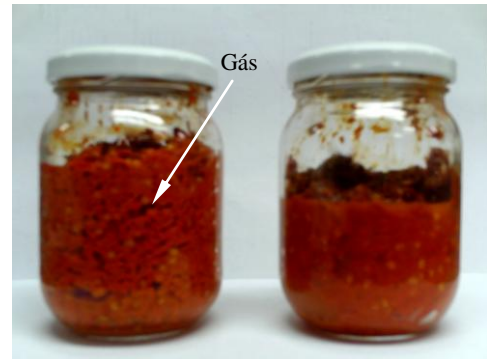


Figura 4 – Comparação visual entre as polpas de pimenta sem e com sal, respectivamente.

Devido à maior população de bactérias lácticas na polpa sem sal em comparação com a polpa salgada, esta apresentou menor pH e maior acidez ao longo do tempo de avaliação das amostras.

Os perfis de pH nos dois tipos de polpa estudados foram semelhantes ao longo do tempo. Na presença de sal, o pH variou de 6,03 a 5,39, enquanto na polpa sem sal a variação foi de 5,81 a 4,67, conforme mostra a Figura 5.

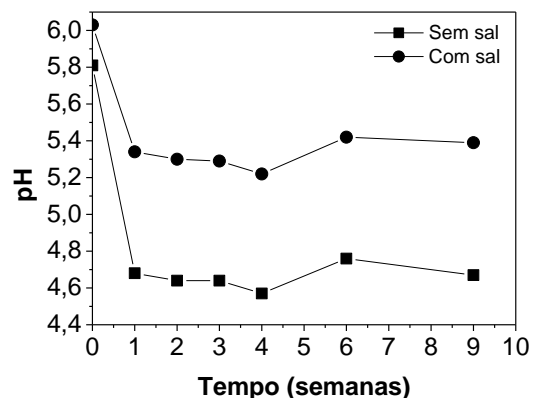


Figura 5 – Perfis de pH das polpas de pimenta.

Na polpa sem sal a acidez variou de 3,69 a 16,31% enquanto na presença de sal o aumento foi de apenas 2,40 para 4,56%, conforme mostra a Figura 6.

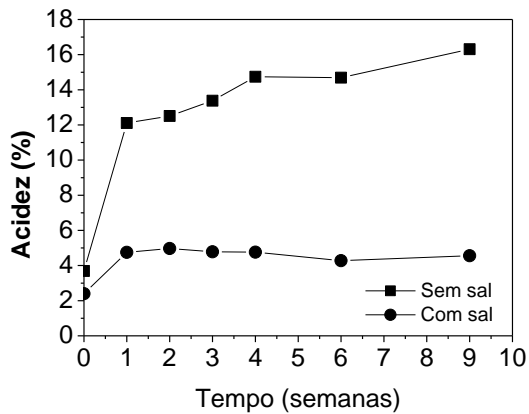


Figura 6 – Perfis de acidez das polpas de pimenta.

Dentre as enzimas pectinolíticas dosadas, somente a atividade de pectinametilesterase foi detectada em ambas as polpas, conforme mostra a Figura 7, sendo esta maior na polpa sem sal, uma vez que o sal inibe a atividade enzimática.

O fato de não ter sido detectada atividade de enzimas pectinolíticas despolimerizantes (PL e PG) pelo método analítico utilizado, não significa sua ausência nas polpas. Estas enzimas, quando atuam na pectina do tecido vegetal, liberam grupos redutores.

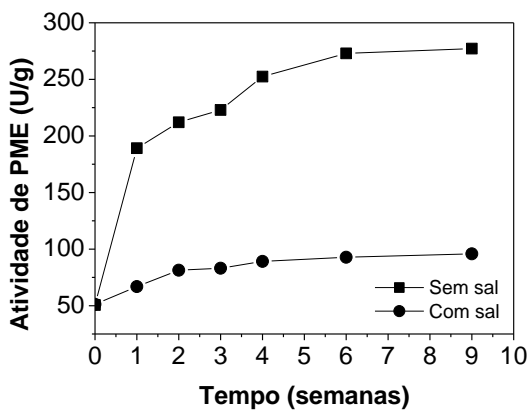


Figura 7 – Atividade de pectinametilesterase (PME) nas polpas de pimenta.

A concentração de açúcares redutores inicial foi semelhante nos dois tipos de polpa.

Na ausência de sal, os açúcares decresceram com o tempo. Apesar da redução das populações dos microrganismos avaliados, o decréscimo dos açúcares redutores se deve ao seu consumo pelos microrganismos ainda viáveis, presentes na polpa, para a manutenção do seu metabolismo. Também pode ter havido seu consumo por outros microrganismos que não foram quantificados.

Na presença do sal, a concentração de açúcares redutores aumentou, conforme mostra a Figura 8. García-Martínez et al. (2006) reportaram fato semelhante durante a fermentação de pimenta jalapeño (*Capsicum annuum* L.), e atribuíram tal comportamento à possível mudança ou desvio de alguma rota metabólica dos microrganismos, fazendo com que utilizassem fontes alternativas de carbono em vez de açúcares hidrossolúveis. Segundo os autores, esta alteração seria dependente das condições do meio. Associado a isso, dentro dos grupos de microrganismos acompanhados, existem diferenças bioquímicas entre espécies, e a presença do sal pode ter direcionado a seleção de microrganismos que não são capazes de assimilar grupos redutores resultantes da degradação da pectina do tecido vegetal.

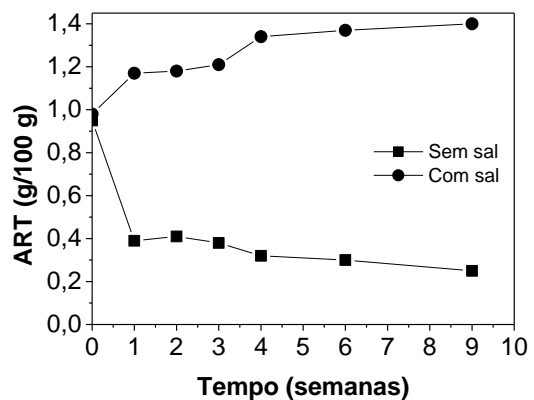


Figura 8 – Concentração de açúcares redutores (ART) nas polpas de pimenta.



4. CONCLUSÃO

Apesar de o cloreto de sódio ter reduzido a população dos microrganismos responsáveis pela fermentação da polpa de pimenta, ele direcionou o processo para uma fermentação homolática, sem produção de gás, o que é um aspecto positivo a nível industrial.

5. REFERÊNCIA

CONTRERAS-PADILLA, M.; YAHIA, E.M. Changes in capsaicinoids during development, maturation, and senescence of chile peppers and relation with peroxidase activity. *J. Agric. Food Chem.*, v.46, p.2075-2079, 1998.

COURI, S.; TERZI, S. C.; PINTO, G. A. S.; FREITAS, S. P.; COSTA, A. C. A. Hydrolytic enzyme production in solid-state fermentation by *Aspergillus niger* 3T5B8. *Process Biochemistry*. n. 36, p. 255-261, 2000.

CRISÓSTOMO, J.R.; FURTADO, R.F.; BARRETO, P.D.; DE MIRANDA, F.R.; GONDIM, R.S.; BLEICHER, E.; RODRIGUEZ, S.M.M.; PINTO, G.A.S.; DE BRITO, E.S.; LIMA, J.A.A.; PEREIRA, R.C.A.; FILHO, R.R.R.; FREITAS, J.G.; FILHO, L.L.M.M.; FILHO, F.A.C.R. Pesquisa e desenvolvimento para o agronegócio pimenta no Ceará. *Documentos: Embrapa Agroindústria Tropical*. Fortaleza-CE, nov. 2008.

DI CAGNO, R.; SURICO, R. F.; MINERVINI, G.; DE ANGELIS, M.; RIZZELLO, C.G.; GOBBETTI, M. Use of autochthonous starters to ferment red and yellow peppers *Capsicum annum* L.) to be stored at room temperature. *International Journal of Food Microbiology*, v.130, p.108-116, 2009 a.

DI CAGNO, R.; SURICO, R. F.; PARADISO, A.; DE ANGELIS M.; SALMON, J; BUCHIN, S.; DE GARA, L.; GOBBETTI, M. Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices. *International Journal of Food Microbiology*, v.128, p.473-483, 2009 b.

DOWNES, F. P., ITO, K. *Compendium of Methods of the Microbiological Examination of Foods*. 4ª ed. American Public Health Association, Washington, D. C., 2001.

FLORES, N. C.; VANLEEUEWEN, D.; PENNOCK, R. D. The effect of calcium on microbial quality and consistency of chile pepper (*Capsicum annum* cv. *Mesilla Cayenne*) mash during fermentation. *LWT*, v.40, p.1482-1487, 2007.

GARCÍA-MARTÍNEZ, I.; GONZÁLEZ, N. G. M.; GONZÁLEZ, L. R. G.; PINEDA, F. N. Estudios preliminares de la fermentación de chile jalapeño (*Capsicum annum* L.). *Investigación Universitaria Multidisciplinaria*, Año 5, N°5, diciembre, p. 36-42, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas Analíticas: Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. IAL: São Paulo, 2004. 4. ed. 1004 p.

JEN, J. J.; ROBINSON, M. L. Pectolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annum* L.). *Journal of Food Science*, Mysoure, v.49, p.1085-1087, 1984.

MARUVADA, R.; MCFEETERS, R.F. Evaluation of enzymatic and non-enzymatic softening in low salt cucumber fermentations. *Journal of Food Science and Technology*, v. 44, p. 1108-1117, 2009.

McDONALD, L. C.; McFEETERS, R. F.; DAESCHEL, M. A.; FLEMING, H. P. A differential medium for the enumeration of



homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, v.53, n.6, p. 1382-1384, 1987.

MILLER, G. L. Use of DNS a reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Chem.*, v.31, p.426-428, 1959.

SILVA, C. F.; BATISTA, L. R.; ABREU, L. M.; DIAS, E. S.; SCHWAN, R. F. Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. *Food Microbiology*, v.25, p.951-957, 2008.

SILVA, G. A.; MURATORE, L. Influência da fermentação maloláctica espontânea sobre a evolução da acidez volátil em vinhos cabernet sauvignon. In: *XIV-Sinaferm*, 2003, Florianópolis. Anais do SINAFERM 2003 - XIV Simpósio Nacional de Fermentações, 2003. p. 1-7.

TOURNAS, V.; STACK, M. E.; MISLIVEC, P. B.; KOCH, H. A.; BANDLER, R. Yeasts, Molds and Mycotoxins. In: *Food Drug Administration* (Ed.). Bacteriological analytical manual online. 8rd ed. Gaithersburg: AOAC International, 2001. Chap. 18. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm071435.html>>. Acesso em: 25.10.2009.

ZETELAKI, Z.; HARVÁTH. Factors affecting pectin lyase activity. *Acta Alimentaria*, v.11, n.1, p.21-29, 1982.