

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Rayssa Cruz Lima do Nascimento

**CONSUMO DE SÓDIO E SAÚDE PÚBLICA: EXTRATO DO MESOCARPO DE
COCO BABAÇU (*Attalea speciosa*) COMO ALTERNATIVA PARA SUPRIR A
REDUÇÃO DE NaCl EM QUEIJO MINAS FRESCAL**

Rio de Janeiro

2023

Rayssa Cruz Lima do Nascimento

CONSUMO DE SÓDIO E SAÚDE PÚBLICA: EXTRATO DO MESOCARPO DE COCO
BABAÇU (*Attalea speciosa*) COMO ALTERNATIVA PARA SUPRIR A REDUÇÃO DE
NaCl EM QUEIJO MINAS FRESCAL

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado Acadêmico do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Antonio Eugenio Castro Cardoso de Almeida

Co-orientadores: Carlos Adam Conte Junior e Anna Paula Azevedo de Carvalho

Rio de Janeiro

2023

Catálogo na Fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Nascimento, Rayssa Cruz Lima do

Consumo de sódio e saúde pública: extrato do mesocarpo de coco babaçu (*Attalea speciosa*) como alternativa para suprir a redução de NaCl em queijo minas frescal. / Rayssa Cruz Lima do Nascimento. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2023.

77 f. : fig. ; graf. ; tab.

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Vigilância Sanitária) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2023.

Orientador: Antonio Eugenio Castro Cardoso de Almeida. Co-orientador: Carlos Adam Conte Junior e Anna Paula Azevedo de Carvalho.

1. Queijos. 2. Cloreto de Sódio. 3. Hipertensão. 4. Compostos Fitoquímicos. 5. Saúde Pública. I. Título.

Sodium Consumption and Public Health: Babassu Coconut (*Attalea speciosa*) Mesocarp Extract as an Alternative to Compensate for the Reduction of NaCl in Minas Frescal Cheese.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – Brasil (FAPERJ) – Número de Concessão E-26/201.402/2023, E-26/385.621/2022.”

“This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001, and by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – Brasil (FAPERJ) – Grant Number E-26/201.402/2023, and E-26/385.621/2022.”

Rayssa Cruz Lima do Nascimento

CONSUMO DE SÓDIO E SAÚDE PÚBLICA: EXTRATO DO MESOCARPO DE COCO
BABAÇU (*Attalea speciosa*) COMO ALTERNATIVA PARA SUPRIR A REDUÇÃO DE
NaCl EM QUEIJO MINAS FRESCAL

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado Acadêmico do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Antonio Eugenio Castro Cardoso de Almeida

Co-orientadores: Carlos Adam Conte Junior e Anna Paula Azevedo de Carvalho

Aprovada em 09 / 11 / 2023

BANCA EXAMINADORA

Dr. Ivano Raffaele V. de Filippis Capasso
Fundação Oswaldo Cruz

Dra. Carini Aparecida Lelis
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dra. Marion Pereira da Costa
Universidade Federal da Bahia

ORIENTADORES

Dr. Antonio Eugenio Castro Cardoso de Almeida
Fundação Oswaldo Cruz

Dr. Carlos Adam Conte Junior
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dra. Anna Paula Azevedo de Carvalho
Universidade Federal do Rio de Janeiro

A todos que estiveram ao meu lado, obrigada por acreditarem em mim. Este trabalho é dedicado a vocês, como uma expressão da minha profunda gratidão.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela imensa bondade todos os dias da minha vida, especialmente durante essa trajetória.

Aos meus pais Paulo e Marluvia, por sempre acreditarem e incentivarem os meus estudos. Obrigada por tudo.

Ao meu esposo Leandro. Obrigada por ser meu suporte durante as circunstâncias difíceis. Agradeço pela compreensão, carinho e afeto, que com certeza tornaram a caminhada mais leve. Essa conquista é nossa.

Aos meus sobrinhos por serem a minha fonte de energia inesgotável. Desculpe minha ausência, espero ser uma referência para vocês.

Aos meus orientadores, Professor Carlos e Eugênio. Obrigada pela oportunidade de trabalharmos juntos e por todo ensinamento compartilhado.

À minha co-orientadora Anna Paula. Agradeço pela disponibilidade, trocas de conhecimento e por toda contribuição científica.

Aos colegas do Núcleo de Análise de Alimentos (NAL) e Laboratório de Análises Avançadas em Bioquímica e Biologia Molecular (LAABBM). Obrigada por me ajudarem nas inúmeras dificuldades que surgiram.

Ao Instituto Nacional de Qualidade em Saúde, pelos profissionais de excelência e infraestrutura disponível.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ). Agradeço pelo fomento para desenvolvimento da minha pesquisa.

A ciência sem a religião é manca, a religião
sem a ciência é cega.

Albert Einstein

RESUMO

O queijo é um produto lácteo com alto valor nutricional. No Brasil, o queijo Minas frescal se destaca como um dos laticínios mais tradicionais, levemente ácido e salgado. A legislação brasileira não estabelece limite máximo para o cloreto de sódio (NaCl). O NaCl tem sido associado à atividade antimicrobiana em alimentos; no entanto, o consumo elevado de sódio pode contribuir com o surgimento das doenças crônicas não transmissíveis, como hipertensão. Uma solução encontrada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para contribuir com a saúde pública foi a redução de NaCl na produção de queijos. O mesocarpo do coco babaçu (*Attalea speciosa*) é um subproduto rico de compostos bioativos com propriedades antioxidantes e antimicrobianas. A Extração Assistida por Ultrassom (EAU) do mesocarpo usando etanol como solvente nas razões sólido/líquido 1:4, 1:10 e 1:25 (m/v) foram avaliados. Os extratos com 1,2 g de mesocarpo em 30 mL de etanol a 94% (razão 1:25 – m/v) apresentaram elevados valores do Conteúdo Total de Fenólicos (CTF: 5.124,86 ± 350,13 mgEAG/100 g), flavonoides (CFF: 477,45 ± 23,07 mgEQ/100 g), capacidade antioxidante (FRAP: 4.037,56 ± 187,26 μmol TEAC/100 g, DPPH* permanecendo de 10 a 38% após estabilização). Além disso, exibiu atividade antimicrobiana *in vitro* contra bactérias Gram-negativas *Escherichia coli* e *Salmonella Enteritidis*. Para avaliar o efeito *in situ*, foi adicionado em um queijo Minas frescal (tratamentos com 1,5% e 0,75% de NaCl) 7% (v/m) do extrato do mesocarpo na razão 1:25. Os resultados apontam alta atividade antimicrobiana *in situ*. Os queijos com 100% de sal e redução de 50% de sal, sem extrato de babaçu, apresentaram contagem superior a UFC/g de bactérias mesofílicas e psicotróficas no 20º dia do período de estocagem, indicando que a alteração na concentração de cloreto de sódio na fabricação não foi capaz de melhorar a qualidade microbiológica. Enquanto os queijos com adição de extrato de babaçu apresentaram melhor atividade antimicrobiana em comparação com o queijo de controle, reduzindo mais de 1 log UFC/g até o 20º dia de armazenamento. Ademais, o extrato não gerou impactos negativos na composição centesimal do produto final, porém, nas análises físicas instrumentais promoveu aumento nos parâmetros de cor a^* e b^* , e em relação a análise de textura, o extrato provocou aumento nos parâmetros de dureza, gomosidade e mastigabilidade. No geral, o extrato de mesocarpo do babaçu pode ser considerado uma estratégia tecnológica adequada a ser utilizada na fabricação do queijo Minas Frescal com redução de sal, oferecendo ao consumidor final um produto com baixa contagem microbiana e baixo impacto nos parâmetros visuais e reológicos do produto.

Palavras-chave: Queijos. Cloreto de Sódio. Hipertensão. Compostos Fitoquímicos. Saúde Pública.

ABSTRACT

Cheese is a dairy product with high nutritional value. In Brazil, Minas frescal cheese stands out as one of the most traditional dairy products, mildly acidic and salty. Brazilian legislation does not establish a maximum limit for sodium chloride (NaCl). NaCl has been associated with antimicrobial activity in food; however, high sodium consumption can contribute to the development of non-communicable chronic diseases, such as hypertension. One solution found by the National Health Surveillance Agency (ANVISA) to promote public health was the reduction of NaCl in cheese production. The mesocarp of the babassu coconut (*Attalea speciosa*) is a byproduct rich in bioactive compounds with antioxidant and antimicrobial properties. Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) of the mesocarp using ethanol as a solvent at solid/liquid ratios of 1:4, 1:10, and 1:25 (w/v) was evaluated. Extracts with 1.2 g of mesocarp in 30 mL of 94% ethanol (1:25 ratio - w/v) showed high values of Total Phenolic Content (TPC: $5,124.86 \pm 350.13$ mg GAE/100 g), flavonoids (CFF: 477.45 ± 23.07 mg EQ/100 g), antioxidant capacity (FRAP: $4,037.56 \pm 187.26$ μ mol TEAC/100 g, DPPH• remaining at 10 to 38% after stabilization). Furthermore, it exhibited *in vitro* antimicrobial activity against Gram-negative bacteria *Escherichia coli* and *Salmonella Enteritidis*. To assess the *in situ* effect, 7% (v/w) of the babassu mesocarp extract at a 1:25 ratio was added to Minas frescal cheese (treatments with 1.5% and 0.75% NaCl). The results indicate high *in situ* antimicrobial activity. Cheeses with 100% salt and 50% reduced salt, without babassu extract, showed higher counts of mesophilic and psychrotrophic bacteria (CFU/g) on the 20th day of storage, indicating that the change in sodium chloride concentration in manufacturing did not improve microbiological quality. Meanwhile, cheeses with the addition of babassu extract showed better antimicrobial activity compared to the control cheese, reducing over 1 log CFU/g by the 20th day of storage. Additionally, the extract did not have negative impacts on the proximate composition of the final product; however, in instrumental physical analyses, it led to an increase in the color parameters a^* and b^* , and in texture analysis, the extract caused an increase in hardness, gumminess, and chewiness parameters. Overall, the babassu mesocarp extract can be considered an appropriate technological strategy for use in the production of Minas Frescal cheese with reduced salt, offering the end consumer a product with low microbial count and minimal impact on the visual and rheological parameters of the product.

Key-words: Cheeses. Sodium Chloride. Hypertension. Phytochemicals. Public Health.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Propriedades funcionais sensoriais e tecnológicas da adição do sal (cloreto de sódio) no queijo.....	22
Figura 2 -	Localização geográfica majoritária das palmeiras de babaçu (<i>Attalea speciosa</i>).....	26
Figura 3 -	Coco babaçu e a divisão do fruto em epicarpo, mesocarpo, endocarpo e amêndoa.....	27
Figura 4 -	Quatro cápsulas de porcelana com aproximadamente 50g de mesocarpo, submetidos ao processo de secagem em estufa a 45°C durante 48h.....	30
Figura 5 -	Mesocarpo acondicionado em tubo falcon de 50mL. A: Tubo falcon com 7,5 g de mesocarpo, razão 1:4 (m/v), em triplicata. B: Tubo falcon com 3 g de mesocarpo, razão 1:10 (m/v), em triplicata. C: Tubo falcon com 1,2 g de mesocarpo, razão 1:25 (m/v), em triplicata.....	31
Figura 6 -	Esquematização do processo de extração assistida por ultrassom (EAU).....	32
Figura 7 -	Curva padrão de ácido gálico.....	33
Figura 8 -	Curva padrão de quercetina.....	34
Figura 9 -	Curva padrão de trolox.....	35
Figura 10 -	Fluxograma esquemático da produção do queijo Minas frescal.....	38
Figura 11 -	Plano cartesiano para mensurar a cor pelos parâmetros L^* , a^* e b^*	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Extração ultrassônica para recuperação de compostos bioativos do mesocarpo do coco babaçu (<i>A. speciosa</i>): rendimentos de extração e teor de polifenóis totais.....	44
Tabela 2 -	Teor de flavonoides em extrato de mesocarpo de coco babaçu (<i>A. speciosa</i>) por ultrassom.....	45
Tabela 3 -	Capacidade antioxidante pelo método de FRAP e DPPH dos extratos de mesocarpo de coco babaçu.....	46
Tabela 4 -	Atividade antimicrobiana do extrato etanólico do mesocarpo do coco babaçu contra bactérias Gram-negativas.....	50
Tabela 5 -	Composição centesimal dos diferentes tratamentos dos queijos no primeiro dia de estocagem.....	50
Tabela 6 -	Parâmetros físico-químicos e mg de malondialdeído (MDA)/kg em diferentes tratamentos durante o período de armazenamento do queijo Minas Frescal....	52
Tabela 7 -	Parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) durante o período de armazenamento (dias) 1, 7, 14 e 20.....	55
Tabela 8 -	Parâmetros de textura avaliados durante o período de armazenamento (dias) 1, 7, 14 e 20.....	57
Tabela 9 -	Contagem (log UFC/g) de bactérias mesofílicas e psicotróficas em queijo Minas frescal durante o período de estocagem de 20 dias armazenado a 4°C.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Abs	Absorbância
AlCl ₃	Cloreto de alumínio
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	American Type Culture Collection
a _w	Atividade de água
BAL	Bactérias ácido lácticas
BHI	Brain Heart Infusion
BHT	Hidroxitolueno butilado
BPF	Boas Práticas de Fabricação
Ca ²⁺	Íon cálcio
Cl ⁻	Íon cloreto
cm	Centímetro
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DGE	Sociedade Alemã de Nutrição
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
DPPH•	Radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EAU	Extração assistida por ultrassom
EC ₅₀	Concentração eficiente
EFSA	European Food Safety Authority
Eq.	Equação
FDA	Food and Drug Administration
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FRAP	Poder antioxidante de redução do ferro
x g	Força g
g	grama
g/mL	grama por mililitro
GRAS	Geralmente Reconhecido como Seguro
h	hora
H ⁺	Íon hidrogênio
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC ₅₀	Concentração de inibidor capaz de inibir a metade da inibição máxima

kHz	Quilohertz
LADETEC	Laboratório de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico
Log	Logaritmo
m/m	Massa por massa, fração mássica
m/v	Massa (g) por volume (mL), relação sólido-líquido
mBar	Milibar
mcg	Micrograma
MDA	Malondialdeído
MDA/kg	Malondialdeído por quilo
mg	Miligrama
mg/mL	Miligrama por mililitro
mgEAG/100g	Miligrama Equivalente de Ácido Gálico por 100 gramas de amostra
mgEQ/100g	Miligrama Equivalente de Quercetina por 100 gramas de amostra
min	Minutos
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mm/s	Milímetro por segundo
mmHg	Milímetro de mercúrio
mmol/L	Milimol por litro
mol/L	Mol por litro
MOS	Microrganismos
Na ⁺	Íon sódio
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sódio
NaCl	Cloreto de sódio
NAL	Núcleo de Análise de Alimentos
NaNO ₂	Nitrito de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
nm	Nanômetro
°	Graus
°C	Graus Celsius
OEC	Óleo essencial de cominho
OMS	Organização Mundial da Saúde
<i>p</i>	Nível de significância
pH	Potencial hidrogeniônico

POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
PPOH	Procedimentos Padrões Operacionais de Higiene
Q1	Queijo 1
Q2	Queijo 2
Q3	Queijo 3
QC	Queijo controle
RTIQ	Regulamento de Identidade e Qualidade
S	Sul
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético
spp.	Gênero
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TC	Termo de Compromisso
TCA	Ácido tricloroacético
t _{EC50}	Tempo da Concentração eficiente
TMP	Tetrametoxipropano
TPA	Análise do perfil de textura
UFC/g	Unidade formadora de colônia por grama
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
USD	Dólar Americano
v/v	Volume por volume, fração volumétrica
W	Oeste
%	Porcentagem
'	Minutos
”	Segundos
<	Inferior
>	Superior
±	Mais ou menos
≥	Igual ou superior
µg/mL	Micrograma por mililitro
µL	Microlitro
µmol/L	Micromol por litro
µmolTEAC/100g	Micromol de Trolox equivalente por 100 gramas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
1.1 Queijo Minas frescal.....	18
1.1.1 Legislação vigente.....	19
1.1.2 Coagulação enzimática para obtenção do queijo Minas frescal.....	20
1.1.3 Favorecimento ao desenvolvimento de microrganismos e medidas de controle.....	20
1.2 Cloreto de sódio.....	21
1.2.1 Sal nos queijos: aspecto sensorial, microbiológico e reológico.....	22
1.2.2 Preocupação emergente sobre o consumo de sódio: impacto na saúde pública e agências reguladoras.....	23
1.3 Compostos bioativos de produtos naturais.....	24
1.3.1 Extração Assistida por Ultrassom (EAU).....	25
1.4 Coco babaçu.....	26
1.4.1 Importância econômica, social e ambiental	27
1.5 Justificativa.....	28
2 OBJETIVOS.....	29
2.1 Objetivo geral.....	29
2.2 Objetivos específicos.....	29
3 METODOLOGIA.....	30
3.1 Obtenção do extrato etanólico do mesocarpo por Extração Assistida por Ultrassom (EAU).....	30
3.1.1 Caracterização fitoquímica dos extratos.....	32
3.1.1.1 Teor de polifenóis totais nos extratos.....	32
3.1.1.2 Teor de flavonoides nos extratos.....	33
3.1.2 Capacidade antioxidante dos extratos.....	34
3.1.2.1 FRAP (Poder antioxidante redutor férrico).....	34
3.1.2.2 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).....	35
3.1.3 Determinação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i>	36
3.1.3.1 Preparação da suspensão bacteriana.....	37
3.1.3.2 Atividade antibacteriana.....	37
3.2 Produção do queijo Minas frescal.....	37
3.2.1 Composição centesimal.....	39
3.2.1.1 Teor de umidade.....	39

3.2.1.2 Teor de lipídeos.....	39
3.2.1.3 Teor de cloreto de sódio (NaCl).....	39
3.2.2 Análise físico-química.....	40
3.2.2.1 pH.....	40
3.2.2.2 Acidez titulável.....	40
3.2.2.3 Oxidação lipídica.....	40
3.2.3 Análises físicas instrumentais.....	41
3.2.3.1 Análise instrumental de cor.....	41
3.2.3.2 Análise instrumental de textura.....	42
3.2.4 Análise microbiológica <i>in situ</i>	42
3.2.5 Análise estatística.....	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1 Teor de polifenóis nos extratos.....	44
4.2 Teor de flavonoides nos extratos.....	45
4.3 Capacidade antioxidante dos extratos.....	46
4.3.1 FRAP (Poder antioxidante redutor férrico).....	47
4.3.2 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).....	47
4.4 Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i>.....	48
4.5 Composição centesimal.....	50
4.5.1 Teor de umidade.....	51
4.5.2 Teor de lipídeos.....	51
4.5.3 Teor de cloreto de sódio (NaCl)	51
4.6 Análises físico-químicas.....	52
4.6.1 pH.....	53
4.6.2 Acidez titulável.....	53
4.6.3 Oxidação lipídica dos queijos.....	54
4.7 Análises físicas instrumentais.....	55
4.7.1 Análise de cor.....	55
4.7.2 Análise de textura.....	56
4.8 Análise microbiológica <i>in situ</i>.....	59
5 CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS.....	64
ANEXO A – REGISTRO DO PROJETO NO SISGEN.....	75
APÊNDICE A – ARTIGO 1.....	76

1 INTRODUÇÃO

O sal (NaCl) é uma molécula que desempenha papel multifacetado nos alimentos, no entanto, o consumo excessivo de sódio proveniente do cloreto de sódio na dieta humana está associado a problemas de saúde, como hipertensão e doenças cardiovasculares. Em função disso, muitos países estão atuando em conjunto para regulamentar a redução do teor de sódio nos alimentos processados (CDC, 2021). Uma solução para contribuir com a saúde pública da população brasileira é a redução de sódio na produção dos queijos, uma vez que este alimento se encontra nos Termos de Compromisso (TC), firmado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2020).

Entre os diferentes queijos, o queijo Minas frescal é um queijo tradicionalmente brasileiro e com alta aceitabilidade pelo público consumidor, e isso ocorre em função das propriedades sensoriais e reológicas do produto final (Da Paixão Teixeira *et al.*, 2022). Durante a elaboração do queijo Minas frescal é permitido a adição do sal (NaCl), não apenas para contribuir no sabor, mas também para contribuir nos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e vida útil, e também nas características tecnológicas (Le *et al.*, 2022). No entanto, a redução do sal durante a fabricação do queijo Minas frescal pode impactar negativamente a qualidade microbiológica do produto final, pois o sal atua como um agente antimicrobiano através da redução da atividade de água do alimento, dificultando o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos (Bansal; Mishra, 2020). Para isso, a adição de compostos bioativos, provenientes de frutas, com propriedades antimicrobianas e antioxidantes emerge como alternativa.

O Brasil é reconhecido pela sua biodiversidade em sua ampla faixa territorial. Entre os biomas existentes, os da região Norte e Nordeste do Brasil são reconhecidos por albergar variedade de árvores e frutos (Carvalho; Conte-Junior, 2021). O bioma da Amazônia se destaca, pois, de sua totalidade, 2/3 estão localizados no Norte e Nordeste do Brasil. É nesse território que se encontram variedades de vegetações (árvores, plantas, folhas, galhos e frutos) com grande importância para a saúde humana (Lima, Carvalho; Conte-Junior, 2022).

Na região do Nordeste do país, existe a região de transição entre os biomas Amazônia, Caatinga e Cerrado, sendo conhecido como “Mata dos Cocais” (Araujo *et al.*, 2014). É nesta região que existem aproximadamente 18 milhões de hectares de palmeiras de coco babaçu. O coco babaçu (*Attalea speciosa*), é dividido em quatro partes, epicarpo, mesocarpo, endocarpo e amêndoa (CONAB, 2021). Entre essas frações, o mesocarpo do coco babaçu desperta interesse em função das suas propriedades antimicrobiana e antioxidante descrito por trabalhos

científicos (Lima *et al.*, 2023; Paixão, 2021; Reis *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2020; Maniglia *et al.*, 2017; Barroqueiro *et al.*, 2016), e através da extração assistida por ultrassom (EAU) é possível extrair os compostos bioativos que exercem essas funções, como os compostos fenólicos e flavonoides (Lima *et al.*, 2023).

Para isso, essa dissertação tem como foco a aplicação do extrato do mesocarpo do coco babaçu como uma alternativa para suprir a redução do sal durante a elaboração do queijo Minas frescal, com o objetivo de contribuir na manutenção da qualidade microbiológica durante o período de estocagem deste produto, destacando como a alimentação, a saúde e a sustentabilidade estão interconectadas no contexto brasileiro com o intuito de atender às exigências da saúde pública.

Para isso, foram desenvolvidos durante o período do mestrado três trabalhos científicos: (i) artigo de revisão intitulado “*Amazon Babassu (Attalea speciosa syn. Orbignya phalerata) and its coconut by-products bioactive compounds: health benefits, dietary supplements, and biotechnology potentials*” submetido na revista “*Food Reviews International*” de fator de impacto 6,043 (APÊNDICE A); (ii) artigo experimental intitulado “*Green ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds of babassu (Attalea speciosa) mesocarp: Effects of solid-liquid ratio extraction, antioxidant capacity, and antimicrobial activity*” publicado na revista “*Applied Food Research*” (APÊNDICE B); (iii) artigo experimental intitulado “*Babassu (Attalea speciosa) coconut mesocarp: a fruit waste from Amazon region able to improve quality and safety in reduced-sodium Minas frescal cheese*” submetido na revista “*Food Bioscience*” de fator de impacto “5,318”.

1.1 O queijo Minas frescal

O leite e seus derivados são importantes para a manutenção da saúde humana, pois são fontes de nutrientes, como carboidratos, vitaminas, proteínas, gordura e minerais (Yang *et al.*, 2021; Foroutan *et al.*, 2019). Entre os derivados lácteos, o consumo de queijo apresentou um importante crescimento no mercado nacional, crescendo 30% entre os anos 2000 e 2008 (Felicio *et al.*, 2013). E segundo a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) de 2017-2018 realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) o consumo de queijos pelos brasileiros foi de 14%, e o consumo *per capita* de queijos e requeijão foi de aproximadamente 2,185kg/ano (Siqueira; Schettino, 2021; IBGE, 2018). Há uma extensa variedade de queijos produzidos no Brasil, e entre esses diferentes tipos de queijos, destaca-se o queijo Minas frescal.

O queijo Minas frescal é um queijo genuinamente brasileiro, desenvolvido inicialmente na região do estado de Minas Gerais no século XVIII (Vinha *et al.*, 2010). Devido ao processo de fabricação ser de baixa complexidade, possuir baixo custo de produção e alto rendimento, o queijo atingiu grande parte do território nacional (Sant’Ana *et al.*, 2013). Desta forma, tornou-se um queijo de alta aceitabilidade pelo público consumidor devido às características reológicas, sensoriais e nutricionais do produto final (Da Paixão Teixeira *et al.*, 2022; Rocha *et al.*, 2020; Luiz *et al.*, 2017).

Os queijos de maneira geral possuem alto valor nutricional, pois são fonte de nutrientes provenientes da matéria-prima. Todo o processo bioquímico da fabricação oferece ao consumidor um alimento rico em proteínas e peptídeos bioativos oriundos da hidrólise da proteína; lipídios e ácidos graxos de cadeia curta; além disso, vitaminas do complexo A e D; e minerais, como cálcio (Da Paixão Teixeira *et al.*, 2022). Sendo, portanto, um alimento rico em nutrientes, e fundamental na manutenção do organismo humano (Boas *et al.*, 2020).

1.1.1 Legislação vigente

Atualmente, vigora a Portaria nº 352, de 4 de setembro de 1997 e a Instrução Normativa nº 4, de 1 de março de 2004, na qual estabelecem a identidade e os requisitos mínimos de qualidade para que o queijo Minas frescal possua um padrão em todo território brasileiro e não confira riscos à saúde do consumidor (Brasil, 1997; Brasil, 2004).

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de Produtos Lácteos, entende-se por queijo Minas frescal “o queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas”. Além disso, a composição do queijo é dividida entre ingredientes obrigatórios (leite e/ou reconstituído, e coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas) e ingredientes opcionais (leite em pó, creme, sólidos de origem láctea, cloreto de sódio, cloreto de cálcio, cultivo de bactérias lácteas específicas) (Brasil, 1997). No entanto, não é especificado na legislação os limites mínimos e máximos de cada ingrediente, ficando à critério de cada produtor definir os valores durante a produção.

Apesar disso, o produto final deve respeitar os teores de umidade e gordura estabelecidos em lei. Para ser classificado como queijo Minas frescal é necessário que o teor de umidade seja igual ou superior a 55%, conferindo ao queijo a classificação de “muita alta umidade”. Além disso, o teor de gordura pode apresentar variação de 25 a 44,9% na matéria seca, para classificá-lo como um queijo semi-gordo (Brasil, 1997). Para além disso, outras

características são cruciais para caracterizar o produto final, como a consistência que deve ser macia, podendo apresentar ou não olhaduras mecânicas, a coloração deve ser branca, e o sabor levemente ácido e levemente salgado (Rocha *et al.*, 2020; Brasil, 1997).

1.1.2 Coagulação enzimática para obtenção do queijo Minas frescal

A coagulação é uma importante etapa durante a fabricação dos queijos para obtenção das características típicas do produto final. Para a elaboração do queijo Minas frescal, obtém-se a coalhada principalmente por coagulação enzimática após a adição da enzima com atividade proteolítica (por exemplo: quimosina) ao leite (Salvador *et al.*, 2022). O mecanismo de coagulação enzimática pode ser dividido em duas etapas: fase enzimática e fase de agregação (Huppertz; Lambers, 2020).

Na primeira fase, a enzima atua na fração da κ -caseína, hidrolisando especificamente entre os aminoácidos fenilalanina (105) e metionina (106) (Gaygadzhiev *et al.*, 2012). Após a hidrólise, dá-se início à fase de formação da coalhada, com a agregação das micelas de caseína hidrolisadas. A agregação das micelas desestabilizadas ocorre quando há quantidade suficiente de κ -caseína hidrolisada, geralmente entre 65% e 90%, e quando a concentração de íons de cálcio e a temperatura estão dentro dos parâmetros adequados (Sinaga; Bansal; Bhandari, 2016; Koutina *et al.*, 2015).

A fase da agregação ocorre por dois fatores: devido à atração de van der Waals, e também pela presença de cálcio solúvel (Ca^{2+}). A necessidade de uma quantidade adequada de cálcio solúvel na fase sérica do leite demonstra que os íons Ca^{2+} têm um efeito duplo. Primeiramente, o Ca^{2+} reduz a repulsão eletrostática ao neutralizar as cargas negativas nas micelas (Bauland *et al.*, 2020). Segundamente, os íons Ca^{2+} criam pontes salinas entre os sítios negativos nas micelas de para-caseína. Além disso, a diminuição do pH do leite aumenta significativamente a atividade dos íons Ca^{2+} , alterando o equilíbrio iônico existente entre as fases solúvel e micelar, liberando íons H^+ das micelas (Salvador *et al.*, 2022). Posteriormente à fase de coagulação e agregação, o gel formado é submetido ao corte até a obtenção de grãos de tamanho de aproximadamente 1,5 a 2,0 cm de aresta para obtenção do queijo Minas frescal.

1.1.3 Favorecimento ao desenvolvimento de microrganismos e medidas de controle

Devido às características intrínsecas do queijo, como alto teor de umidade, rico em nutrientes, pH acima de 5,0, a ausência de culturas iniciadoras definidas (BAL), somado à

manipulação manual excessiva durante a fabricação, podem tornar o queijo Minas frescal suscetível ao crescimento de microrganismos (MOS) contaminantes durante o período de estocagem (De Paula *et al.*, 2021; Furtado *et al.*, 2015).

O crescimento de MOS nos queijos destaca importante impacto tanto para a indústria, quanto para a saúde pública (De Antônio; Borelli, 2020). Isso ocorre porque os MOS podem ser tanto deteriorantes, que apresentam a capacidade de modificar a característica do queijo, como aroma, textura, cor, e conseqüentemente gerar perdas econômicas (Bassi *et al.*, 2020), quanto patogênicos, que são responsáveis por provocar surtos de intoxicações e/ou infecções alimentares, sendo representado por bactérias como *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* patogênica e enterotoxigênica (De Antônio, Borelli, 2020; Margalho *et al.*, 2020).

Para minimizar isso, a adoção de medidas de controle durante a fabricação do queijo Minas frescal, como produzir o queijo com leite tratado termicamente (por exemplo: submetido à pasteurização) e com baixa carga microbiana (Pappa *et al.*, 2022); boas práticas de fabricação (BPF) e Procedimentos Padrões Operacionais de Higiene (PPOH), através da higiene do manipulador, dos utensílios e maquinarias (Benincá *et al.*, 2020); adição de bactérias ácido lácticas (BAL) (Bassi *et al.*, 2020); e, adição de cloreto de sódio (sal) (Dugat-Bony *et al.*, 2016) tornam-se essenciais para minimizar a perecibilidade do produto final.

1.2 Cloreto de sódio

O cloreto de sódio (NaCl), comumente chamado de sal, é definido como “cloreto de sódio cristalizado extraído de fonte natural, com adição obrigatória de iodo” (Brasil, 2022). Desde 1950 o sal marinho obrigatoriamente tem a adição de iodo, com o intuito de repor este micronutriente no organismo da população brasileira e evitar o surgimento de outros problemas, como o desenvolvimento de bócio e alterações no desenvolvimento fetal e da criança (Brasil, 2013).

É um ingrediente que possui grande importância no curso da evolução da humanidade e utilizado amplamente como conservante até os dias atuais (Le *et al.*, 2022). O sal é um composto iônico formado por íons de sódio (Na⁺) e cloreto (Cl⁻) na proporção 1:1 (Bansal; Mishra, 2020), e em 1g de sal possui 400mg equivalente à molécula de sódio.

O uso do sal desperta interesse na indústria alimentícia, e isso inclui a aplicação nos variados tipos de queijos (Tidona *et al.*, 2022). Na indústria queijeira, a concentração de sal varia de acordo com o tipo de queijo e de acordo com cada produtor, podendo variar de 0,5 a

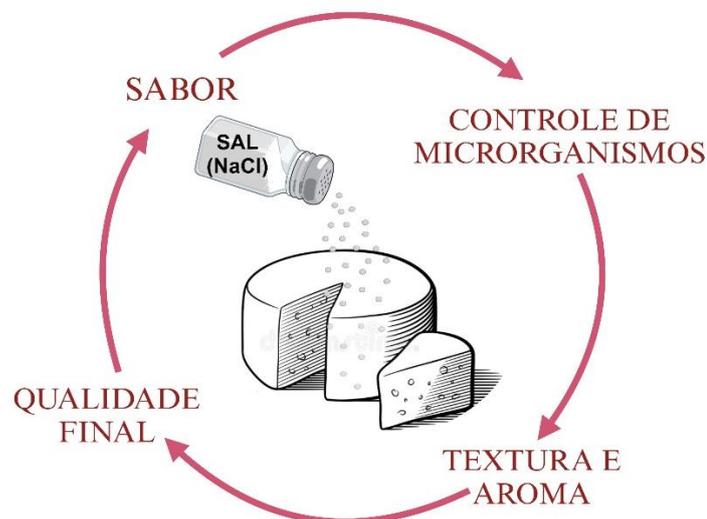
2,5% para os queijos moles, semiduros ou duros, enquanto os queijos azuis contêm valores entre 3 a 5% (Dugat-Bony *et al.*, 2019).

1.2.1 Sal nos queijos: aspecto sensorial, microbiológico e tecnológico

Durante a elaboração dos queijos ocorre a adição de sal, que pode ser por diferentes métodos: salga feita no leite, na superfície ou em salmoura. Quando a salga é realizada no leite, é adicionado a proporção de 2 a 2,5% em relação a quantidade de leite; quando é realizada a salga seca, é aplicado em cada superfície do queijo aproximadamente 0,7%; quando é realizada a salga em salmoura, é feita a salmoura a 20% de sal (Busnello, 2008).

O intuito da salga é conferir ao produto final características sensoriais, tecnológicas, além de preservar o alimento devido às propriedades antimicrobianas associadas ao sal (Le *et al.*, 2022), como é observado na figura 1.

Figura 1 – Propriedades funcionais sensoriais e tecnológicas da adição do sal (cloreto de sódio) no queijo



Fonte: A autora.

O sabor é uma das principais características utilizadas pelo consumidor para definir a aceitabilidade pelo produto. Este processo ocorre de maneira intuitiva, pois através do paladar é possível ter a percepção de alimentos nutritivos. Quando o alimento é submetido ao processo de mastigação, ocorre a liberação de íons sódio (Na^+) e íons cloreto (Cl^-) na cavidade oral (SHEN *et al.*, 2022). Do ponto de vista da química, a detecção do sabor é facilitada pelas papilas gustativas multicelulares localizadas predominantemente na cavidade oral, especialmente na

língua. Estas papilas exibem atributos funcionais que estabelecem conexões com os neurônios, convertendo os estímulos gustativos em sinais eletroquímicos, os quais, por sua vez, são conduzidos aos nervos sensoriais (Barlow, 2015).

Além disso, a adição de sal no queijo Minas frescal desempenha um papel crucial na garantia da segurança do alimento e no processo tecnológico, através da redução da atividade de água (a_w), controle da atividade de bactérias não ácido lácticas e modulação da atividade das BAL, contribuir para o processo de expulsão do soro, controle da glicólise, proteólise e lipólise durante o período de estocagem, aumento da hidratação da caseína e contribuir para manutenção do pH (Bansal; Mishra, 2020).

1.2.2 Preocupação emergente sobre o consumo de sódio: impacto na saúde pública e agências reguladoras

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que o consumo diário de sal seja de 5 g ou 2.000 mg de sódio (World Health Organization *et al.*, 2012), para que desta forma o sal possa exercer suas importantes funções no organismo, como: funções metabólicas, manutenção do equilíbrio osmótico celular (Petit *et al.*, 2019), manutenção do plasma, manutenção do equilíbrio ácido-base, e transmissão de impulsos nervosos (Aburto *et al.* 2013).

No entanto, quando o consumo de sal excede o valor de 5g/dia, devido aos novos hábitos alimentares e com o consumo excessivo de alimentos processados (Juraschek *et al.*, 2021), a resposta do organismo ao excesso desse nutriente passa a ser observado através do aumento dos níveis da pressão arterial ($\geq 140/90$ mmHg).

Como consequência ao aumento da pressão arterial, o desenvolvimento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT), como derrame cerebral, perda de visão, ataque cardíaco e insuficiência cardíaca, insuficiência e doença renal, problemas reprodutivos e também doença arterial periférica (CDC, 2021; Wang *et al.*, 2020; Whelton *et al.*, 2018; Horikawa *et al.*, 2014) podem ser favorecidos. Além disso, há consenso entre o meio científico da correlação entre o excesso de sódio e outras doenças, como câncer de estômago (Parkin, 2011) e risco de obesidade (Ma; He; Macgregor, 2015).

Por ser um problema de saúde pública, há um acordo entre as agências reguladoras sobre o consumo de sódio ao redor do mundo, como a *Food and Drug Administration* (FDA), recomendam uma ingestão de sódio de 2,3g/dia (FDA 2021). Enquanto a *European Food Safety Authority* (EFSA) sugere uma ingestão de 2g de sódio por dia como segura e adequada para a população adulta da União Europeia (On Nutrition, EFSA Panel *et al.*, 2019), e a Sociedade

Alemã de Nutrição (DGE) recomenda uma ingestão de cerca de 2,4g de sódio por dia (Klenow; Mensink, 2016). Recentemente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) propõe a redução do consumo de sal (NaCl) de 5g por dia para menos de 2g por dia até 2025, reduzindo assim a ingestão de sal em 30% (Rybicka; Nunes, 2022).

Em concordância com a OMS, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com o intuito de reduzir os riscos envolvidos com a alta ingestão de sal, estabeleceu na última década os Programas de Monitoramento dos Teores de Sódio e Açúcares em Alimentos Industrializados, por meio do Termo de Compromisso estabelecido em 2011 entre o Ministério da Saúde e entidades representantes da indústria de alimentos (ANVISA, 2020). Para o sódio, existem 5 Termos de Compromisso (TC), cujo objetivo era reduzir em 35 categorias de alimentos industrializados ao longo dos anos de 2012 a 2020, entre os produtos, o TC destaca acordo para redução de sódio no queijo mussarela, *petit suisse* e requeijão (ANVISA, 2020).

1.3 Compostos bioativos de produtos naturais

As partes comestíveis dos produtos naturais como as plantas, frutas, polpas, folhas e até mesmo as partes consideradas resíduos (por exemplo: galho, tronco, casca, semente) são consideradas ricas em compostos bioativos (Lima; Carvalho; Conte-Junior, 2022). As plantas são capazes de produzir compostos bioativos, classificados como metabólitos primários e secundários.

Os metabólitos primários são compostos essenciais ao desenvolvimento da própria planta. Enquanto os metabólitos secundários são moléculas que desempenham ação na evolução dos vegetais e na interação com os seres vivos (Pachecho Borges, 2020). Os compostos bioativos são metabólitos secundários produzidos pelas plantas, como por exemplo, terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados. Entre essas moléculas, os compostos fenólicos são reconhecidos por uma vasta classe de compostos, podendo ser classificados em composto fenólico simples e compostos polifenóis (Al Mamari, 2021).

Os compostos fenólicos simples contêm uma unidade fenol (ou um derivado dela); enquanto que as moléculas com mais de uma unidade de fenol são classificadas como polifenóis. Os compostos polifenóis, como por exemplo, flavonoides, ácidos fenólicos e taninos, apresentam efeitos benéficos à saúde do consumidor, atuando como agente anti-inflamatório (Ammar *et al.*, 2016), antioxidante (Lima *et al.*, 2023), antimicrobiano (Lima *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2020), e também efeitos anticâncer (Chang *et al.*, 2018).

1.3.1 Extração Assistida por Ultrassom (EAU)

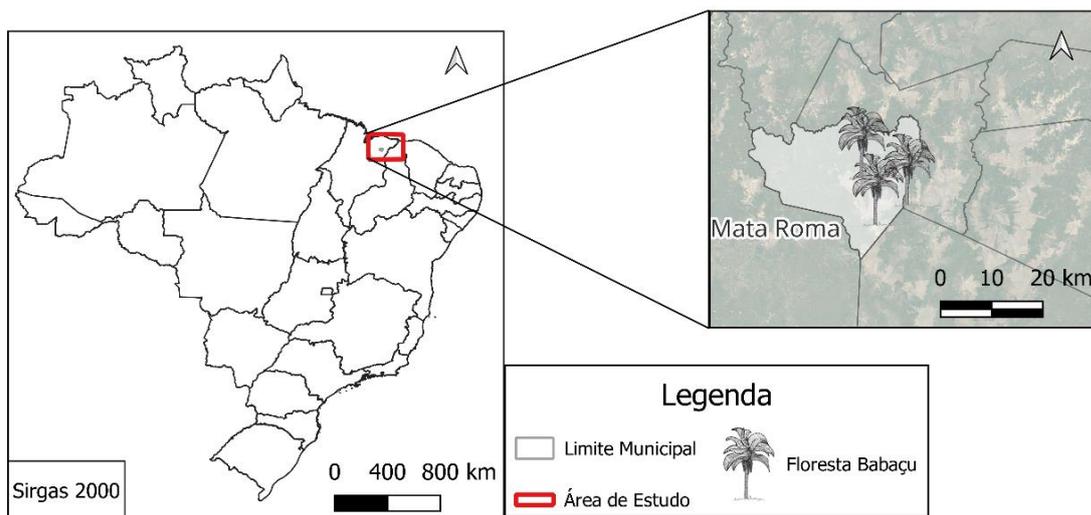
Os compostos bioativos são moléculas com distribuição em diferentes locais na célula da planta, podendo ser encontrado no citosol, vacúolo, núcleo e mitocôndria (Yusoof *et al.*, 2022). Para obter as moléculas presente nos diferentes locais da célula é necessário adotar uma técnica de extração, podendo ser através de métodos convencionais ou não-convencionais. O método convencional (por exemplo, maceração, destilação, decocção, *Soxhlet*) foi utilizado por décadas na comunidade científica, no entanto, as limitações desse método, como maior tempo para extração, uso excessivo de solvente e altas temperaturas favorecem a degradação dos compostos bioativos (Agregán *et al.*, 2021). Desta forma, o uso de métodos não-convencionais (por exemplo, ultrassom) surge como uma alternativa aos métodos convencionais, pois necessita de menor volume de solvente, menor tempo para extração, além do maior controle da temperatura durante a extração com auxílio do *chiller*. Esses fatores favorecem, portanto, o maior rendimento na extração dos compostos bioativos (Fu *et al.*, 2012). Além disso, o ultrassom emerge como uma tecnologia verde pois possui menor custo e menor consumo de energia (Nie *et al.*, 2021).

A extração dos compostos bioativos com o auxílio do ultrassom é favorecida pela soma de diversos fatores, como: o processo de sonicação, a frequência utilizada, o controle da temperatura e o tipo de solvente utilizado. A formação de bolhas de cavitação ao colidirem na célula vegetal induz efeitos mecânicos e térmicos, que provocam danos à parede celular e com a presença do solvente favorece o carreamento dos compostos bioativos para o meio extracelular (Yusoff *et al.*, 2022; Bi *et al.*, 2019). A escolha do solvente deve ser em função da estrutura química dos compostos alvos da extração, e o etanol surge como uma alternativa capaz de recuperar o maior teor de compostos fenólicos. Isso ocorre porque o etanol é um solvente polar (contém um grupo hidroxila – doador de hidrogênio) que favorece a preferência pela extração de compostos de baixo peso molecular, como os compostos fenólicos glicosilados e não glicosilados (Martínez-Ramos *et al.*, 2020). Além disso, para a adequada recuperação dos compostos, a frequência utilizada é a partir de 20 kHz (Qian *et al.*, 2020). O aumento da temperatura pode contribuir para o aumento no desempenho da extração pelo processo de quebra de ligação e aumento da solubilidade dos compostos, favorecendo o aumento da taxa de difusão e da transferência de massa. No entanto, a escolha da faixa de temperatura deve ser feita de maneira a garantir o melhor rendimento de extração sem degradar os compostos termo sensíveis (Sharayei *et al.*, 2021).

1.4 Coco babaçu

O coco babaçu é uma fruta oriunda da palmeira de babaçu pertencente à família *Arecaceae*, e ao gênero *Attalea* (De Medeiros-Costa, 1984; Araruna *et al.*, 2020). É encontrada principalmente na região Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil, mais especificamente na zona de transição entre as florestas úmidas da Amazônia e o cerrado, sendo conhecida como “Mata dos Cocais” (Araujo *et al.*, 2014). A mata dos cocais é uma região que atinge aproximadamente 18 milhões de hectares, distribuídos principalmente nos estados do Maranhão, Piauí e Tocantins (Araruna *et al.* 2020; CONAB, 2021; Carrazza; Ávila; Silva, 2012). A figura 2 retrata a localização majoritária das palmeiras de babaçu.

Figura 2 – Localização geográfica majoritária das palmeiras de babaçu (*Attalea speciosa*)



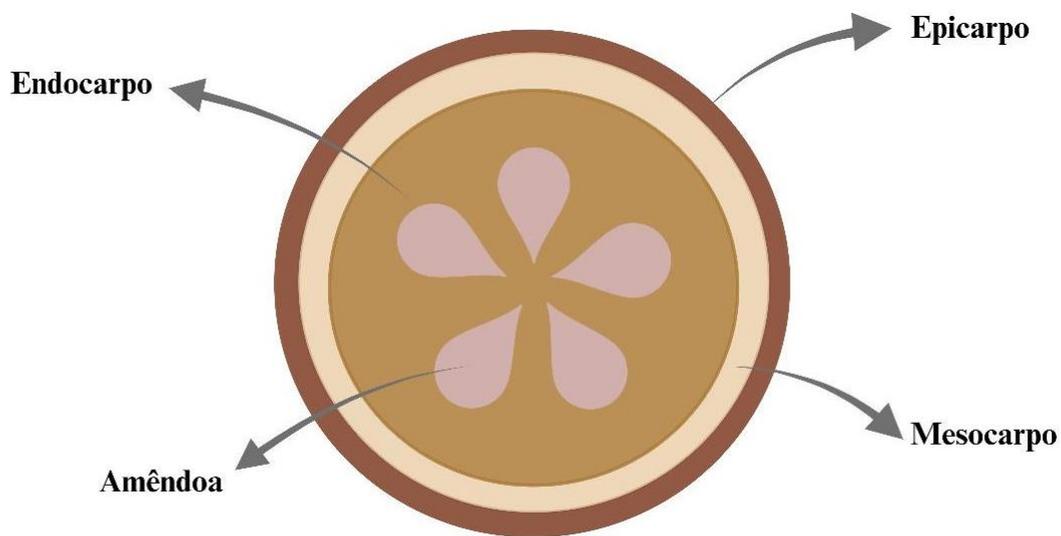
Fonte: A autora.

A palmeira pode atingir até 20 metros de altura e ter uma produção de mais de 300 a 500 frutos em cada safra. Tendo como característica a produção de frutos o ano todo, porém, observa-se que a produção é intensificada entre os meses de Agosto à Janeiro, e cada planta pode gerar até 6 cachos (Soler; Vitali; Muto, 2007).

O coco babaçu é dividido em 4 partes: epicarpo (representando 11% do peso total do fruto), mesocarpo (representando 23% do peso total do fruto), endocarpo (representando 59% do peso total do fruto) e amêndoa (representando 7% do peso total do fruto), a figura 3 demonstra como é a divisão do fruto (Bastos Araruna *et al.*, 2020). Da totalidade do fruto, a parte mais nobre e de maior interesse é a amêndoa para produção do óleo de amêndoa (Maniglia *et al.*, 2017), enquanto as outras partes são consideradas resíduos (Dutra Santos *et al.*, 2022).

Os compostos bioativos no coco babaçu vem sendo estudado nas últimas décadas. A presença de ácido graxo saturado de cadeia curta e polifenóis, no óleo e no mesocarpo, respectivamente, desempenham mecanismo antioxidante e antimicrobiano (Lima *et al.*, 2023; Santos *et al.*, 2020). Além disso, os benefícios significativos à saúde e propriedades biológicas de derivados de babaçu e seus resíduos da amêndoa em aplicações são relevantes nas áreas de aditivos e embalagens alimentares, médicas e farmacêuticas (Paixão, 2021), devido aos efeitos anti-inflamatório (Reis *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2020; Barroqueiro *et al.*, 2016), antioxidante (Maniglia *et al.*, 2017) e antimicrobiano (Lima *et al.*, 2023).

Figura 3 – Coco babaçu e a divisão do fruto em epicarpo, mesocarpo, endocarpo e amêndoa



Fonte: A autora.

1.4.1 Importância econômica, social e ambiental

O coco babaçu é uma fruta que contém amêndoa rica em óleo que é utilizada para produção do óleo de babaçu (Maniglia *et al.*, 2017). O óleo de babaçu é um óleo vegetal leve extraído das amêndoas frequentemente utilizado em alimentos, cosméticos e produtos para a pele (Burlando; Cornara, 2017; Vieira *et al.*, 2023; Do Rosário *et al.*, 2021).

É uma fruta de grande importância financeira para o país, no ano de 2020 o Brasil produziu aproximadamente 48 mil toneladas, que gerou quase 80 milhões de reais (CONAB 2021). Além disso, pesquisadores da *Future Market Insights* projetam um aumento de USD 227,7 milhões em 2022 para USD 347 milhões até 2032 no mercado de óleo de babaçu (Future Market Insights, 2022).

Esse retorno é fundamental para o sustento de mais de 300 mil mulheres, pois, são as responsáveis por realizar a quebra do coco babaçu e obter a amêndoa presente no interior do fruto (Cavallari; Toledo, 2016; CONAB, 2021). Essas mulheres o quebram manualmente, principalmente para obter a semente, enquanto as outras partes do babaçu são resíduos, ou seja, biomassa (Fronza *et al.*, 2020; Teixeira, 2008).

Para minimizar o impacto negativo ao meio ambiente, o uso do babaçu e as suas frações foi descrito em diversas categorias: utensílios e ferramentas, construção, alimentação humana, combustível, medicinal, ambiental, alimentação animal, uso cultural e outros. Por exemplo, na Engenharia de Materiais, os subprodutos do babaçu (endocarpo, mesocarpo, epicarpo e carvão ativado) foram considerados como materiais adsorventes promissores com potencial para adsorver espécies-alvo inorgânicas e orgânicas (Da Silva *et al.*, 2019). O epicarpo e o endocarpo usados na produção de artesanato, carvão e adubo orgânico (Da Silva *et al.*, 2019; Melo *et al.*, 2019), o mesocarpo utilizado na indústria de panificação (Cardoso Vieira *et al.*, 2023), ou na indústria química/alimentícia/farmacêutica (Fernandes *et al.*, 2021), como fonte de nutrição para animais (Reis *et al.*, 2017). Portanto, no processamento do coco babaçu para obter óleo a partir do núcleo da amêndoa, o volume de resíduos pode representar 90% do fruto de babaçu processado e 35% do material residual da semente (bagaço, casca).

1.5 Justificativa

Diante do exposto, torna-se necessário elucidar novas alternativas para reduzir a ingestão diária de sal (e conseqüentemente, reduzir a ingestão de sódio) através dos queijos. No entanto, a simples redução do sal pode gerar impactos negativos no produto final, como alteração de sabor, textura, e também na qualidade microbiológica. Sendo assim, adicionar o extrato do mesocarpo do coco babaçu surge como uma alternativa sustentável, ecológica e com efeitos benéficos para o consumidor, além de se tornar uma potente estratégia para produtores, visando a garantia da qualidade do produto final durante o prazo de validade.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Propor alternativa à redução de sal (NaCl) durante a produção do queijo Minas frescal, para diminuir a ingestão diária de sódio, e suprir essa redução com a adição do extrato do mesocarpo do coco babaçu para minimizar os impactos negativos nos parâmetros centesimais, físico-químicos e microbiológicos do queijo.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar, por meio de revisão da literatura, os benefícios biológicos associado às diferentes frações do coco babaçu, como epicarpo, mesocarpo, endocarpo e amêndoa, a fim de identificar os *gaps* presentes na literatura sobre os resíduos gerados durante a obtenção do óleo da amêndoa;

Propor posteriormente a produção e utilização do extrato etanólico com mesocarpo com auxílio de uma técnica *eco-friendly* (ultrassom) utilizando um solvente não tóxico (etanol) classificado como “GRAS” (Geralmente Reconhecido Como Seguro);

Identificar a melhor razão sólido-líquido da extração do mesocarpo com o etanol;

Realizar triagem fitoquímica dos extratos obtidos e identificar a capacidade antioxidante e antimicrobiana *in vitro*;

Produzir um queijo Minas frescal reduzido de sal e adicionar o extrato do mesocarpo do coco babaçu com diferentes concentrações de sal e extrato;

Monitorar a qualidade físico-química, por meio de análises do pH, porcentagem de ácido láctico, teor de umidade e lipídios, oxidação lipídica, parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) e por meio das propriedades de textura instrumental (dureza, elasticidade, coesão, gomosidade, mastigabilidade e resiliência);

Avaliar a qualidade microbiológica, por meio da contagem de microrganismos mesófilos e psicotróficos durante o período de estocagem.

3 METODOLOGIA

O mesocarpo do coco babaçu (*Attalea speciosa*) foi adquirido já separado do coco babaçu, por meio de doação de produtores rurais da cidade Mata Roma, Maranhão, Brasil (-3.6261 S, -43.1113 W).

O extrato produzido a partir do mesocarpo foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen) e do Conhecimento Tradicional Associado, sob o número de cadastro AA37A5F (ANEXO A).

3.1 Obtenção do extrato etanólico do mesocarpo por Extração Assistida por Ultrassom (EAU)

Após o recebimento do material aproximadamente 200g da farinha do mesocarpo passou pelo processo de secagem em estufa (Marconi[®]) a 45°C durante 48 horas (Figura 4), afim de remover qualquer umidade que não fosse de origem do mesocarpo, deste modo, reduzindo a a_w para garantir maior qualidade microbiológica e estabilidade química dos compostos, evitando alterações nutricionais, tecnológicas e sensoriais decorrentes de reações químicas (Cavalcante Neto, 2012).

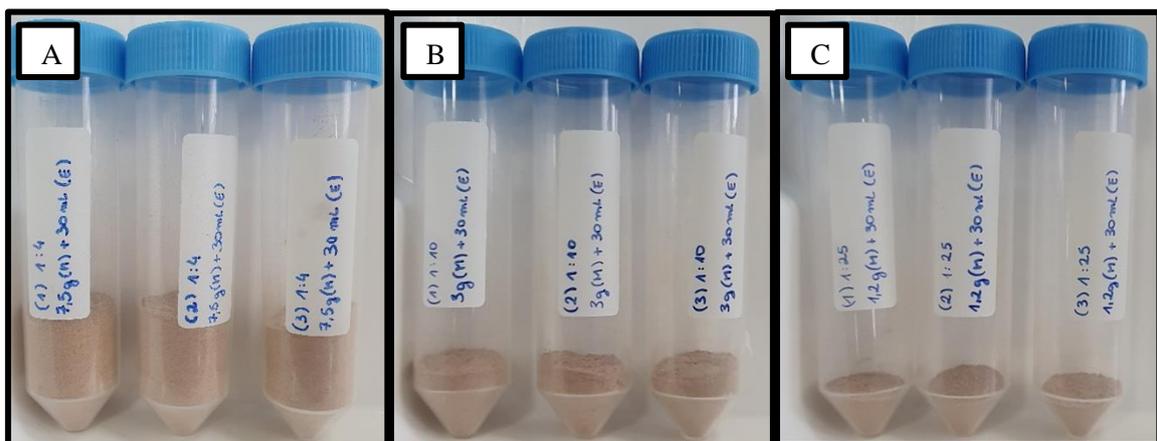
Figura 4 – Quatro cápsulas de porcelana com aproximadamente 50g de mesocarpo, submetidos ao processo de secagem em estufa a 45°C durante 48h



Fonte: A autora.

Para realização da triagem e análises *in vitro*, a extração foi realizada com o auxílio do processador ultrassônico/sonicador (Sonics Vibra-Cell) de frequência fixa de 20 kHz, com célula de vidro conectada a um *chiller* (unidade de resfriamento) para auxiliar no controle da temperatura provocado pelo ultrassom. Para solventes com baixo ponto de ebulição, o resfriador ajuda a reduzir as perdas por evaporação para a atmosfera (Cassiana Frohlich *et al.*, 2022). Para obtenção do extrato foi adicionado o mesocarpo e etanol 94% (v/v) como solvente em um tubo falcon de 50mL, respeitando a razão sólido-líquido 1:4, 1:10 e 1:25 (m/v) e submersos em água ultrapura. As amostras foram nomeadas de R4, R10 e R25, respectivamente, conforme observado na figura 5 (A, B e C).

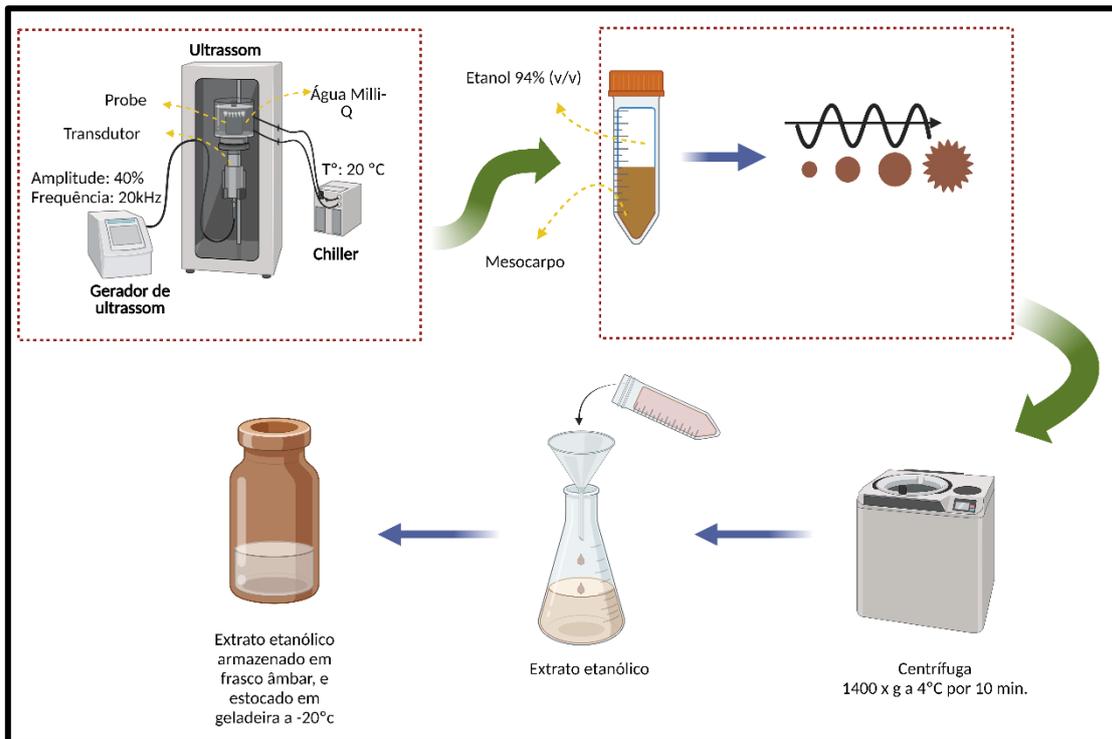
Figura 5 – Mesocarpo acondicionado em tubo falcon de 50mL. A: Tubo falcon com 7,5 g de mesocarpo, razão 1:4 (m/v), em triplicata. B: Tubo falcon com 3 g de mesocarpo, razão 1:10 (m/v), em triplicata. C: Tubo falcon com 1,2 g de mesocarpo, razão 1:25 (m/v), em triplicata



Fonte: A autora.

Em seguida, cada amostra foi extraída duas vezes. A primeira extração foi realizada com 30mL do solvente e sonicada por 20 min a 20°C, com amplitude de potência de 40% e frequência de 20 kHz. Seguido de centrifugação (High-Speed Centrifuge, Avanti J-30I - Beckman Coulter) a 1400 x g, por 10 min a 4°C. O sobrenadante foi filtrado com papel filtro (QUALY®). O precipitado foi submetido à uma segunda extração sob as mesmas condições da primeira extração. Posteriormente, o extrato foi colocado em frasco âmbar e armazenado em geladeira (MetalFrio) a -20°C até ser utilizado em análises posteriores. A figura 6 demonstra o processo para obtenção do extrato. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A concentração final dos extratos foi de 250mg/mL, 100mg/mL e 40mg/mL para as amostras R4, R10 e R25, respectivamente.

Figura 6 – Esquemática do processo de extração assistida por ultrassom (EAU)



Fonte: A autora.

Para avaliar o efeito *in situ* no queijo Minas frescal, foi produzido o extrato seguindo a razão sólido-líquido de mesocarpo para etanol 94% (v/v) de 1:25 (m/v). Após a extração, o solvente etanólico foi removido em rotaevaporador (BUCHI, Rotavapor R-100) a 36°C e 110mBar, e colocado em frasco âmbar e armazenado em geladeira (Thermo Scientific) a 2°C até ser adicionado ao queijo.

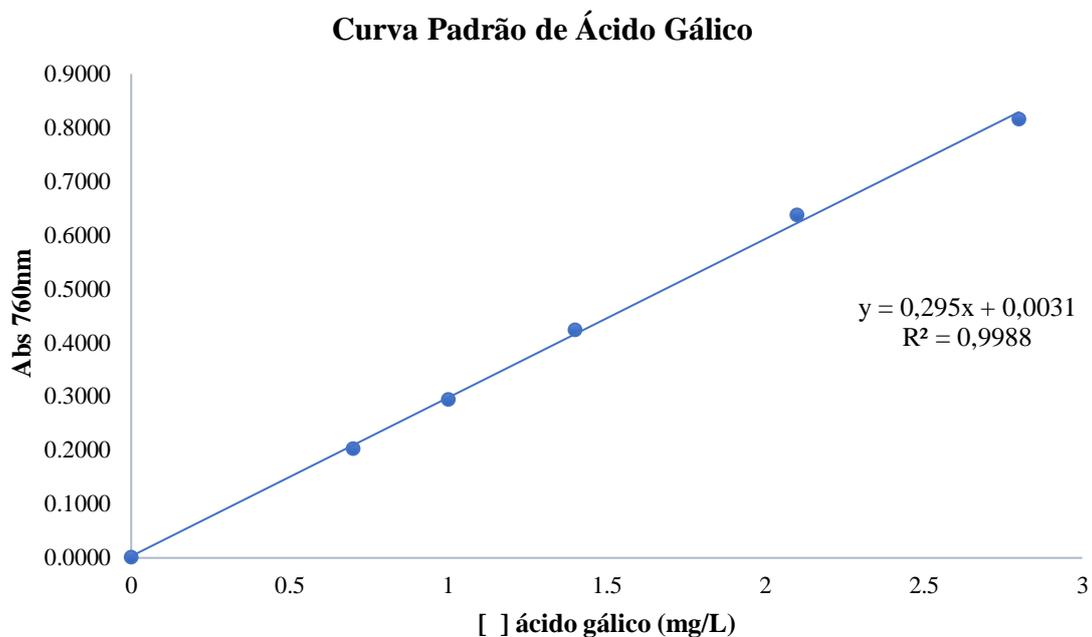
3.1.1 Caracterização fitoquímica dos extratos

3.1.1.1 Teor de polifenóis totais nos extratos

O teor de polifenóis totais foi determinado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu seguindo a metodologia descrita por Singleton e Rossi (1965) e Singleton, Orthofer & Lamuela-Raventós (1999) com modificações. A diluição prévia dos extratos em água ultrapura foi realizada quando o valor mensurado no espectrofotômetro estava acima do intervalo linear da curva padrão. 150µL de cada extrato (R4, R10 e R25) foram transferidos para um tubo de ensaio e em seguida foram adicionados 850µL de água ultrapura (Milli-Q®) e 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu 10% (v/v) aos extratos e misturados com auxílio do vórtex

por 10 segundos e mantido em repouso por 5 min. Depois, 2 mL da solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 7,5% (m/v) e 2 mL de água ultrapura foram adicionados e misturados em vórtex por 10 segundos. Posteriormente, as amostras foram deixadas em repouso por 2 horas em temperatura ambiente e no escuro. A absorbância foi medida a 760 nm pelo espectrofotômetro UV-VIS (UV-1900i, Shimadzu, Kyoto, Japão). A curva de calibração (0,7 a 2,8 mg/L, $R^2 = 0,9988$) foi calculado usando ácido gálico como padrão, sendo observado na figura 4. O teor de polifenóis totais foi expresso em mg equivalente de ácido gálico por 100 g de amostra seca (mgEAG/100 g). Todas as análises foram realizadas em triplicata e em ambiente protegido da luz.

Figura 7 – Curva padrão de ácido gálico



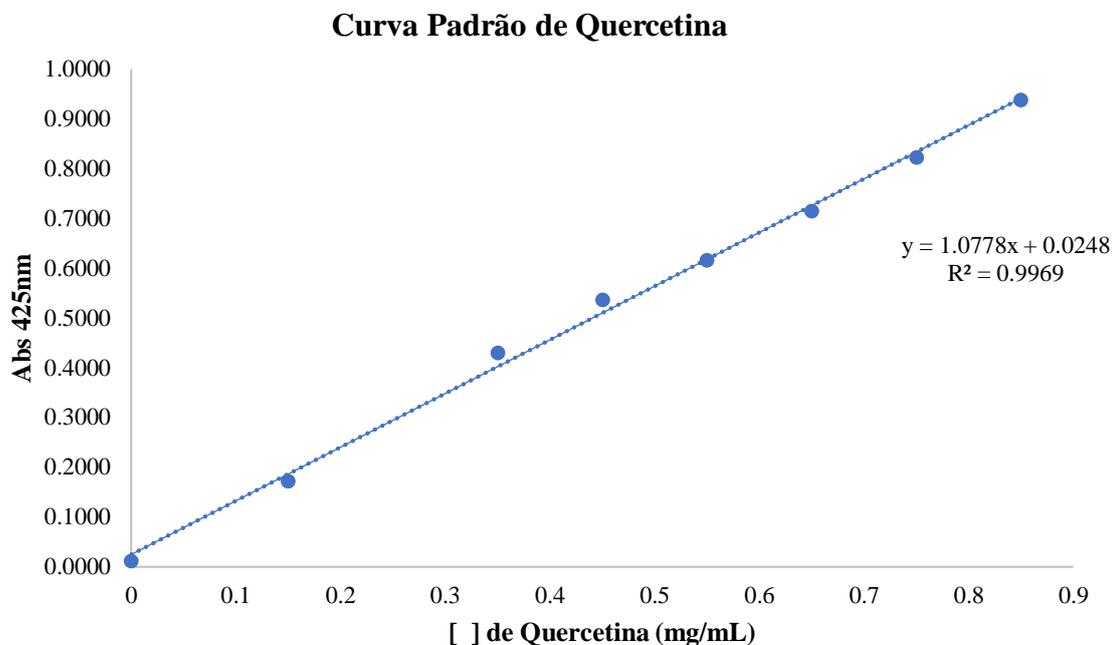
Fonte: A autora.

3.1.1.2 Teor de flavonoides nos extratos

O teor de flavonoide foi determinado usando o padrão quercetina de acordo com literatura (Woisky; Salatino, 1998), modificado para este ensaio. A diluição prévia dos extratos em água ultrapura foi necessária quando o valor mensurado no espectrofotômetro estava acima da faixa linear da curva padrão. 500 μL de cada extrato (R4, R10 e R25) foram transferidos para um tubo de ensaio e posteriormente 2 mL de água ultrapura (Milli-Q[®]) e 150 μL de solução de NaNO_2 a 5% (m/v) foram adicionados e mantidos em repouso por 5 minutos. Em seguida, 150 μL de solução de AlCl_3 a 10% (m/v) foram adicionados e mantidos em repouso por 5 min.

Decorrido o tempo, foram adicionados ao tubo 1 mL de NaOH 1 mol/L e 1200 µL de água ultrapura. O tubo de ensaio com todos os reagentes foi misturado em vórtex por 10 segundos. Depois disso, as amostras foram deixadas em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente e na ausência de luz. A absorbância foi medida em 425 nm por espectrofotômetro UV-VIS (UV-1900i, Shimadzu, Kyoto, Japão). A curva de calibração (0,150 a 0,850 mg/mL, $R^2 = 0,9969$) foi calculado usando quercetina como padrão, conforme observado na figura 5. O teor de flavonoides foi expresso em mg de quercetina equivalente por 100 g de amostra seca (mgEQ/100 g). Todas as análises foram realizadas em triplicata e em ambiente protegido da luz.

Figura 8 – Curva padrão de quercetina



Fonte: A autora.

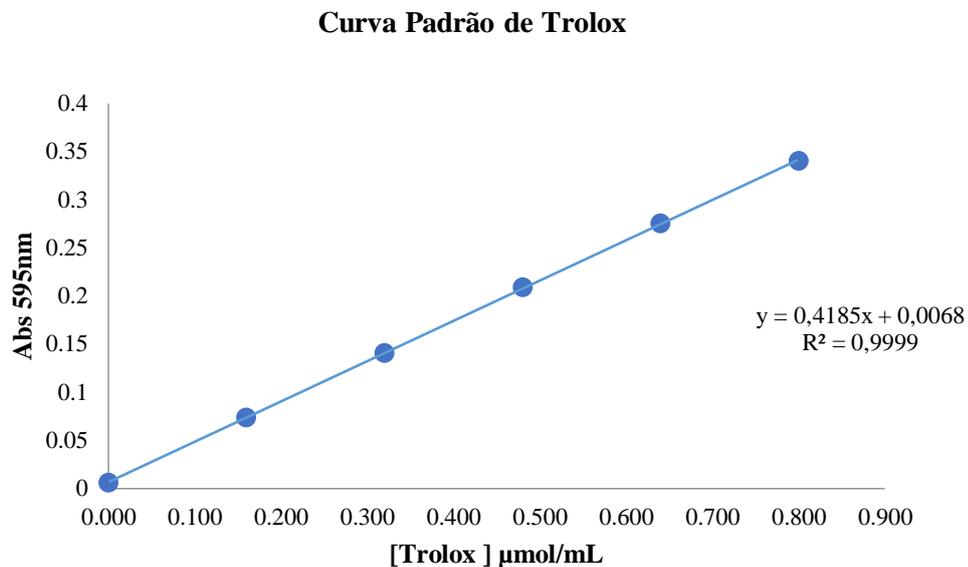
3.1.2 Capacidade antioxidante dos extratos

3.1.2.1 FRAP (*Poder antioxidante redutor férrico*)

O ensaio foi adaptado de acordo com Benzie e Strain (1996) e Rufino *et al.* (2006). A diluição prévia dos extratos em água ultrapura foi necessária quando o valor mensurado no espectrofotômetro estava acima da faixa linear da curva padrão. Assim, 45 µL de cada extrato (R4, R10 e R25) foi transferido para um tubo de teste com 135 µL água ultrapura e 1,35 mL de

reagente FRAP. Depois disso, a solução foi misturada em vórtex por 10 segundos e as amostras foram deixadas em repouso por 30 min em banho-maria (Thermo Scientific) a 37°C e protegidos da luz. A absorbância foi medida a 595 nm pelo espectrofotômetro UV-VIS (UV-1900i, Shimadzu, Kyoto, Japão). A curva de calibração (de 0,160 a 0,800 $\mu\text{mol/mL}$, $R^2 = 0,9999$) foi calculada usando Trolox como padrão, e a capacidade antioxidante do FRAP foi expressa como μmol de Trolox equivalentes por grama de amostra seca ($\mu\text{mol TEAC}/100 \text{ g}$).

Figura 9 – Curva padrão de trolox



Fonte: A autora.

3.1.2.2 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

Atividade sequestradora de radical DPPH para extrato de mesocarpo de babaçu foi determinado para as amostras R4 (250 mg/mL) e R25 (40 mg/mL) usando o método DPPH de Brand-Williams *et al.* (1995) e EMBRAPA (Magalhães *et al.*, 2018), modificado para este ensaio. Inicialmente, seis concentrações foram preparadas, diluindo cada extrato em água ultrapura: 50 a 250 mg/mL para R4 e 8 a 40 mg/mL para R25. No escuro, 0,1 mL da solução extrato ou 0,1 mL de etanol 94% v/v (controle) foi adicionado e misturado com auxílio do vórtex a uma solução 0,06 mM de metanol DPPH• (3,9 mL) e misturado vigorosamente por vórtex. Depois disso, a diminuição da absorbância a 515 nm usando um espectrofotômetro UV-VIS (UV-1900i, Shimadzu, Kyoto, Japão) foi monitorado durante o tempo até que a reação atingisse um nível de platô para definir o tempo de EC_{50} (t_{EC50}) para cada extrato. O t_{EC50} para

as amostras R4 foram identificadas como $t_{EC50} = 0$ (ou seja, definido após a adição de DPPH para extrair a solução), enquanto para R25 foi $t_{EC50} = 120$ min (ou seja, determinado após as soluções terem sido incubadas no escuro à temperatura ambiente durante 120 min). Depois, as mudanças de cor (de violeta profundo para amarelo claro) e as absorvâncias foram lidas a 515nm após cada t_{EC50} contra um branco que foram preparados de forma semelhante ao controle, substituindo a solução do radical DPPH por metanol (3,9 mL) e 0,1 mL de etanol 94% (v/v). O nível de DPPH• restante no meio reacional de cada concentração testada foi calculado usando a seguinte Equação 1:

$$\%DPPH \bullet \text{ restante} = \frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do controle}} \times 100 \quad (Eq. 1)$$

Após a determinação da % DPPH• restante na concentração inicial do extrato, a respectiva % de DPPH residual• foi calculado e plotado em função da concentração do extrato para DPPH• (mg/L). Então, a concentração de extrato (mg/L) necessária para atingir 50% de DPPH• remanescente no meio reacional (Coeficiente de Inibição - IC_{50}) foi determinado por regressão linear ($R^2 = 0,9999$), conforme Equação 2:

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{a} \quad (Eq. 2)$$

Assim, a Atividade de Eliminação do DPPH• foi definida como a quantidade de extrato de mesocarpo de babaçu necessário para diminuir a concentração inicial de DPPH• ($[DPPH\bullet]_0$) em 50% (Concentração Eficiente = CE_{50}) (mg mesocarpo/mg DPPH), de acordo com a Equação 3:

$$EC_{50} = \frac{IC_{50}}{[DPPH\bullet]_0} \quad (Eq. 3)$$

O $[DPPH\bullet]_0$ no meio reacional foi calculado a partir de uma curva de calibração de 10 a 60 $\mu\text{mol/L}$, determinada por regressão linear ($R^2 > 0,9888$).

3.1.3 Determinação da atividade antimicrobiana *in vitro*

As propriedades antimicrobianas do extrato etanólico do mesocarpo do coco babaçu foram analisadas pelo Teste de Difusão em Disco (Método Kirby-Bauer) contra duas bactérias Gram-negativas (*Salmonella Enteritidis* ATCC 13076 e *Escherichia coli* ATCC 25922) obtida do banco de cultura da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil).

3.1.3.1 Preparação da suspensão bacteriana

Para o preparo das suspensões bacterianas, as colônias foram removidas do estoque e transferidas para um tubo de ensaio contendo o caldo Brain Heart Infusion (BHI) (Kasvi, Espanha), e posteriormente foram incubadas a 37°C por 24 horas.

3.1.3.2 Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana foi determinada pelo teste de suscetibilidade antimicrobiana por difusão em disco (CSLI - Clinical & Laboratory Standards Institute, 2018). Após 24 horas em caldo BHI, as suspensões foram espalhadas em ágar Muller-Hinton e um disco (6 mm de diâmetro) imbuído com o extrato etanólico do mesocarpo de babaçu foi acondicionado na superfície do ágar. O disco de ampicilina (10 mcg) foi utilizado como controle positivo, e o disco (6 mm de diâmetro) imbuído apenas com etanol 94% (v/v) foi utilizado como controle negativo. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas.

A determinação da atividade antibacteriana foi realizada com base na zona de inibição observada em um disco de amostra colocado em uma placa. Esta zona representou uma área livre de bactérias, medida ao longo de seu diâmetro, e a distância obtida foi registrada como o tamanho da zona. Assim, os resultados foram expressos como diâmetro da zona de inibição (mm). Todos os testes foram realizados em triplicata experimental e duplicata analítica.

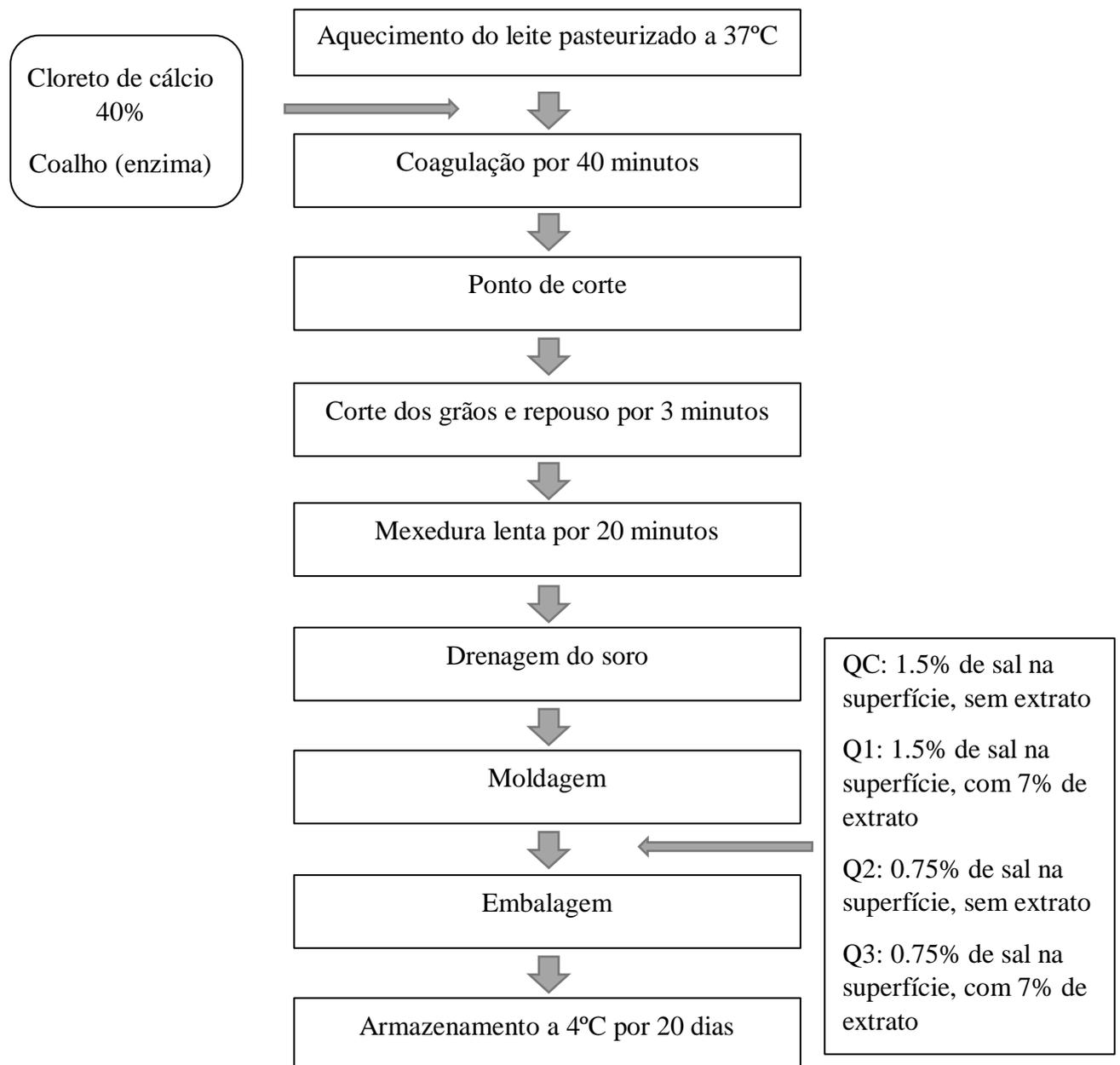
3.2 Produção do queijo Minas frescal

O queijo Minas frescal foi produzido segundo Rocha et al. (2020), no Núcleo de Análise de Alimentos (NAL) do Laboratório de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico (LADETEC) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Para a fabricação do queijo, foram obtidos 20L de leite integral (3% de gordura) pasteurizado em mercado local. O leite foi aquecido a 37°C em banho-maria (Thermo Scientific) e posteriormente foram adicionados ao leite os ingredientes, cloreto de cálcio 40% (Bela Vista Produtos Enzimáticos®) e coagulante líquido

(Ha-La[®]). Em seguida foram homogeneizados e mantidos em repouso por 40 minutos a 37°C para que ocorresse a coagulação enzimática. Em seguida, a coalhada foi cortada até a obtenção dos grãos de 2cm e mantido em repouso por três minutos, seguindo-se uma mistura lenta por 20 minutos. O soro foi separado e a coalhada restante foi colocada em molde plástico de 500g.

Foram desenvolvidos quatro tratamentos: queijo controle (QC), com 1,5% (m/m) de sal, sem extrato; queijo 1 (Q1), com 1,5% (m/m) de sal e 7% (v/m) de extrato; queijo 2 (Q2), com 0,75% (m/m) de sal, sem extrato; e queijo 3 (Q3), com 0,75% (m/m) de sal e 7% (v/m) de extrato conforme observado na Figura 10.

Figura 10 – Fluxograma esquemático da produção do queijo Minas frescal



3.2.1 Composição centesimal

A caracterização do queijo Minas frescal quanto aos parâmetros de umidade, teor de gordura e quantidade de sal (cloreto de sódio) foram analisadas apenas no primeiro dia de armazenamento.

3.2.1.1 Teor de umidade

A umidade foi determinada pelo método tradicional segundo Dantas et al. (2016) com algumas modificações. 5g das amostras foram colocados em estufa (Marconi) a 105°C por 3 horas permanecendo no dessecador por 30 minutos, em seguida foram pesadas em balança analítica. Posteriormente, foi deixado no forno por mais 1 hora e as ações foram repetidas até obtenção do peso constante. Os resultados foram expressos como % de umidade pela Equação 4:

$$\% \text{ de umidade} = \frac{\text{peso final}}{\text{peso inicial}} \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

3.2.1.2 Teor de lipídeos

A determinação do teor de gordura do queijo foi realizada pelo método Soxhlet segundo Tabet et al. (2023). A gordura do queijo desidratado (5g) foi extraída com éter de petróleo (LABSYNTH, São Paulo, Brasil) por 7 horas. Em seguida as amostras foram levadas à estufa (Marconi) a 105°C para evaporação do solvente. Os resultados foram expressos como % de gordura pela Equação 5:

$$\% \text{ de gordura} = \frac{(\text{copo extrator} + \text{gordura}) - \text{copo extrator}}{\text{peso da amostra umida}} \times 100 \quad (\text{Eq. 5})$$

3.2.1.3 Teor de cloreto de sódio (NaCl)

A quantificação do teor do cloreto de sódio (NaCl) foi realizado utilizando o refratômetro digital portátil Salt (ATAGO®, Tóquio, Japão). 1g de amostra foi diluído em 9mL de água tipo 1 (Milli-Q®) e homogeneizado por um homogeneizador (Enrichment Sample Homogenizer, Merck Millipore, França) por dois minutos e na velocidade 2. Em seguida, uma

alíquota da solução foi utilizada para determinação do teor de cloreto de sódio. Os resultados foram expressos como % NaCl.

3.2.2 Análise físico-química

Os parâmetros físico-químicos como pH e acidez titulável dos queijos foram realizados nos dias 1, 7, 14 e 20 após a fabricação. Enquanto a análise para determinar a oxidação lipídica nos queijos foi realizada nos dias 1, 14 e 20 após a fabricação.

3.2.2.1 pH

Os valores de pH foram mensurados conforme metodologia descrita por Dantas *et al.* (2016). Para esta análise, o eletrodo do pHmetro foi inserido diretamente na massa de queijo até estabilização do pH.

3.2.2.2 Acidez titulável

A acidez titulável foi realizada conforme Castanheira *et al.* (2012). Para a análise, 10g dos queijos foram previamente macerados em 50mL de água destilada aquecida (à 40°C) e completados até 100ml com água destilada fria em balão volumétrico. Em seguida, titulou-se 50mL da mistura com NaOH 0,1mol/L utilizando entre 4 a 5 gotas de fenolftaleína 1% (m/v) como indicador. Os resultados foram expressos como % de ácido láctico.

3.2.2.3 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica foi realizada de acordo com Oancea *et al.* (2022) com adaptação por ensaio de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS). Antes do teste, foi preparada a solução padrão serial de 1,1,3,3-Tetrametoxipropano (TMP). 5g das amostras de queijos foram inicialmente homogeneizadas com ácido tricloroacético (TCA) 15% e 50µL de hidroxitolueno butilado (BHT) 7,2% com auxílio do Turrax a 10.000 rpm, após centrifugação a 3.000 rpm por 5 min a 7°C. Em seguida, 1 mL do sobrenadante obtido do homogeneizado e 1 mL de cada solução padrão foram misturados com 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,8%, aquecidos a 90°C por 30 minutos, posteriormente resfriados em água gelada por 10 minutos e mantidos à temperatura ambiente durante 30 minutos. A concentração equivalente de TMP

(mmol/L) das amostras foi determinada por uma curva padrão desenvolvida a partir da absorbância da curva padrão de TMP ($R^2 = 0,9957$) na concentração de 0,00025 a 0,0020 mmol/L. A transformação final do TMP em malonaldeído (MDA) foi determinada multiplicando a quantidade de mmol/L de equivalente de TMP por grama da amostra pelo peso molecular do MDA (Chen *et al.* 2022). Os valores da absorbância foram lidos a 532nm utilizando espectrofotômetro UV-1800 (Shimadzu, Kyoto, Japão), e os resultados foram expressos em mg de equivalente de MDA/kg de queijo.

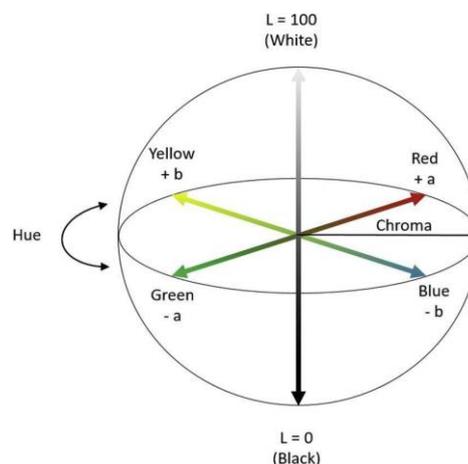
3.2.3 Análises físicas instrumentais

A caracterização física queijo Minas frescal quanto aos parâmetros de cor e textura foram analisadas durante o período de armazenamento, nos dias 1, 7, 14 e 20.

3.2.3.1 Análise instrumental de cor

A cor foi determinada por colorímetro portátil (CM-600D Konica Minolta, Japão), obtendo-se os parâmetros L^* (luminosidade), a^* (verde-vermelho) e b^* (azul-amarelo) conforme descrito por Rocha et al. (2020). Os valores para claro ou escuro são representados por “L”, vermelho por “+a” e verde por “-a”, amarelo por “+b” e azul por “-b” conforme a figura 11. Antes das análises, o colorímetro foi calibrado com a cor branca do próprio instrumento e os parâmetros para análises foram realizados com iluminante D65 e ângulo de visão de 10°. Os parâmetros de cor foram determinados em três locais da superfície de cada queijo.

Figura 11 – Plano cartesiano para mensurar a cor pelos parâmetros L^* , a^* e b^*



Fonte: Foto retirada da internet.

3.2.3.2 Análise instrumental de textura

A textura das amostras foi realizada conforme Pérez-Soto et al. (2021) e Moreira *et al.* (2021). A análise do perfil de textura (TPA) foi medida utilizando um analisador de textura (TA.XTplus; Stable Micro System, Godalming, UK), equipado com uma célula de carga de 5kg, utilizando uma sonda cilíndrica (sonda P/36 R, 36mm de diâmetro). As amostras foram cortadas em cubos (2 cm x 2 cm x 2 cm) e comprimidas em dupla compressão, com velocidade pré-teste de 5 mm/s, velocidade de teste de 10 mm/s e velocidade pós-teste de 5 mm/s, e comprimindo-os a 50% de sua altura. Todo o experimento foi realizado em temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$).

3.2.4 Análise microbiológica *in situ*

A contagem das bactérias mesófilas, psicotróficas e bactérias ácido lácticas (BAL) dos queijos Minas frescal foram realizadas nos dias 1, 7, 14 e 20 após a fabricação. O preparo das amostras foi realizado conforme Moreira et al. (2022) com algumas modificações, 10g de cada queijo foram homogeneizados em 90 ml de solução salina 0,9% (m/v) no homogeneizador. Posteriormente foi realizada diluição seriada com inoculação de 100 μL em ágar de crescimento específico pela técnica de *spread-plate*. A contagem das bactérias mesófilas e psicotróficas foram determinadas através do crescimento em Plate Count Agar (PCA; Neogen[®], Brasil) após incubação a 37°C por 48h e a 7°C por 10 dias, respectivamente. As BAL foram determinadas através do crescimento em Ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRS; Kasvi[®], Espanha) a 37°C por 48h. Todas as análises foram realizadas seguindo metodologias analíticas, e foram realizadas com triplicata experimental e duplicata analítica.

3.2.5 Análise estatística

A análise estatística para os resultados obtidos na triagem fitoquímica dos extratos (R4, R10 e R25) foram registrados como média \pm desvio padrão (DP) de três tratamentos independentes ($n = 3$), e para cada tratamento, foram realizadas réplicas técnicas em triplicata. Foi utilizado o teste ANOVA *One-way* para avaliar a média dos tratamentos (1:4, 1:10 e 1:25) em relação ao teor de compostos fenólicos totais, teor de flavonoides totais, capacidade

antioxidante FRAP e análise microbiológica. As diferenças entre os tratamentos foram avaliadas pelo teste de Tukey, consideradas estatisticamente significantes quando $P < 0,05$.

A análise estatística para as análises realizadas no queijo a diferença significativa entre a média \pm desvio padrão (DP) dos tratamentos (QC, Q1, Q2 e Q3) foi determinada por meio de uma análise de variância de dois fatores (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $P < 0,05$.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software XLSTAT (Versão 2021.5, Addinsoft, Nova Iorque, NY, EUA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Teor de polifenóis nos extratos

A tabela 1 demonstra o rendimento e o teor de polifenóis totais recuperados utilizando o etanol como solvente, pelo método de extração com ultrassom. A respeito da relação sólido-líquido, a quantificação de compostos fenólicos do extrato etanólico do mesocarpo do coco babaçu apresentou aumento enquanto as relações sólido-líquido variaram. Essa diferença foi estatisticamente significativa ($P > 0,05$) e foi observada em uma relação sólido/líquido de 1:25 (extrato R25), maior teor de fenólicos totais (até 5,124.86 mg EAG/100 g de amostra seca). Esse comportamento pode provavelmente ser atribuído ao aumento na relação sólido-líquido proporcionando um volume relativamente maior de solvente, o que, por sua vez, acelera a difusão de compostos. Consequentemente, o solvente pode entrar na célula, promovendo a liberação de compostos fenólicos, que por sua vez podem render altos teores de polifenóis (Sousa *et al.*, 2016).

Tabela 1 – Extração ultrassônica para recuperação de compostos bioativos do mesocarpo do coco babaçu (*A. speciosa*): rendimentos de extração e teor de polifenóis totais

Nomenclatura	Razão mesocarpo: solvente (m/v)	Concentração (mg/mL)	Rendimento (%)	Teor de polifenóis totais (mgEAG/100g)
R4	1:4	250	26,40	4.037,57± 167,61 ^a
R10	1:10	100	25,98	3.289,83 ± 665,16 ^a
R25	1:25	40	24,10	5.124,86 ± 350,13 ^b

R4= proporção mesocarpo/solvente 1:4 (m/v), R10= proporção mesocarpo/solvente 1:10 (m/v), R25= proporção mesocarpo/solvente 1:25 (m/v); EAG= equivalente de ácido gálico. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de três repetições. a, b: indicam diferença significativa entre diferentes proporções sólido-líquido ($P > 0,05$).

Fonte: A autora.

Relacionado aos métodos de extração, diferentes autores observaram o teor de polifenóis no mesocarpo do coco babaçu. No entanto, este foi o primeiro estudo que avaliou os parâmetros experimentais como relação sólido/líquido e abordagem da Extração Assistida por Ultrassom para recuperação de polifenóis totais do mesocarpo de babaçu. Maniglia e Tapia-Blácido (2016) identificaram um teor total de compostos fenólicos de $98,3 \pm 1,2$ mg EAG/100g em farinha de mesocarpo de babaçu. E ao comparar nosso extrato com outra fonte de compostos fenólicos,

como uvas de pele escura (*Vitis vinifera L.*) a recuperação foi de 162,29 a 326,18 mgEAG/100g de peso fresco (Yilmaz *et al.*, 2015), cacau foi de 611 mgEAG/100g, o chá verde tinha 165 mgEAG/100g e o vinho tinto tinha 340 mgEAG/100g (Lee *et al.*, 2003).

Em nosso estudo, o método de extração, o tipo do solvente utilizado (Tiwari, 2015) e as diferentes razões sólido-líquido de mesocarpo para o etanol (Sousa *et al.*, 2016) podem ter contribuído significativamente para que valores polifenóis totais recuperados fossem superiores quando comparado com outros extratos. Além disso, é importante destacar que o conteúdo de compostos fenólicos no mesocarpo pode ser influenciado por fatores ambientais, como nutrientes foliares e do solo (Andreotti, Costa; Treutter, 2006). Todos esses fatores concordam com Muniz-Márquez *et al.* (2013) relatando que a EAU dos compostos fenólicos de *Laurus nobilis* também produziu os maiores teores de polifenóis quando a proporção sólido-líquido diminuiu de 1:4 para 1:12 g/mL. Da mesma forma, D'Alessandro *et al.* (2012) relataram um aumento na concentração de compostos fenólicos do chokeberry moído quando a razão sólido/líquido diminuiu de 1:10 para 1:20.

4.2 Teor de flavonoides nos extratos

O teor de flavonoides recuperado do mesocarpo de coco babaçu com auxílio do ultrassom e com o etanol como solvente pode ser observado na Tabela 2. Em relação a razão sólido/líquido, os teores de flavonoides nos extratos não apresentaram diferença estatisticamente ($P < 0,05$).

Tabela 2 – Teor de flavonoides em extrato de mesocarpo de coco babaçu (*A. speciosa*) por ultrassom

Nomenclatura	Razão mesocarpo:solvente (m/v)	Concentração (mg/mL)	Teor de flavonoides (mgEQ/100g)
R4	1:4	250	488,96 ± 13,92 ^a
R10	1:10	100	492,53 ± 13,91 ^a
R25	1:25	40	477,45 ± 23,07 ^a

R4= proporção mesocarpo/solvente 1:4 (m/v), R10= proporção mesocarpo/solvente 1:10 (m/v), R25= proporção mesocarpo/solvente 1:25 (m/v); EQ= equivalente de quercetina. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão de três repetições. a, b: indicam diferença significativa entre diferentes proporções sólido-líquido ($P > 0,05$).

Fonte: A autora.

Os flavonoides estão dentro do grande grupo de compostos fenólicos (Oroian; Escriche, 2015). E encontram-se distribuídos na parede celular devido às características hidrofóbicas da molécula (D'Alessandro *et al.*, 2012). Desta forma, mesmo com a diferença na razão sólido/líquido entre os três extratos, o resultado do total de flavonoides semelhante, provavelmente pode estar associado ao tipo de solvente utilizado na extração, uma vez que a polaridade mais baixa do etanol pode favorecer a solubilidade e a difusão do flavonoide ao extrato etanólico (Garcia-Castello *et al.*, 2015; Medina-Torres *et al.*, 2017).

Barroqueiro et al. (2016) avaliaram o extrato etanólico do mesocarpo do babaçu, e apenas 1% de flavonoides (usando a quercetina como padrão) foi identificado. Quando em comparação com outros estudos, a extração de flavonoides do mesocarpo de coco (*Cocos nucifera*) usando acetona 60% (v/v) como solvente de extração e a proporção sólido/líquido de 1:5 g/mL apresentou $551,99 \pm 12,69$ mg Rutina g/mL de peso seco (Yang *et al.*, 2021), valor superior ao encontrado no presente trabalho.

4.3 Capacidade antioxidante dos extratos

Para determinar a capacidade antioxidante dos extratos dois métodos complementares foram realizados, um com base no método FRAP e outro teste para determinar a capacidade da eliminação de radicais livres (DPPH). A tabela 3 demonstra os valores referente à capacidade antioxidante dos extratos frente aos diferentes ensaios.

Tabela 3 – Capacidade antioxidante pelo método de FRAP e DPPH dos extratos de mesocarpo de coco babaçu

Nomenclatura	Razão mesocarpo :solvente (m/v)	Concentração (mg/mL)	FRAP ($\mu\text{mol EqT}$)	DPPH (EC_{50})	%DPPH remanescente
R4	1:4	250	$3.327,43 \pm 314,69^a$	37,23 ($t_{\text{EC}50} < 1$ min)	10,30
R10	1:10	100	$3.167,82 \pm 340,90^a$	-	-
R25	1:25	40	$4.037,56 \pm 187,26^a$	36,78 ($t_{\text{EC}50} > 120$ min)	33,89

R4= proporção mesocarpo/solvente 1:4 (m/v), R10= proporção mesocarpo/solvente 1:10 (m/v), R25= proporção mesocarpo/solvente 1:25 (m/v); EqT= Equivalente de Trolox. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão de três repetições. a, b: indicam diferença significativa entre diferentes proporções sólido-líquido ($P > 0,05$). - não foram mensurados.

Fonte: A autora.

4.3.1 FRAP (Poder antioxidante redutor férrico)

Em relação a razão sólido-líquido de mesocarpo para etanol, não houve diferença estatística ($P < 0,05$) entre os diferentes extratos quanto a capacidade antioxidante pelo FRAP. A capacidade antioxidante pelo método FRAP é baseada no poder redutor do ferro pelos antioxidantes, sendo a reação espectroscópica monitorada por mudanças na absorvância a 593 nm (Rajurkar; Hande, 2011), especificamente, pela redução do complexo Fe^{3+} TPTZ (incolor) para (cor azul) Complexo Fe^{2+} -tripiridiltriazina formado pela ação de um grupo antioxidante doador de elétrons, em pH baixo. A tabela 3 indica a capacidade do extrato etanólico do mesocarpo de babaçu em atuar como antioxidante doador de elétrons, com estabilidade suficiente para doar um elétron a um radical livre e neutralizá-lo, reduzindo sua capacidade de danificar as células (Lobo *et al.*, 2010).

Nesse caso, os extratos do mesocarpo de babaçu provavelmente podem atacar um radical livre pela transferência de um único elétron, com alto potencial antioxidante para reduzir certas moléculas transferindo um elétron (Karadag; Ozcelik; Saner, 2009). Esses resultados são particularmente interessantes para a saúde humana para gerenciar doenças geradoras de estresse. Além disso, estes extratos etanólicos verdes do mesocarpo do babaçu, obtido por variadas proporções sólido/líquido, pode recuperar antioxidantes naturais e serem convenientemente aplicados em tecnologia de alimentos para melhorar a estabilidade oxidativa por ambas as funções de eliminação radicais livres e espécies reativas de oxigênio ou íons metálicos quelantes.

Nossos resultados concordam parcialmente com Nobre *et al.* (2018), os autores encontraram alto valor de FRAP no extrato metanólico de babaçu, $6.892,14 \pm 20,20 \mu\text{g/mL}$, enquanto expressamos nossos resultados em $\mu\text{mol TEAC}/100\text{g}$. Comparado a outra fruta, as frações hidrofílicas da Polpa do buriti do Cerrado (*Mauritia flexuosa*) apresentou resultado inferior no FRAP ($38,64 \mu\text{mol de TE g/L}$) do que o extrato etanólico do babaçu mostrado aqui (Cândido; Silva; Agostini-Costa, 2015).

4.3.2 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

De acordo com os resultados obtidos para a triagem fitoquímica pode-se observar que o extrato etanólico do mesocarpo de babaçu produzido pela melhor proporção sólido-líquido de extração, 1:4 e 1:25, mostrou 10,30% e 33,89% da concentração inicial de DPPH' após a reação, respectivamente. Apesar de ambos os extratos apresentarem os mesmos valores de EC_{50} , é

crucial mencionar o efeito da proporção sólido/líquido na cinética de varredura de DPPH^{*}, uma vez que o t_{EC50} é muito diferente. Enquanto a estabilização da absorbância em 515 nm (ou seja, a mudança de cor de violeta profundo para levemente amarelo e, portanto, a neutralização de radicais livres pelo antioxidante) para o extrato R25 foi mais de 120 minutos para atingir um platô (indicativo de uma cinética lenta), e o extrato R4 reagiu rapidamente com o DPPH^{*}, em menos de 1 minuto (indicativo de uma cinética rápida). Como exemplo de compostos antioxidantes padrão com um comportamento cinético diferenciado na reação com o DPPH^{*}, podemos citar o hidroxitolueno butilado sintético (BHT) como um composto de reação mais lenta (mais de 1 hora); o ácido ascórbico de reação rápida (reage em poucos segundos); e o alfa-tocoferol de cinética intermediária (reage entre 5 e 30 minutos) (Brand-Williams; Cuvelier; Berset, 1995).

Assim, cada extrato produzido em uma proporção específica de sólido-líquido por meio deste protocolo verde favoreceu a recuperação de substâncias antioxidantes particulares capazes de reagir de maneira específica com o DPPH^{*}, indicando uma cinética de reação diferente. Os resultados obtidos a partir da atividade de varredura de radicais pelo método do DPPH^{*} foram modificados e expressos de diferentes formas por diferentes protocolos, tornando difícil a comparação da capacidade antioxidante das mesmas ou diferentes amostras (Deng; Cheng; Yang, 2011).

4.4 Atividade antimicrobiana *in vitro*

Os dados analíticos do ensaio antimicrobiano foram expressos como diâmetro do halo de inibição - exibido por um disco de amostra em uma placa, mostrando a área livre de bactérias medida através de seu diâmetro e a distância registrada como o tamanho da zona (Tabela 4). No que diz respeito ao efeito antimicrobiano da proporção sólido/líquido, não houve diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$), mas quando comparado com o controle positivo, foi observada diferença estatística ($P > 0,05$). Os extratos mostraram atividade antibacteriana *in vitro* eficaz contra dois microrganismos patogênicos, as bactérias Gram-negativas *E. coli* e *S. Enteritidis*. Esse resultado pode ser associado à ação sinérgica de altos teores de ácidos fenólicos e flavonoides recuperados pelo nosso protocolo verde de extração. Isso sugere uma relação direta com a atividade antibacteriana, uma vez que os polifenóis podem formar complexos com polissacarídeos e proteínas extracelulares resultando em danos na parede celular e inibir a síntese de enzimas envolvidas na produção de nutrientes para a parede celular.

A literatura também tem demonstrado que os polifenóis (como o ácido cafeico e o ácido clorogênico, por exemplo) podem induzir danos oxidativos no DNA bacteriano (Nakamura *et al.*, 2015). Os polifenóis também podem causar a desestabilização da membrana bacteriana (Borges; Saavedra; Simoes, 2015). Com relação à notável presença de flavonoides nos extratos, conhecidos como compostos antibacterianos, a literatura também propôs vários modos de ação, incluindo a inibição da síntese de ácidos nucleicos, a inibição de enzimas do metabolismo energético e a redução da patogenicidade (Xie *et al.*, 2014). De forma interessante, acreditamos que nosso procedimento de extração contribuiu para a recuperação de flavonoides do tipo chalcona (que contém um anel lipofílico de atividade marcada), flavonoides contendo grupos -OH em locais específicos nos anéis aromáticos, ou flavonoides com grupos funcionais hidrofóbicos/regiões heterocíclicas contendo oxigênio em uma cadeia, os quais foram relatados como tendo alta atividade antibacteriana (Xie *et al.*, 2014).

Um estudo anterior com um extrato etanólico do mesocarpo do babaçu não encontrou atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-negativas (Barroqueiro *et al.*, 2016). Posteriormente, outras abordagens utilizando o mesocarpo do babaçu (Bastos Araruna *et al.*, 2020) identificaram atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-negativas. No entanto, esse resultado também foi observado em amostras usando conceitos de nanotecnologia (ou seja, para nanopartículas de prata sintetizadas usando o amido do mesocarpo). Por outro lado, se considerarmos um simples extrato da matéria-prima, apenas nosso extrato demonstrou uma atividade antimicrobiana "intermediária" contra bactérias Gram-negativas. O relatório anterior de Barroqueiro *et al.* (2016) sobre o extrato etanólico por técnicas convencionais do mesocarpo do babaçu não apresentou atividade contra bactérias Gram-negativas (*E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa*), apenas atividade contra bactérias Gram-positivas *Enterococcus faecalis* ($12,4 \pm 0,2$ a $14,4 \pm 0,4$ mm de zona de inibição) e *Staphylococcus aureus* ($15,3 \pm 0,3$ a $17,4 \pm 0,3$ mm de zona de inibição).

Tabela 4 – Atividade antimicrobiana do extrato etanólico do mesocarpo do coco babaçu contra bactérias Gram-negativas

Concentração do extrato de mesocarpo de babaçu	Razão mesocarpo/etanol (m/v)	Zona de inibição (mm)*	
		<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Salmonella Enteritidis</i> ATCC 13076
250mg/mL	1:4	9,70 ± 1,00 ^a	12,48 ± 0,43 ^a
100mg/mL	1:10	9,59 ± 0,60 ^a	10,45 ± 0,54 ^a
40mg/mL	1:25	11,83 ± 1,42 ^a	11,56 ± 0,76 ^a
Controle positivo (ampicilina 10mcg)		21,49 ± 0,43 ^b	27,26 ± 0,87 ^b
Controle negativo (etanol 94%)		0	0

R4= proporção mesocarpo/solvente 1:4 (m/v), R10= proporção mesocarpo/solvente 1:10 (m/v), R25= proporção mesocarpo/solvente 1:25 (m/v). a, b: indicam diferença significativa entre diferentes proporções sólido-líquido ($P > 0,05$). *: As zonas de inibição (mm) são expressas como média ± desvio padrão de três repetições; o diâmetro menor que 7 mm foi considerado inativo.

Fonte: A autora.

4.5 Composição centesimal

A legislação define que o queijo Minas frescal é um queijo de muita alta umidade ($\geq 55\%$) e um queijo semi-gordo (com teor de gordura variando entre 25 a 44,9%). Desta forma, a caracterização da composição centesimal é uma etapa crucial para definir o produto elaborado. A tabela 5 demonstra o teor de umidade, teor de gordura e a porcentagem do teor de sal um dia após a fabricação dos diferentes tratamentos dos queijos.

Tabela 5 – Composição centesimal dos diferentes tratamentos dos queijos no primeiro dia de estocagem

Tratamento	Período de estocagem	Umidade em base seca (g/100g)	% Gordura (amostra seca)*	% Sal (NaCl)
QC	Dia 1	60,51 ± 1,08 ^a	43,76	0,60 ± 0,00 ^a
Q1		58,36 ± 0,32 ^b	44,45	0,70 ± 0,10 ^a
Q2		58,36 ± 0,18 ^b	44,53	0,33 ± 0,06 ^b
Q3		58,08 ± 0,88 ^b	44,86	0,53 ± 0,15 ^{ab}

QC: queijo controle com 1,5% de NaCl, sem extrato; Q1: queijo com 1,5% de NaCl com 7% de extrato; Q2: queijo com 0,75% de NaCl sem extrato; Q3: queijo com 0,75% de NaCl com 7% de extrato. Os resultados estão expressos em médias ± DP (desvio-padrão), com o teste de Tukey a um nível de significância de 0,05.

* A análise de gordura foi realizada sem triplicatas. a, b indicam diferença significativa entre diferentes tratamentos ($P > 0,05$).

Fonte: A autora.

4.5.1 Teor de umidade

Quanto ao teor de umidade (tabela 5), foi observada uma diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos, sendo o queijo de controle (QC) o que apresentou a maior umidade (60,51%). No entanto, esse resultado demonstra que todos os tratamentos são classificados como queijos com um teor de muita alta umidade, conforme recomendado pela legislação (Brasil, 2004; Magenis *et al.* 2014).

A composição final do queijo pode ser influenciada por diferenças no processo de fabricação (Sant'Ana *et al.* 2013), como por exemplo, o corte da coalhada e a agitação da massa durante o preparo, que influenciam na liberação do soro, sendo um fator determinante para o teor de umidade (Fernandes *et al.* 2017). De acordo com estudos anteriores, o queijo Minas frescal feito com leite de vaca apresentou um teor de umidade mais elevado (63,97%) (Sant'Ana *et al.* 2013). Em contraste, o queijo Minas frescal feito com 0,8g de sal por 100g de queijo apresentou uma umidade menor ($57,0 \pm 0,62\%$) quando comparado ao nosso queijo (Rocha *et al.* 2020).

4.5.2 Teor de lipídeos

Os teores de lipídeos dos queijos variaram de 43,76 a 44,86g/100g na matéria seca (tabela 5). Magenis *et al.* (2014) avaliaram o teor de gordura na matéria seca de 21 amostras de queijo minas e encontrou variações de 23,12 a 52,47 g/100g, sendo que a maioria das amostras apresentou teores de lipídeos dentro dos limites estabelecidos pela regulamentação oficial brasileira (Magenis *et al.* 2014).

O teor de gordura basicamente é influenciado pela composição da matéria prima utilizada para a fabricação do queijo. Além disso, a coagulação enzimática foi capaz de promover uma rede tridimensional a partir do agrupamento das proteínas, reunindo os componentes do leite, inclusive a gordura (Marques *et al.*, 2020). Isso pode ter favorecido a semelhança no teor de gordura independente do tratamento.

4.5.3 Teor de cloreto de sódio (NaCl)

A porcentagem de cloreto de sódio foi avaliada 1 dia após a fabricação e a porcentagem de cloreto de sódio apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$), como

observado na tabela 5. Além disso, o sal variou de 0,75 a 1,5% (m/m) entre os tratamentos, e foi feito em superfície, a distribuição de sal no queijo inteiro no dia 1 provavelmente não ocorreu homogeneamente.

A atual legislação brasileira atual não estabelece valores de referência para a concentração de sal (NaCl) no queijo Minas frescal, apenas autoriza a adição deste ingrediente (Brasil, 1997). Dessa forma, a adição de sal segue um padrão de cada produtor. O sal é um ingrediente capaz de exercer uma função de sabor, prevenir o crescimento microbiano e, além disso, também é capaz de influenciar parâmetros reológicos (Silva *et al.* 2021; Arboatti *et al.* 2014). Silva *et al.* (2021) avaliaram a concentração de sal em queijo Minas Frescal comercializados em mercados e a faixa de variação foi de 0,85% a 1,70%; A mesma variação foi observada por Silva *et al.* (2019) 1,06% a 1,38% em queijo Minas frescal.

4.6 Análises físico-químicas

A tabela 6 demonstra os resultados das análises físico-químicas durante o período de estocagem, onde foram avaliados os parâmetros de pH e acidez titulável nos dias 1, 7, 14 e 20. Além disso, traz os resultados da oxidação lipídica pelo método de TBARS nos dias 1, 14 e 20.

Tabela 6 – Parâmetros físico-químicos e mg de malondialdeído (MDA)/kg em diferentes tratamentos durante o período de armazenamento do queijo Minas Frescal

Análises	Tratamentos	Período de estocagem (dias)			
		1	7	14	20
pH	QC	6,37 ± 0,05 ^{Ab}	6,64 ± 0,02 ^{Aa}	6,82 ± 0,12 ^{Aa}	6,82 ± 0,01 ^{Aa}
	Q1	6,41 ± 0,07 ^{Ac}	6,61 ± 0,02 ^{ABb}	6,73 ± 0,03 ^{Aa}	6,80 ± 0,02 ^{ABa}
	Q2	6,42 ± 0,08 ^{Ac}	6,60 ± 0,01 ^{ABb}	6,66 ± 0,04 ^{Ab}	6,77 ± 0,01 ^{Ba}
	Q3	6,43 ± 0,07 ^{Ab}	6,57 ± 0,04 ^{Bb}	6,67 ± 0,02 ^{Ab}	6,79 ± 0,02 ^{ABa}
% Ácido láctico	QC	0,020 ± 0,000 ^{Ab}	0,020 ± 0,004 ^{Ab}	0,040 ± 0,000 ^{Aa}	0,041 ± 0,001 ^{Aa}
	Q1	0,011 ± 0,000 ^{Bb}	0,015 ± 0,002 ^{Ab}	0,031 ± 0,005 ^{Ba}	0,033 ± 0,002 ^{Ba}
	Q2	0,019 ± 0,002 ^{Ab}	0,021 ± 0,002 ^{Ab}	0,025 ± 0,004 ^{Bb}	0,041 ± 0,001 ^{Aa}
	Q3	0,009 ± 0,002 ^{Bc}	0,018 ± 0,002 ^{Ab}	0,032 ± 0,001 ^{Ba}	0,033 ± 0,001 ^{Ba}
TBARS (mgMDA/Kg queijo)	QC	0,865 ± 0,034 ^{Aa}	-	0,758 ± 0,078 ^{Aa}	0,542 ± 0,016 ^{Bb}
	Q1	0,827 ± 0,029 ^{Aa}	-	0,598 ± 0,003 ^{Bb}	0,896 ± 0,065 ^{Aa}
	Q2	0,844 ± 0,029 ^{Aa}	-	0,633 ± 0,040 ^{Bb}	0,518 ± 0,041 ^{Bc}
	Q3	0,688 ± 0,041 ^{Ba}	-	0,595 ± 0,008 ^{Bb}	0,514 ± 0,043 ^{Bb}

QC: queijo controle com 1,5% de NaCl, sem extrato; Q1: queijo com 1,5% de NaCl com 7% de extrato; Q2: queijo com 0,75% de NaCl sem extrato; Q3: queijo com 0,75% de NaCl com 7% de extrato. Os resultados estão expressos em médias ± DP (desvio-padrão), com o teste de Tukey a um nível de significância de 0,05. -: não foi analisado. Letras maiúsculas comparam os diferentes tratamentos em cada coluna. Enquanto as letras minúsculas comparam o tratamento ao longo do período de armazenamento.

Fonte: A autora.

4.6.1 pH

Independentemente do tratamento, todas as amostras mostraram a mesma tendência de aumento do pH durante o período de armazenamento (tabela 6). Nossos resultados foram opostos ao que é amplamente discutido na literatura, na qual ocorre uma diminuição do pH, enquanto em nosso tratamento o que ocorreu foi o aumento. Na fabricação dos queijos, não foram aplicadas bactérias ácido lácticas (BAL), que são responsáveis por diminuir o pH liberando ácido láctico como subproduto de metabolismo da lactose, e também nenhum ácido láctico líquido foi adicionado (Dagostin; Carpine; Masson 2013).

Portanto, provavelmente o fenômeno que ocorreu durante o período de estocagem pode ter sido um processo de alcalinização. A ação da proteólise induzida pelo mecanismo bacteriano a partir da hidrólise de proteínas libera moléculas, alcalinizando o queijo, pois nesse processo envolve a assimilação de ácidos orgânicos, descarboxilação, desaminação de aminoácidos e a geração de amônia (MEI et al. 2015). Um fenômeno semelhante foi observado em um queijo *twarog*, com aumento do pH de 3,94 no 7º dia de armazenamento para 4,20 no 21º dia de armazenamento (Krajewska-Kamińska; Śmietana; Bohdziewicz, 2007). O queijo Camembert também apresentou aumento do pH durante os dias de armazenamento, passando de pH 5,35 no 5º dia de armazenamento para pH superior a 7 no 35º dia de armazenamento (Mei *et al.* 2015).

4.6.2 Acidez titulável

Independentemente do tratamento, todas as amostras apresentaram a mesma tendência de aumento no percentual de ácido láctico durante o período de armazenamento ($P < 0,05$), conforme observado na tabela 6. Devido à baixa concentração de sal neste queijo, as forças repulsivas entre as micelas de caseína diminuem. Essa redução incentiva o agrupamento delas, levando à expulsão do soro como resultado, o que significa aumento na sinérese durante o período de armazenamento, o que pode favorecer a concentração de íons H^+ (Fritzen-Freire *et al.*, 2010).

Como nosso queijo foi feito sem a adição de BAL, o aumento da acidez provavelmente foi causado por algum microrganismo capaz de fermentar a lactose, no entanto, essa atividade não foi tão alta a ponto de influenciar na diminuição do pH. Além disso, é possível observar que os queijos em que houve a adição do extrato (Q1 e Q3), a produção de ácido láctico foi

menor quando comparado com os queijos em que não houve a adição do extrato. Dessa forma, demonstrando a capacidade do extrato atuar como um potencial inibidor do crescimento de microrganismos durante o período de estocagem. Semelhante aos resultados encontrados nesse estudo, um queijo Minas frescal feito sem adição de ácido láctico durante a fabricação mostrou aumento nos níveis de acidez do dia 1 ao 28º dia de armazenamento, com % de ácido láctico de 0,091 a 0,287 (Fritzen-Freire *et al.*, 2010).

4.6.3 Oxidação lipídica dos queijos

Todos os tratamentos mostraram comportamento semelhante, com uma diminuição no malondialdeído (MDA) durante o período de armazenamento, com exceção do Q1, que apresentou valores mais altos (0,896 mgMDA/kg) no 20º dia ($P < 0,05$). O tratamento Q3 teve a menor quantidade de MDA no dia 1 (0,688 mgMDA/kg) ($P < 0,05$), mostrando o efeito sinérgico da baixa concentração de sal e adição de extrato de babaçu. Isso provavelmente ocorreu devido a redução do sal, que amplamente é reconhecido por possuir efeito oxidante, logo, a diminuição de um efeito oxidante (Mariutti; Bragagnolo, 2017) e também à ação de compostos bioativos (ou seja, polifenóis, como fenólicos e flavonoides) como identificados *in vitro* (Lima *et al.*, 2023), realizaram o mecanismo doando um elétron ou um átomo de hidrogênio e neutralizando os radicais livres para prevenir a oxidação dos alimentos (Sharma *et al.*, 2023).

No entanto, durante o período de armazenamento, não foi observada nenhuma diferença significativa ($P > 0,05$) entre QC, Q2 e Q3. Apesar do efeito pró-oxidante do sal (Mariutti; Bragagnolo 2017), até a concentração de 1,5%, não foi possível observar um impacto maior na oxidação lipídica; sugerindo que até esse limite, o efeito oxidante do sal não ocorreu (Sakai; Shimizu; Kawahara 2006). Além disso, o efeito observado provavelmente está associado à condição de armazenamento. A diminuição nos valores de MDA durante o período de armazenamento se deve a vários fatores: (i) os tratamentos de queijo foram armazenados a uma temperatura de refrigeração ($4^{\circ}\text{C} \pm 2$) por 20 dias, e baixas temperaturas são capazes de diminuir o efeito da oxidação lipídica (Moreira *et al.*, 2021; Matumoto-Pintro *et al.*, 2017); (ii) A concentração de compostos oxidativos secundários (TBARS) foi reduzida e apresentou flutuações, com um aumento inicial seguido por uma diminuição durante o período de armazenamento, o que pode ser atribuído à instabilidade inerente dessas substâncias. Com o tempo, o MDA sofre degradação, transformando-se em ácidos orgânicos e álcoois. Esses subprodutos não são detectáveis pelo método TBARS (Ulu, 2004). Estudos anteriores relataram

a mesma tendência em amostras de queijo fresco tipo Minas contendo extrato de planta (óleo essencial de fruto de pimenta brasileira madura) durante 30 dias de armazenamento a $4^{\circ}\text{C} \pm 2$ (Da Silva Dannenberg *et al.*, 2016).

4.7 Análises físicas instrumentais

4.7.1 Análise de cor

Os parâmetros de cor das amostras de queijo Minas frescal estão demonstrados na Tabela 7. A análise de cor é realizada na superfície do queijo, o que está intimamente relacionado com a aparência e a aceitação pelo consumidor (MOREIRA *et al.*, 2022). Não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) nos valores do parâmetro L^* entre os tratamentos, enquanto a adição de extrato nos tratamentos Q1 e Q3 afetou os parâmetros a^* e b^* com diferenças significativas ($P < 0,05$), apresentando valores mais altos de a^* e b^* durante o armazenamento.

Tabela 7 – Parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) durante o período de armazenamento (dias) 1, 7, 14 e 20

Parâmetro de cor	Tratamento	Período de estocagem (Dias)			
		1	7	14	20
L^*	QC	93.87 ± 0.81 ^{Aa}	92.95 ± 0.56 ^{Aa}	92.60 ± 1.18 ^{Aa}	93.59 ± 0.93 ^{Aa}
	Q1	88.88 ± 5.35 ^{Aa}	91.72 ± 0.61 ^{Aa}	88.03 ± 3.56 ^{Aa}	90.35 ± 1.26 ^{Aa}
	Q2	93.29 ± 1.42 ^{Aa}	93.10 ± 0.32 ^{Aa}	92.40 ± 0.65 ^{Aa}	93.13 ± 0.20 ^{Aa}
	Q3	92.98 ± 1.73 ^{Aa}	91.80 ± 0.98 ^{Aa}	89.51 ± 1.18 ^{Aa}	90.05 ± 2.36 ^{Aa}
a^*	QC	0.25 ± 0.025 ^{Bb}	0.46 ± 0.11 ^{Ba}	0.61 ± 0.05 ^{Ba}	0.21 ± 0.04 ^{Bb}
	Q1	1.65 ± 0.33 ^{Aa}	1.58 ± 0.35 ^{Aa}	1.86 ± 0.26 ^{Aa}	2.16 ± 0.47 ^{Aa}
	Q2	0.30 ± 0.02 ^{Bb}	0.54 ± 0.03 ^{Ba}	0.54 ± 0.07 ^{Ba}	0.36 ± 0.07 ^{Bb}
	Q3	1.06 ± 0.55 ^{Abc}	1.38 ± 0.26 ^{Abc}	2.17 ± 0.49 ^{Aab}	2.52 ± 0.16 ^{Aa}
b^*	QC	14.91 ± 0.83 ^{Aa}	15.43 ± 0.82 ^{Ba}	16.00 ± 1.71 ^{Ba}	14.75 ± 1.35 ^{Ca}
	Q1	16.66 ± 1.04 ^{Ab}	17.73 ± 0.75 ^{Aab}	19.56 ± 1.09 ^{Aa}	18.78 ± 0.15 ^{Aab}
	Q2	14.82 ± 0.38 ^{Aa}	15.37 ± 0.60 ^{Ba}	16.61 ± 1.25 ^{Ba}	15.90 ± 1.06 ^{BCa}
	Q3	15.09 ± 1.43 ^{Ab}	17.43 ± 0.70 ^{Aab}	18.75 ± 0.29 ^{Aa}	18.32 ± 0.86 ^{Aab}

QC: queijo controle com 1,5% de NaCl, sem extrato; Q1: queijo com 1,5% de NaCl com 7% de extrato; Q2: queijo com 0,75% de NaCl sem extrato; Q3: queijo com 0,75% de NaCl com 7% de extrato. Os resultados estão expressos em médias \pm DP (desvio-padrão), com o teste de Tukey a um nível de significância de 0,05. Letras maiúsculas comparam os diferentes tratamentos em cada coluna. Enquanto as letras minúsculas comparam o mesmo tratamento ao longo do período de armazenamento.

Fonte: A autora.

Quanto aos valores de L^* , esse parâmetro é resultado de partículas coloidais do leite, como os glóbulos de gordura e micelas de caseína, que podem ser responsáveis por dispersar a luz no espectro visível (García-Pérez *et al.*, 2005). Além disso, o parâmetro L^* está mais correlacionado com a presença de água livre na superfície do alimento do que em todo o alimento. Nossos achados estão próximos de estudos anteriores que abordaram o queijo Minas Frescal (Rocha *et al.*, 2020; Moreira *et al.*, 2019; Sant'Ana *et al.*, 2013).

Durante o período de armazenamento, Q1 e Q3 apresentaram valores aumentados de a^* e b^* ($P < 0,05$). O valor mais baixo nos parâmetros a^* dos queijos QC e Q2 se deve à presença de riboflavina, indicando uma tendência para a cor verde (Diezhandino *et al.*, 2016). Enquanto nas amostras Q1 e Q3, o aumento nos parâmetros a^* e b^* provavelmente se deve ao fato de o extrato do mesocarpo de babaçu ser rico em compostos fenólicos (Lima *et al.*, 2023), e a adição desse extrato pode levar a uma alteração na cor do produto desenvolvido (Awad *et al.*, 2021; Plaskova, Mlcek, 2023). Em relação ao parâmetro b^* , todos os tratamentos mostraram uma tendência para a cor amarela, no entanto, a adição do extrato de babaçu aumentou o parâmetro b^* nos tratamentos Q1 e Q3 a partir do 7º dia do período de estocagem devido às propriedades da cor do próprio extrato.

4.7.2 Análise de textura

A tabela 8 mostra os parâmetros de textura (dureza, elasticidade, coesão, gomosidade, mastigabilidade e resiliência) estudados no queijo Minas Frescal durante o período de estocagem de 20 dias. O parâmetro de dureza significa a resistência do alimento às forças de compressão (Wee *et al.*, 2018). No primeiro dia de estocagem, os queijos (Q1 e Q3) com adição de extrato apresentaram maiores valores de dureza ($P < 0,05$). Como proposto por Giroux *et al.* (2013), a adição de extrato pode afetar a textura do queijo (ou seja, a dureza) de duas maneiras possíveis, a primeira é através da redução da umidade, e a outra é pela interação dos polifenóis com a micela de caseína, que forma uma rede de coalhada forte e contribui para aumentar a dureza do queijo. O queijo tipo Cheddar com adição de extrato de chá verde mostrou um aumento na dureza ao mesmo tempo em que aumentavam as concentrações do extrato (Giroux *et al.*, 2013).

Tabela 8 – Parâmetros de textura avaliados durante o período de armazenamento (dias) 1, 7, 14 e 20

Parâmetro	Tratamento	Período de estocagem (Dias)			
		1	7	14	20
Dureza	QC	1532.56 ± 103.63 ^{Cb}	2744.59 ± 427.37 ^{Aa}	2975.35 ± 131.86 ^{Aa}	1616.58 ± 185.38 ^{Bb}
	Q1	2540.37 ± 91.64 ^{Aa}	2596.30 ± 463.71 ^{Aa}	2756.59 ± 1.89 ^{Aa}	2759.29 ± 397.50 ^{Aa}
	Q2	1935.00 ± 249.96 ^{BCb}	2564.71 ± 451.67 ^{Aab}	2924.96 ± 349.82 ^{Aa}	2606.41 ± 194.51 ^{Aab}
	Q3	2394.42 ± 209.02 ^{ABa}	3042.27 ± 299.53 ^{Aa}	2852.69 ± 409.59 ^{Aa}	2991.68 ± 453.42 ^{Aa}
Elasticidade	QC	0.16 ± 0.01 ^{Ab}	0.19 ± 0.03 ^{Aab}	0.21 ± 0.01 ^{ABa}	0.19 ± 0.01 ^{Aab}
	Q1	0.15 ± 0.00 ^{Ab}	0.19 ± 0.02 ^{Aab}	0.19 ± 0.01 ^{Bab}	0.20 ± 0.02 ^{Aa}
	Q2	0.16 ± 0.02 ^{Aa}	0.18 ± 0.01 ^{Aa}	0.19 ± 0.01 ^{Ba}	0.19 ± 0.05 ^{Aa}
	Q3	0.16 ± 0.00 ^{Ab}	0.20 ± 0.01 ^{Aa}	0.23 ± 0.02 ^{Aa}	0.17 ± 0.01 ^{Ab}
Coesão	QC	0.18 ± 0.02 ^{Aa}	0.20 ± 0.03 ^{Aa}	0.17 ± 0.00 ^{Ba}	0.17 ± 0.00 ^{Aa}
	Q1	0.17 ± 0.01 ^{Aa}	0.21 ± 0.01 ^{Aa}	0.19 ± 0.02 ^{Ba}	0.21 ± 0.04 ^{Aa}
	Q2	0.17 ± 0.02 ^{Ab}	0.21 ± 0.01 ^{Aa}	0.19 ± 0.02 ^{Bab}	0.17 ± 0.01 ^{Ab}
	Q3	0.20 ± 0.01 ^{Ab}	0.20 ± 0.03 ^{Ab}	0.25 ± 0.01 ^{Aa}	0.17 ± 0.00 ^{Ab}
Gomosidade	QC	277.42 ± 11.80 ^{Bb}	491.84 ± 10.42 ^{Aa}	499.46 ± 27.36 ^{Aa}	277.28 ± 14.61 ^{Bb}
	Q1	433.72 ± 29.36 ^{Aa}	551.31 ± 86.69 ^{Aa}	541.40 ± 34.07 ^{Aa}	567.56 ± 37.69 ^{Aa}
	Q2	325.18 ± 7.93 ^{Bb}	539.62 ± 78.70 ^{Aa}	537.29 ± 16.17 ^{Aa}	515.51 ± 105.32 ^{Aa}
	Q3	488.34 ± 61.42 ^{Aa}	616.69 ± 120.19 ^{Aa}	587.01 ± 50.60 ^{Aa}	605.30 ± 28.43 ^{Aa}
Mastigabilidade	QC	45.04 ± 4.22 ^{Cc}	76.09 ± 4.83 ^{Cb}	102.86 ± 2.12 ^{Ba}	51.35 ± 6.08 ^{Cc}
	Q1	66.09 ± 2.29 ^{ABb}	115.45 ± 8.65 ^{ABa}	114.22 ± 19.71 ^{ABa}	112.71 ± 16.17 ^{Aa}
	Q2	52.29 ± 3.74 ^{BCc}	98.57 ± 6.97 ^{BCa}	100.88 ± 1.69 ^{Ba}	75.33 ± 6.83 ^{BCb}
	Q3	80.34 ± 11.03 ^{Ac}	138.38 ± 18.43 ^{Aab}	146.23 ± 14.95 ^{Aa}	101.50 ± 13.52 ^{ABbc}
Resiliência	QC	0.06 ± 0.01 ^{Aa}	0.07 ± 0.01 ^{Aa}	0.06 ± 0.00 ^{Ba}	0.07 ± 0.01 ^{Aa}
	Q1	0.06 ± 0.00 ^{Aa}	0.08 ± 0.00 ^{Aa}	0.07 ± 0.01 ^{Ba}	0.08 ± 0.01 ^{Aa}
	Q2	0.06 ± 0.01 ^{Aa}	0.08 ± 0.00 ^{Aa}	0.07 ± 0.00 ^{Ba}	0.08 ± 0.03 ^{Aa}
	Q3	0.08 ± 0.01 ^{Aa}	0.08 ± 0.01 ^{Aa}	0.09 ± 0.01 ^{Aa}	0.07 ± 0.01 ^{Aa}

QC: queijo controle com 1,5% de NaCl, sem extrato; Q1: queijo com 1,5% de NaCl com 7% de extrato; Q2: queijo com 0,75% de NaCl sem extrato; Q3: queijo com 0,75% de NaCl com 7% de extrato. Os resultados estão expressos em médias ± DP (desvio-padrão), com o teste de Tukey a um nível de significância de 0,05. Letras maiúsculas comparam os diferentes tratamentos em cada coluna. Enquanto as letras minúsculas comparam o mesmo tratamento ao longo do período de armazenamento.

Fonte: A autora.

O parâmetro de elasticidade foi usado para compreender o quão bem o queijo retornava à sua capacidade física original durante a primeira compressão. Enquanto a coesão significa o quão bem a resistência do queijo a uma segunda deformação se compara à resistência durante a primeira deformação (Wee *et al.*, 2018). No entanto, os queijos com ou sem extrato não mostraram diferenças ($P > 0,05$) nos parâmetros de elasticidade e coesão nos dias 1, 7 e 20. Apenas no dia 14, o queijo com 0,75% de sal e 7% de extrato (Q3) mostrou uma diferença ($P < 0,05$) nos parâmetros de elasticidade e coesão, com 0,23 e 0,25, respectivamente. Provavelmente, a diminuição da elasticidade e coesão durante o período de armazenamento pode ser explicada por (i) alteração da rede proteica; e (ii) diminuição do cálcio e aumento da proteólise favorecendo o aumento de pequenos peptídeos na fase de soro (Akan; Kinik, 2018; Giroux *et al.* 2013). Resultados semelhantes foram relatados por Giroux *et al.* (2013), que observaram uma diminuição na coesão e elasticidade em queijo do tipo Cheddar contendo extrato de chá verde.

O parâmetro de gomosidade significa a quantidade de força e trabalho necessários para comprimir o alimento (Wee *et al.* 2018). O queijo de controle (QC) mostrou uma diminuição na gomosidade ($P > 0,05$) no final do período de estocagem, e isso provavelmente estava associado à proteólise durante o período de armazenamento (Loudiyi; Ait-Kaddour, 2019). O parâmetro de mastigabilidade significa quanta força, trabalho e distância são necessários para comprimir o alimento (Wee *et al.*, 2018). O Q1 e Q3 mostraram valores maiores de mastigabilidade ($P > 0,05$) e tiveram os valores mais altos entre os tratamentos durante o período de estocagem. Em geral, os valores de gomosidade e mastigabilidade estão relacionados à dureza, e ocorrem porque uma maior dureza indica que o queijo possui uma estrutura interna densa, resultando em aumento da gomosidade e mastigabilidade (Moreira *et al.* 2021; Nateghi *et al.*, 2012).

O parâmetro de resiliência significa a capacidade de um produto de retornar à sua altura original (Wee *et al.*, 2018). Ao longo do período de estocagem, QC, Q1, Q2 e Q3 mostraram valores constantes de resiliência. Apenas no dia 14 do período de estocagem o Q3 mostrou uma resiliência maior ($P < 0,05$), mas ainda com valor próximo aos outros tratamentos, e isso provavelmente pode ter sido influenciado pela alteração na rede de proteínas (Jingkai *et al.*, 2020). O queijo ricota enriquecido com extrato de broto de brócolis livre e nanoencapsulado mostrou um valor de resiliência variando de 0,07 a 0,08, um valor próximo ao observado no presente estudo (Azarashkan *et al.*, 2022).

4.8 Análise microbiológica *in situ*

As contagens de microrganismos mesófilos e psicotróficos no queijo Minas frescal são demonstrados na tabela 9. As BAL não apresentaram crescimento no leite e também em nenhum dia do período de estocagem dos queijos. No primeiro dia de estocagem, as contagens de mesófilos permaneceram acima de 5 log UFC/g em todos os tratamentos ($P > 0,05$). No entanto, a partir do sétimo dia do período de estocagem foi possível observar uma diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos com e sem extrato. A adição de 7% de extrato nas amostras com 1,5% (Q1) e 0,75% (Q3) de NaCl, respectivamente, resultou em uma significativa redução nas contagens de mesófilos a partir do sétimo dia de armazenamento ($P < 0,05$), até o último dia do período de armazenamento. Portanto, independentemente da concentração de sal adicionado durante a fabricação dos queijos, a adição do extrato teve atividade antimicrobiana potencial contra as bactérias mesofílicas, indo de 5 log UFC/g para os queijos sem extrato (QC e Q2), para aproximadamente 4 log UFC/g para os queijos com adição de extrato (Q1 e Q3). No 20º dia do período de estocagem, houve uma redução de 1,46 log UFC/g (Q1) e 1,71 log UFC/g (Q3) em comparação com o queijo de controle.

Tabela 9 - Contagem (log UFC/g) de bactérias mesofílicas e psicotróficas em queijo Minas frescal durante o período de estocagem de 20 dias armazenado a 4°C

MOS	Tratamento	Período de estocagem (Dias)			
		1	7	14	20
Mesofílicos	QC	5.39 ± 0.30 ^{Ab}	6.76 ± 0.03 ^{Aa}	6.03 ± 0.02 ^{Ab}	5.64 ± 0.16 ^{Ab}
	Q1	5.00 ± 0.01 ^{Aa}	5.10 ± 0.02 ^{Ba}	4.18 ± 0.15 ^{Cb}	4.18 ± 0.10 ^{Bb}
	Q2	5.09 ± 0.12 ^{Ab}	6.69 ± 0.39 ^{Aa}	5.76 ± 0.41 ^{ABab}	5.56 ± 0.17 ^{Aab}
	Q3	5.33 ± 0.46 ^{Aa}	5.00 ± 0.01 ^{Bab}	4.97 ± 0.02 ^{BCab}	3.93 ± 0.36 ^{Bb}
Psicotróficos	QC	<10	4.48 ± 0.01 ^c	5.42 ± 0.14 ^{Ab}	6.86 ± 0.04 ^{Aa}
	Q1	<10	<10	5.52 ± 0.41 ^{Aa}	4.78 ± 0.06 ^{Ca}
	Q2	<10	<10	5.29 ± 0.02 ^{Ab}	5.95 ± 0.01 ^{Ba}
	Q3	<10	<10	3.79 ± 0.07 ^{Ba}	3.85 ± 0.06 ^{Da}

QC: queijo controle com 1,5% de NaCl, sem extrato; Q1: queijo com 1,5% de NaCl com 7% de extrato; Q2: queijo com 0,75% de NaCl sem extrato; Q3: queijo com 0,75% de NaCl com 7% de extrato. MOS: microrganismos. Os resultados estão expressos em médias ± DP (desvio-padrão), com o teste de Tukey a um nível de significância de 0,05. Letras maiúsculas comparam os diferentes tratamentos em cada coluna. Enquanto as letras minúsculas comparam o mesmo tratamento ao longo do período de armazenamento.

Fonte: A autora.

As contagens das bactérias psicotróficas foram detectadas como <10 log UFC/g no primeiro dia para todos os tratamentos, e no sétimo dia de armazenamento, apenas o queijo de controle (QC) demonstrou crescimento bacteriano (4,48 log UFC/g). No 14º dia de estocagem,

os tratamentos (QC, Q1 e Q2) apresentaram 5,42, 5,52 e 5,29 log UFC/g, respectivamente, sem diferença significativa ($P > 0,05$) entre os diferentes tratamentos. Enquanto o Q3 teve a contagem de 3,8 log UFC/g, sendo significativamente ($P < 0,05$) menor em comparação com os demais tratamentos.

Em relação ao crescimento de psicotróficos foi detectável a partir do 7º dia do período de estocagem e isso pode ser compreendido pela necessidade de uma fase de latência (fase lag) que muitas vezes é necessária antes do início da multiplicação ativa das bactérias (Mahajan; Bhat; Kumar, 2017). Portanto, é possível observar o efeito antimicrobiano do extrato do mesocarpo de babaçu para melhorar a qualidade microbiológica até o último dia do período de estocagem. Como observado em nosso estudo anterior, o extrato de babaçu emerge como uma aplicação importante em alimentos devido à atividade antimicrobiana *in vitro* observada contra *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 e *Escherichia coli* ATCC 25922, ambas bactérias Gram-negativas (Lima *et al.*, 2023). A atividade antimicrobiana provavelmente está associada a compostos bioativos, como polifenóis e flavonoides, podendo atuar de diferentes maneiras, conforme sugerido por diversos estudos: danificando a parede celular (Lima *et al.*, 2023), induzindo danos oxidativos ao DNA (Nakamura *et al.*, 2015), inibindo a síntese de ácidos nucleicos (Xie *et al.*, 2015), entre outros.

Alguns estudos têm relatado o efeito antimicrobiano de compostos bioativos extraídos de produtos naturais e aplicados ao queijo de diferentes formas (por exemplo, óleo essencial, nanoemulsão e extrato). O óleo essencial de orégano foi usado como aditivo natural no queijo Minas frescal e mostrou atividade antimicrobiana contra *E. coli* e *Staphylococcus aureus*, inibindo o crescimento ao longo dos 30 dias de maturação (De Campos *et al.*, 2022). El-Sayed; El-Sayed (2021) avaliaram queijo branco macio usando soluções nanoemulsionadas contendo óleo essencial de cominho (OEC) e observaram no 60º dia de estocagem uma contagem de mesófilos de 3,35 log UFC/g no queijo feito com 1% de OEC, enquanto o queijo feito sem OEC mostrou 5,00 log UFC/g, apresentando uma redução de 1,65 log UFC/g. O queijo branco macio contendo extrato aquoso de casca de romã mostrou forte atividade antimicrobiana com capacidade de retardar o crescimento de mesófilos e psicotróficos durante 4 semanas de armazenamento (Al-Moghazy *et al.*, 2023).

5 CONCLUSÃO

A extração *eco-friendly* aplicada no mesocarpo de coco babaçu resultou na recuperação significativa de compostos bioativos, como compostos fenólicos e flavonoides, com potencial benefício para a saúde humana. Esses compostos mostraram teores mais elevados do que os encontrados em fontes alimentares comuns de polifenóis. Além disso, os extratos apresentaram fortes propriedades antioxidantes, incluindo a capacidade de reduzir o ferro e eliminar radicais livres. E, embora os extratos não tenham atingido os padrões de antibióticos em termos de inibição de crescimento bacteriano, foi possível observar um potencial antimicrobiano contra bactérias Gram-negativas patogênicas, como *E. coli* e *Salmonella*, que podem contaminar os alimentos e causar surtos e/ou doenças no consumidor.

Os resultados mostraram que queijos elaborados apenas com adição de NaCl nas concentrações de 0,75 e 1,5% (m/m), não foram capazes de melhorar a qualidade microbiológica. No entanto, a adição do extrato de mesocarpo de babaçu na razão mesocarpo:etanol 1:25 (m/v) no queijo Minas frescal reduzido de cloreto de sódio (NaCl) demonstrou capacidade antimicrobiana durante o período de estocagem de 20 dias, capaz de reduzir a contagem de microrganismos mesófilos e psicotróficos. Além disso, a adição de 7% (v/m) do extrato do mesocarpo do coco babaçu no queijo aumentou os parâmetros a^* e b^* , e isso pode gerar um impacto negativo a percepção do público consumidor, pois um dos fatores que induzem o fator de compra do queijo Minas frescal é a coloração.

Portanto, este trabalho traz alternativas ao Termo de Compromisso estabelecido pela ANVISA quanto à elaboração de produtos processados reduzidos de sódio. Pois, com a adição de extrato do mesocarpo do coco babaçu foi possível elaborar um produto com controle de microrganismos durante o período de estocagem, e isso pode minimizar impactos negativos na saúde da população brasileira. Ademais, o extrato do mesocarpo do coco babaçu abre a fronteira do conhecimento e não deve se limitar apenas à aplicação na matriz láctea de queijos, podendo ser utilizado na indústria química, farmacêutica e alimentícia.

REFERÊNCIAS

- AGREGÁN, Rubén *et al.* Recent advances in the extraction of polyphenols from eggplant and their application in foods. **LWT**, v. 146, p. 111381, 2021.
- AKAN, Ecem; KINIK, Ozer. Effect of mineral salt replacement on properties of Turkish White cheese. **Mljekarstvo: Časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka**, v. 68, n. 1, p. 46-56, 2018.
- ALI REDHA. Ali. Review on extraction of phenolic compounds from natural sources using green deep eutectic solvents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 3, p. 878-912, 2021.
- AL MAMARI, Hamad H. Phenolic compounds: Classification, chemistry, and updated techniques of analysis and synthesis. **Phenolic Compounds: Chemistry, Synthesis, Diversity, Non-Conventional Industrial, Pharmaceutical and Therapeutic Applications**, p. 73-94, 2021.
- AL-MOGHAZY, Marwa *et al.* Antimicrobial-prebiotic: Novel dual approach of pomegranate peel extract in vitro and in food system. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 49, p. 102664, 2023.
- ALTEMIMI. Ammar *et al.* Phytochemicals: Extraction. isolation. and identification of bioactive compounds from plant extracts. **Plants**, v. 6, n. 4, p. 42, 2017.
- AMMAR, Achraf *et al.* Pomegranate supplementation accelerates recovery of muscle damage and soreness and inflammatory markers after a weightlifting training session. **PLOS one**, v. 11, n. 10, p. e0160305, 2016.
- ANDREOTTI. Carlo; COSTA. Guglielmo; TREUTTER. Dieter. Composition of phenolic compounds in pear leaves as affected by genetics. ontogenesis and the environment. **Scientia horticulturae**, v. 109, n. 2, p. 130-137, 2006.
- ANVISA. **Programas de Monitoramento dos Teores de Sódio e Açúcares em Alimentos Industrializados**. Brasília, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/fiscalizacao-e-monitoramento/programas-nacionais-de-monitoramento-de-alimentos/teores-de-sodio-e-acucares-em-alimentos-industrializados>. Acesso em: 05 jul. 2023.
- ARARUNA, Felipe Bastos *et al.* Green syntheses of silver nanoparticles using babassu mesocarp starch (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) and their antimicrobial applications. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 13, p. 100281, 2020.
- ARAÚJO, Elza Maria Moraes de *et al.* Ativação in vitro do sistema complemento como mecanismo imunomodulador induzido pelo mesocarpo de babaçu. **Revista de Ciências da Saúde**, v. 15, p. 05-10, 2013.
- ARBOATTI, Ainelén S. *et al.* The influence of sodium chloride reduction on physicochemical, biochemical, rheological and sensory characteristics of Mozzarella cheese. **Dairy Science & Technology**, v. 94, p. 373-386, 2014.

ABURTO, Nancy J. *et al.* Effect of lower sodium intake on health: systematic review and meta-analyses. **Bmj**, v. 346, p. f1326, 2013.

AWAD, Alzaidi Mohammed *et al.* Green extraction of bioactive compounds from plant biomass and their application in meat as natural antioxidant. **Antioxidants**, v. 10, n. 9, p. 1465, 2021.

AZARASHKAN, Zahra *et al.* Investigation of the physicochemical, antioxidant, rheological, and sensory properties of ricotta cheese enriched with free and nano-encapsulated broccoli sprout extract. **Food Science & Nutrition**, v. 10, n. 11, p. 4059-4072, 2022.

BANSAL, Venus; MISHRA, Santosh Kumar. Reduced-sodium cheeses: Implications of reducing sodium chloride on cheese quality and safety. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 19. n. 2. p. 733-758. 2020.

BARLOW, Linda A. Progress and renewal in gustation: new insights into taste bud development. **Development**, v. 142. n. 21. p. 3620-3629. 2015.

BARROQUEIRO, Elizabeth S.B. *et al.* Immunomodulatory and antimicrobial activity of babassu mesocarp improves the survival in lethal sepsis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, 2016.

BASSI, Daniela *et al.* Lactic acid bacteria adjunct cultures exert a mitigation effect against spoilage microbiota in fresh cheese. **Microorganisms**, v. 8, n. 8, p. 1199, 2020.

BASTOS ARARUNA, Felipe *et al.* Green syntheses of silver nanoparticles using babassu mesocarp starch (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) and their antimicrobial applications. **Environmental Nanotechnology. Monitoring & Management**, v. 13, p. 100281, 2020.

BAULAND, J. *et al.* Addition of calcium and magnesium chlorides as simple means of varying bound and precipitated minerals in casein micelle: Effect on enzymatic coagulation. **Journal of dairy science**, v. 103, n. 11, p. 9923-9935, 2020.

BENINCÁ, T. *et al.* Análise das boas práticas de fabricação na qualidade microbiológica de queijo colonial artesanal. *In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR*, 7., 2020. Bento Gonçalves.

BENZIE, Iris F. F.; STRAIN, John J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BI, Yongguang *et al.* Optimization of ultrasonic-assisted extraction of bioactive compounds from *Sargassum henslowianum* using response surface methodology. **Pharmacognosy Magazine**, v. 15, n. 60, 2019.

BOAS, Andressa Facci Villas *et al.* Qualidade microbiológica de queijos minas frescal artesanais e industrializados. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 83536-83552, 2020.

BORGES, Anabela; SAAVEDRA, Maria J.; SIMÕES, Manuel. Insights on antimicrobial resistance. biofilms and the use of phytochemicals as new antimicrobial agents. **Current medicinal chemistry**, v. 22, n. 21, p. 2590-2614, 2015.

BRAND-WILLIAMS, Wendy; CUVELIER, Marie-Elisabeth; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 352. de 4 de setembro de 1997. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. 8 set. 1997. Disponível em:
<https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=08/09/1997&jornal=1&pagina=36&totalArquivos=1>. Acesso em: 12 set. de 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº4. de 1 de março de 2004. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília. DF. 5 mar. 2004. Disponível em:
<https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=05/03/2004&jornal=1&pagina=5&totalArquivos=120>. Acesso em: 12 set. de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 23. de 24 de abril de 2013. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília. DF. 25 abr. 2013. Disponível em:
<https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MjI1NQ%2C%2C>. Acesso em: 27 set. de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 604. de 16 de fevereiro de 2022. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília. DF. 2 mar. 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-604-de-16-de-fevereiro-de-2022-380753427>. Acesso em: 26 set. de 2023.

BURLANDO, Bruno; CORNARA, Laura. Revisiting Amazonian plants for skin care and disease. **Cosmetics**, v. 4, n. 3, p. 25, 2017.

BUSNELLO, Sabrina Rotger. **Aspectos da qualidade do leite e produção do queijo minas frescal**. 2008. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Centro das Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, 2008.

CÂNDIDO, Thalita Lin Netto; SILVA, Mara Reis; AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* Lf) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food Chemistry**, v. 177, p. 313-319, 2015.

CARDOSO VIEIRA, Matheus *et al.* Babassu Mesocarp Flour: A Nutritive Brazilian By-product for Gluten-free Muffins. **Journal of Culinary Science & Technology**, v. 21, n. 4, p. 517-532, 2023.

CARRAZZA, Luis Roberto; SILVA, Mariane Lima da; ÁVILA, João Carlos Cruz. **Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto do Babaçu**. Brasília - DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN). Brasil, 2012.

- CARVALHO, Anna Paula Azevedo de; CONTE-JUNIOR, Carlos Adam. Health benefits of phytochemicals from Brazilian native foods and plants: Antioxidant, antimicrobial, anti-cancer, and risk factors of metabolic/endocrine disorders control. **Trends in Food Science & Technology**, v. 111, p. 534-548, 2021.
- CASSIANA FROHLICH. Paula *et al.* Evaluation of the ethanolic ultrasound-assisted extraction from clove (*Syzygium aromaticum*) leaves and chemical characterization of the extracts. **Food Chemistry**, v. 373, p. 131351, 2022.
- CASTANHEIRA, Ana Carolina Guimarães. **Manual básico de controle de qualidade de leites e derivados**. 2. ed. São Paulo: Cap-Lab. 2012.
- CAVALLARI, Marcelo Mattos; TOLEDO, Marcos Miranda. What is the name of the babassu? A note on the confusing use of scientific names for this important palm tree. **Rodriguésia**, v. 67, p. 533-538, 2016.
- CAVALCANTE NETO, Adeval Alexandre. **Desenvolvimento de massa alimentícia mista de farinhas de trigo e mesocarpo de babaçu (*Orbignya sp.*)**. 2012. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2012.
- CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **High Blood Pressure**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/bloodpressure/about.htm>. Acesso em: 18 set. de 2023.
- CHANG, Hui *et al.* Dietary flavonoids and the risk of colorectal cancer: An updated meta-analysis of epidemiological studies. **Nutrients**, v. 10, n. 7, p. 950, 2018.
- CHEN. Juan *et al.* Physicochemical property, bacterial diversity, and volatile profile during ripening of naturally fermented dry mutton sausage produced from Jianzhou big-eared goat. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 961117, 2022.
- CONAB- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Boletim da Sociobiodiversidade**, Brasília, DF, v. 5, n. 5, Outubro 2021.
- CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**. 13th edition. 2018. (No. M02). p. 1-92. Disponível em: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m02/>.
- D'ALESSANDRO. Leandro Galvan *et al.* Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. **Separation and purification technology**, v. 93, p. 42-47, 2012.
- DAGOSTIN, João Luiz Andreotti; CARPINE, Danielle; MASSON, Maria Lucia. Influence of acidification method on composition, texture, psychrotrophs, and lactic acid bacteria in Minas Frescal cheese. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p. 3017-3028, 2013.
- DANTAS. Aline B. *et al.* Manufacture of probiotic Minas Frescal cheese with *Lactobacillus casei* Zhang. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 1, p. 18-30, 2016.

DA PAIXÃO TEIXEIRA, José Luan *et al.* Bioavailability evaluation of calcium, magnesium and zinc in Brazilian cheese through a combined model of in vitro digestion and Caco-2 cells. **Journal of food composition and analysis**, v. 107, p. 104365, 2022.

DA SILVA, D. C. *et al.* Physical properties of films based on pectin and babassu coconut mesocarp. **International journal of biological macromolecules**, v. 130, p. 419-428, 2019.

DA SILVA DANNENBERG, Guilherme *et al.* Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from pink pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) in vitro and in cheese experimentally contaminated with *Listeria monocytogenes*. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 36, p. 120-127, 2016.

DENG, Jing; CHENG, Wangyuan; YANG, Guangzhong. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1430-1435, 2011.

DE ANTÔNIO, Marina Barroso; BORELLI, Beatriz. A importância das bactérias lácticas na segurança e qualidade dos queijos Minas artesanais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 75, n. 3, p. 204-221, 2020.

DE CAMPOS, Anna Carolina Leonelli Pires *et al.* Antimicrobial effect of *Origanum vulgare* (L.) essential oil as an alternative for conventional additives in the Minas cheese manufacture. **LWT**, v. 157, p. 113063, 2022.

DE MEDEIROS-COSTA, J. T. **Estágio atual da taxonomia dos gêneros e espécies da unidade Attalea (Palmae), no Brasil**. Teresina: EMBRAPA-UEPAE de Teresina, 1984. (EMBRAPA-UEPAE de Teresina. Documentos, 4).

DE PAULA, A. C. L. *et al.* Microbiome of industrialized Minas Frescal Cheese reveals high prevalence of putative bacteria: A concern in the One Health context. **LWT**, v. 139, p. 110791, 2021.

DIEZHANDINO, I. *et al.* Rheological, textural, colour and sensory characteristics of a Spanish blue cheese (Valdeón cheese). **LWT-Food Science and Technology**, v. 65, p. 1118-1125, 2016.

DO ROSÁRIO, Marcelino Santos *et al.* Estudo de estabilidade de emulsão cosmética com potencial de creme hidratante para o tratamento da xerose cutânea utilizando o óleo de babaçu (*Orbignya phalerata martius*). **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 29552-29570, 2021.

DUGAT-BONY, Eric *et al.* The effect of reduced sodium chloride content on the microbiological and biochemical properties of a soft surface-ripened cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 4, p. 2502-2511, 2016.

DUGAT-BONY, Eric *et al.* Effect of sodium chloride reduction or partial substitution with potassium chloride on the microbiological, biochemical and sensory characteristics of semi-hard and soft cheeses. **Food Research International**, v. 125, p. 108643, 2019.

DUTRA SANTOS, Aylpy Renan *et al.* The physiological response, feeding behaviour and water intake of goat kids fed diets with increasing levels of babassu mesocarp flour. **Biological Rhythm Research**, v. 53, n. 3, p. 369-381, 2022.

EL-SAYED, Hoda S.; EL-SAYED, Samah M. A modern trend to preserve white soft cheese using nano-emulsified solutions containing cumin essential oil. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 16, p. 100499, 2021.

FDA. Food and Drug Administration. Draft Guidance for Industry: Target Mean and Upper Bound Concentrations for Sodium in Commercially Processed, Packaged, and Prepared Foods for Voluntary Sodium Reduction Goals,” no. October: 1–23. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-voluntary-sodium-reduction-goals>. Acesso em: 27 set. De 2023.

FERNANDES, Regiane Victória de Barros *et al.* Microencapsulated rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil as a biopreservative in Minas Frescal cheese. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 1, p. e12759, 2017.

FERNANDES, Diogo M. *et al.* Polymeric membrane based on polyactic acid and babassu oil for wound healing. **Materials Today Communications**, v. 26, p. 102173, 2021.

FRITZEN-FREIRE, C. B. *et al.* The influence of Bifidobacterium Bb-12 and lactic acid incorporation on the properties of Minas Frescal cheese. **Journal of Food Engineering**, v. 96, n. 4, p. 621-627, 2010.

FRONZA, Pâmella *et al.* Microencapsulation of hydrosoluble extract of babassu nut press cake. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 5sup11, p. 2117-2128, 2020.

FOROUTAN, Aidin *et al.* Chemical composition of commercial cow’s milk. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 67, n. 17, p. 4897-4914, 2019.

FU, Xizhe *et al.* Natural deep eutectic solvent enhanced pulse-ultrasonication assisted extraction as a multi-stability protective and efficient green strategy to extract anthocyanin from blueberry pomace. **LWT**, v. 144, p. 111220, 2021.

FURTADO, Danielle N. *et al.* Bacteriocinogenic *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* DF04Mi isolated from goat milk: Application in the control of *Listeria monocytogenes* in fresh Minas-type goat cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, p. 201-206, 2015.

FUTURE MARKET INSIGHTS. Babassu Oil Market Outlook. Disponível em: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/babassu-oil-market>. Acesso em: 10 ago. 2023.

GARCIA-CASTELLO, Esperanza M. *et al.* Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of flavonoids from grapefruit (*Citrus paradisi* L.) solid wastes. **LWT-Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 1114-1122, 2015.

GARCÍA-PÉREZ, F. J. *et al.* Effect of orange fiber addition on yogurt color during fermentation and cold storage. Color Research & Application: Endorsed by Inter-Society Color Council, The Colour Group (Great Britain), Canadian Society for Color, Color Science Association of Japan, Dutch Society for the Study of Color, The Swedish Colour Centre

Foundation, Colour Society of Australia, **Centre Français de la Couleur**, v. 30, n. 6, p. 457-463, 2005.

GAYGADZHIEV, Zafir *et al.* Addition of sodium caseinate to skim milk inhibits rennet-induced aggregation of casein micelles. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 2, p. 405-411, 2012.

GIROUX, Hélène J. *et al.* Production and characterization of Cheddar-type cheese enriched with green tea extract. **Dairy Science & Technology**, v. 93, p. 241-254, 2013.

GUSSO, Ana Paula *et al.* Comparação de diferentes métodos analíticos para quantificação de lipídios em creme de ricota. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 389, p. 51-55, 2012.

GUTIÉRREZ-GRIJALVA, Erick *et al.* Bioavailability of dietary phenolic compounds. **Revista española de nutrición humana y dietética**, v. 20, n. 2, p. 140-147, 2016.

HORIKAWA, Chika *et al.* Dietary sodium intake and incidence of diabetes complications in Japanese patients with type 2 diabetes: analysis of the Japan Diabetes Complications Study (JDCS). **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 99, n. 10, p. 3635-3643, 2014.

HUPPERTZ, Thom; LAMBERS, Tim T. Influence of micellar calcium phosphate on in vitro gastric coagulation and digestion of milk proteins in infant formula model systems. **International Dairy Journal**, v. 107, p. 104717, 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento, Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-2018. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/46/0>. Acesso em: 31 out. de 2023.

JINGKAI, Jiao *et al.* Dynamic changes of microbiota and texture properties during the ripening of traditionally prepared cheese of China. **Archives of Microbiology**, v. 202, n. 8, p. 2059-2069, 2020.

JURASCHEK, Stephen P. *et al.* Effects of diet and sodium reduction on cardiac injury, strain, and inflammation: the DASH-sodium trial. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 77, n. 21, p. 2625-2634, 2021.

KARADAG, Ayse; OZCELIK, Beraat; SANER, Samim. Review of methods to determine antioxidant capacities. **Food analytical methods**, v. 2, p. 41-60, 2009.

KLENOW, Stefanie; MENSINK, Gert BM. Sodium intake in Germany. **Journal of Health Monitoring**, v. 1, n. 2, p. 29, 2016.

KOUTINA, Glykeria *et al.* Influence of colloidal calcium phosphate level on the microstructure and rheological properties of rennet-induced skim milk gels. **LWT-Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 654-659, 2015.

KRAJEWSKA-KAMINSKA, E.; SMIETANA, Z.; BOHDZIEWICZ, Krzysztof. Production and characteristics of twarog cheeses containing strains of probiotic bacteria. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 57, n. 4 [B], 2007.

LE, Bei *et al.* Salt taste receptors and associated salty/salt taste-enhancing peptides: A comprehensive review of structure and function. **Trends in Food Science & Technology**, 2022.

LEE, Ki Won *et al.* Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 25, p. 7292-7295, 2003.

LI, Jian *et al.* Extraction and characterization of phenolic compounds with antioxidant and antimicrobial activities from pickled radish. **Food and Chemical Toxicology**, v. 136, p. 111050, 2020.

LIMA, Rayssa Cruz *et al.* Green ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds of babassu (*Attalea speciosa*) mesocarp: Effects of solid-liquid ratio extraction, antioxidant capacity, and antimicrobial activity. **Applied Food Research**, v. 3, n. 2, p. 100331, 2023.

LIMA, Rayssa S.; CARVALHO, Anna Paula Azevedo de; CONTE-JUNIOR, Carlos A. Health from Brazilian Amazon food wastes: Bioactive compounds, antioxidants, antimicrobials, and potentials against cancer and oral diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-23, 2022.

LOBO, Vijaya *et al.* Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy reviews**, v. 4, n. 8, p. 118, 2010.

LOUDIYI, M.; AÏT-KADDOUR, A. Evaluation of the effect of salts on chemical, structural, textural, sensory and heating properties of cheese: Contribution of conventional methods and spectral ones. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 59, n. 15, p. 2442-2457, 2019.

LUIZ, L. M. P. *et al.* Isolation and identification of lactic acid bacteria from Brazilian Minas artisanal cheese. **CyTA-Journal of Food**, v. 15, n. 1, p. 125-128, 2017.

MA, Yuan; HE, Feng J.; MACGREGOR, Graham A. High salt intake: independent risk factor for obesity?. **Hypertension**, v. 66, n. 4, p. 843-849, 2015.

MAEDA, Hiroshi A. Evolutionary diversification of primary metabolism and its contribution to plant chemical diversity. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 881, 2019.

MAGENIS, Renata Bongiolo *et al.* Rheological, physicochemical and authenticity assessment of Minas Frescal cheese. **Food Control**, v. 45, p. 22-28, 2014.

MAHAJAN, Deepak; BHAT, Z. F.; KUMAR, Sunil. Epigallocatechin-3-gallate: An efficient alternative to synthetic antioxidants and preservatives in cheese. **Nutrition & Food Science**, v. 47, n. 2, p. 191-203, 2017.

MANIGLIA, Bianca Chierogato; TAPIA-BLÁCIDO, Delia R. Isolation and characterization of starch from babassu mesocarp. **Food Hydrocolloids**, v. 55, p. 47-55, 2016.

MANIGLIA, Bianca C. *et al.* Bioactive films based on babassu mesocarp flour and starch. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 383-391, 2017.

MARGALHO, Larissa P. *et al.* Enterococcus spp. in Brazilian artisanal cheeses: Occurrence and assessment of phenotypic and safety properties of a large set of strains through the use of high throughput tools combined with multivariate statistics. **Food control**, v. 118, p. 107425, 2020.

MARIUTTI, Lilian RB; BRAGAGNOLO, Neura. Influence of salt on lipid oxidation in meat and seafood products: A review. **Food Research International**, v. 94, p. 90-100, 2017.

MARQUES, Kescyla Haycila da Silva Rocha *et al.* Influência do tratamento térmico no rendimento e composição físico-química de queijos frescais. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 19446-19460, 2020.

MARTÍNEZ-RAMOS, Tania *et al.* Effect of solvent composition and its interaction with ultrasonic energy on the ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Mango peels (*Mangifera indica* L.). **Food and Bioproducts Processing**, v. 122, p. 41-54, 2020.

MATUMOTO-PINTRO, Paula Toshimi *et al.* Effects of storage time and temperature on lipid oxidation of egg powders enriched with natural antioxidants. **Food chemistry**, v. 228, p. 463-468, 2017.

MEDINA-TORRES. Nelly *et al.* Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. **Agronomy**, v. 7, n. 3, p. 47, 2017.

MEI, Jun *et al.* Study of proteolysis, lipolysis, and volatile compounds of a Camembert-type cheese manufactured using a freeze-dried Tibetan kefir co-culture during ripening. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, p. 393-402, 2015.

MELO, Elaine *et al.* First study on the oxidative stability and elemental analysis of babassu (*Attalea speciosa*) edible oil produced in Brazil using a domestic extraction machine. **Molecules**, v. 24, n. 23, p. 4235, 2019.

MOREIRA. Rodrigo V. *et al.* Pequi (*Caryocar brasiliense*) waste extract as a synergistic agent in the microbial and physicochemical preservation of low-sodium raw goat cheese. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, p. 855115, 2022.

MOREIRA, Rodrigo V. *et al.* Synergistic effect of pequi waste extract, UV-C radiation and vacuum packaging on the quality characteristics of goat Minas Frescal cheese with sodium reduction. **LWT**, v. 147, p. 111523, 2021.

MOREIRA, Rodrigo V. *et al.* Antimicrobial activity of pequi (*Caryocar brasiliense*) waste extract on goat Minas Frescal cheese presenting sodium reduction. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 4, p. 2966-2972, 2019.

MUÑIZ-MÁRQUEZ. Diana B. *et al.* Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 20, n. 5, p. 1149-1154, 2013.

- NAKAMURA, Keisuke *et al.* Bactericidal activity and mechanism of photoirradiated polyphenols against Gram-positive and-negative bacteria. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 35, p. 7707-7713, 2015.
- NATEGHI, Leila *et al.* Optimization of textural properties and formulation of reduced fat Cheddar cheeses containing fat replacers. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 10, n. 2, p. 46-54, 2012.
- NIE, Jinggui *et al.* Optimization and kinetic modeling of ultrasonic-assisted extraction of fucoxanthin from edible brown algae *Sargassum fusiforme* using green solvents. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 77, p. 105671, 2021.
- NOBRE, Camila B. *et al.* Antioxidative effect and phytochemical profile of natural products from the fruits of “babaçu”(Orbignia speciosa) and “buriti”(Mauritia flexuosa). **Food and Chemical Toxicology**, v. 121, p. 423-429, 2018.
- OANCEA, Alexandra-Gabriela *et al.* Determination of optimum TBARS conditions for evaluation of cow and sheep milk oxidative stability. **Applied Sciences**, v. 12, n. 13, p. 6508, 2022.
- ON NUTRITION, EFSA Panel *et al.* Dietary reference values for sodium. **EFSA Journal**, v. 17, n. 9, 2019.
- OROIAN, Mircea; ESCRICHE, Isabel. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10-36, 2015.
- PACHECO BORGES, Larissa; ALVES AMORIM, Víctor. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia**, v. 11, n. 1, 2020.
- PAIXÃO, Louryval Coelho. Aplicações farmacêuticas e bioprodutos do Babaçu (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng): revisão. **Revista de Ciências da Saúde**, v. 21, n. 2, p. 35-44, 2021.
- PAPPA, Eleni C. *et al.* Assessment of the microbiological quality and biochemical parameters of traditional hard xinotyri cheese made from raw or pasteurized goat milk. **Fermentation**, v. 8, n. 1, p. 20, 2022.
- PARKIN, D. M. 7. Cancers attributable to dietary factors in the UK in 2010. **British Journal of Cancer**, v. 105, n. 2, p. S31-S33, 2011.
- PÉREZ-SOTO, Elizabeth *et al.* The addition of microencapsulated or nanoemulsified bioactive compounds influences the antioxidant and antimicrobial activities of a fresh cheese. **Molecules**, v. 26, n. 8, p. 2170, 2021.
- PETIT, Gaëlle *et al.* Salt intake from processed meat products: Benefits, risks and evolving practices. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 18, n. 5, p. 1453-1473, 2019.

- PLASKOVA, Anna; MLCEK, Jiri. New insights of the application of water or ethanol-water plant extract rich in active compounds in food. **Frontiers in Nutrition**, v. 10, p. 1118761, 2023.
- QIAN, Jing *et al.* The effect of ultrasonic intensity on physicochemical properties of Chinese fir. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 64, p. 104985, 2020.
- RAJURKAR. Nilima S.; HANDE. S. M. Estimation of phytochemical content and antioxidant activity of some selected traditional Indian medicinal plants. **Indian journal of pharmaceutical sciences**, v. 73, n. 2, p. 146, 2011.
- REIS, Mysrayn YFA *et al.* Anti-inflammatory activity of babassu oil and development of a microemulsion system for topical delivery. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, 2017.
- ROCHA. Ramon S. *et al.* Possibilities for using ohmic heating in Minas Frescal cheese production. **Food Research International**, v. 131, p. 109027, 2020.
- RUFINO. M. D. S. M. *et al.* **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Fortaleza, CE: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. (Comunicado Técnico, 125).
- RYBICKA, Iga; NUNES, Maria Leonor. Benefit and risk assessment of replacing of sodium chloride by other salt/substances in industrial seafood products. **EFSA Journal**, v. 20, p. e200420, 2022.
- SAKAI, Tadashi; SHIMIZU, Yukiko; KAWAHARA, Satoshi. Effect of NaCl on the lipid peroxidation-derived aldehyde, 4-hydroxy-2-nonenal, formation in boiled pork. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 70, n. 4, p. 815-820, 2006.
- SALVADOR, Daniel *et al.* Rennet-induced casein micelle aggregation models: A review. **Foods**, v. 11, n. 9, p. 1243, 2022.
- SANT'ANA. A. M. S. *et al.* Nutritional and sensory characteristics of Minas fresh cheese made with goat milk, cow milk, or a mixture of both. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 12, p. 7442-7453, 2013.
- SANTOS, José Alex A. *et al.* In vitro and in vivo wound healing and anti-inflammatory activities of Babassu Oil (*Attalea speciosa* Mart. Ex Spreng., Arecaceae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, 2020.
- SCHWENK, Robert W. *et al.* Fatty acid transport across the cell membrane: regulation by fatty acid transporters. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)**, v. 82, n. 4-6, p. 149-154, 2010.
- SHARAYEI, Parvin *et al.* Optimization of ultrasonic-assisted extraction of astaxanthin from green tiger (*Penaeus semisulcatus*) shrimp shell. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 76, p. 105666, 2021.

SHARMA, Sakshi *et al.* Withania somnifera fruit extract is effective in controlling microbial growth and lipid oxidation and improves the functional value of cheese. **Food Chemistry Advances**, v. 2, p. 100204, 2023.

SHEN, Dongyu *et al.* Reduction of sodium chloride: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 102, n. 10, p. 3931-3939, 2022.

SILVA, Mirian P. *et al.* Presence and growth prediction of Staphylococcus spp. and Staphylococcus aureus in Minas Frescal cheese, a soft fresh cheese produced in Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 12, p. 12312-12320, 2021.

SILVA, Thamiris Evangelista *et al.* Shelf life study of handmade and industrially processed Minas frescal cheese. **Nutrition & Food Science**, v. 49, n. 6, p. 1207-1218, 2019.

SINAGA, Hotnida; BANSAL, Nidhi; BHANDARI, Bhesh. Partial renneting of pasteurised bovine milk: Casein micelle size, heat and storage stability. **Food Research International**, v. 84, p. 52-60, 2016.

SINGLETON, Vernon L.; ORTHOFER, Rudolf; LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *In: Methods in enzymology*. Academic press. 1999. p. 152-178.

SINGLETON, Vernon L.; ROSSI, Joseph A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SOLER, Marcia Paisano; VITALI, Alfredo de Almeida; MUTO, Eric Fumhio. Babassu nut breaking technique. **Food Science and Technology**, v. 27, p. 717-722, 2007.

SOUSA, Adriana Dutra *et al.* Ultrasound-assisted and pressurized liquid extraction of phenolic compounds from Phyllanthus amarus and its composition evaluation by UPLC-QTOF. **Industrial Crops and Products**, v. 79, p. 91-103, 2016.

SIQUEIRA, Kennya; SCHETTINO, João Pedro Junqueira. **O consumo de queijos pelos brasileiros**. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1134802/1/Consumo-queijos.pdf>. Acesso em: 31 out. 2023.

TABET, Rachid *et al.* Effect of vegetable coagulant and lamb rennet on physicochemical composition, fatty acid profile and lipid quality indices of a traditional fresh cheese (Jben). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 47, p. 102609, 2023.

TEIXEIRA, Marcos Alexandre. Babassu: a new approach for an ancient Brazilian biomass. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n. 9, p. 857-864, 2008.

TIDONA, Flavio *et al.* The reduction of salt in different cheese categories: Recent advances and future challenges. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, p. 859694, 2022.

TIWARI, Brijesh K. Ultrasound: a clean, green extraction technology. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 100-109, 2015.

ULU, Hasret. Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products. **Meat science**, v. 67, n. 4, p. 683-687, 2004.

VIEIRA, Italo Rennan Sousa *et al.* Development and characterization of photoprotective nanoemulsions containing Babassu (*Orbignya phalerata* Mart.) lipophilic extract. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 59, p. e23011, 2023.

VINHA, Mariana Barboza *et al.* Fatores socioeconômicos da produção de queijo minas frescal em agroindústrias familiares de Viçosa, MG. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2023-2029, 2010.

WANG, Chi *et al.* Association of age of onset of hypertension with cardiovascular diseases and mortality. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 75, n. 23, p. 2921-2930, 2020.

WEE, May Sui Mei *et al.* Correlation of instrumental texture properties from textural profile analysis (TPA) with eating behaviours and macronutrient composition for a wide range of solid foods. **Food & function**, v. 9, n. 10, p. 5301-5312, 2018.

WHELTON, Paul K. *et al.* 2017.

ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 71, n. 19, p. e127-e248, 2018.

WOISKY, Ricardo G.; SALATINO, Antonio. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of apicultural research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* **Guideline**: Sodium intake for adults and children. 2012.

XIE, Yixi *et al.* Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. **Current medicinal chemistry**, v. 22, n. 1, p. 132-149, 2015.

YANG, Jing *et al.* Ultrasound-homogenization-assisted extraction of polyphenols from coconut mesocarp: Optimization study. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 78, p. 105739, 2021.

YANG, Yuzheng *et al.* Exploration of an ultrasonic pulse echo system for comparison of milks, creams, and their dilutions. **LWT**, v. 136, p. 110616, 2021.

YILMAZ, Yusuf *et al.* Antioxidant activity and phenolic content of seed, skin and pulp parts of 22 grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars (4 common and 18 registered or candidate for registration). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n. 6, p. 1682-1691, 2015.

YUSOFF, Ida Madiha *et al.* A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins, v. 157, p. 111268, 2022.

ANEXO A – REGISTRO DO PROJETO NO SISGEN



**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº AA37A5F

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **AA37A5F**
 Usuário: **Carlos Adam Conte Junior**
 CPF/CNPJ: **086.999.457-36**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Attalea speciosa

Título da Atividade: **CONSUMO DE SÓDIO E SAÚDE PÚBLICA: EXTRATO DE RESÍDUO DE COCO BABASSU COMO ANTIMICROBIANO NATURAL SUBSTITUTO DO NACL VISANDO A INIBIÇÃO DE MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS EM QUEIJO**

Equipe

Carlos Adam Conte Junior	UFF
Anna Paula Azevedo de Carvalho	Universidade Federal do Rio de Janeiro
Rayssa da Silva Cruz Lima	Fundação Oswaldo Cruz
Antônio Eugênio Castro Cardoso de Almeida	Fundação Oswaldo Cruz

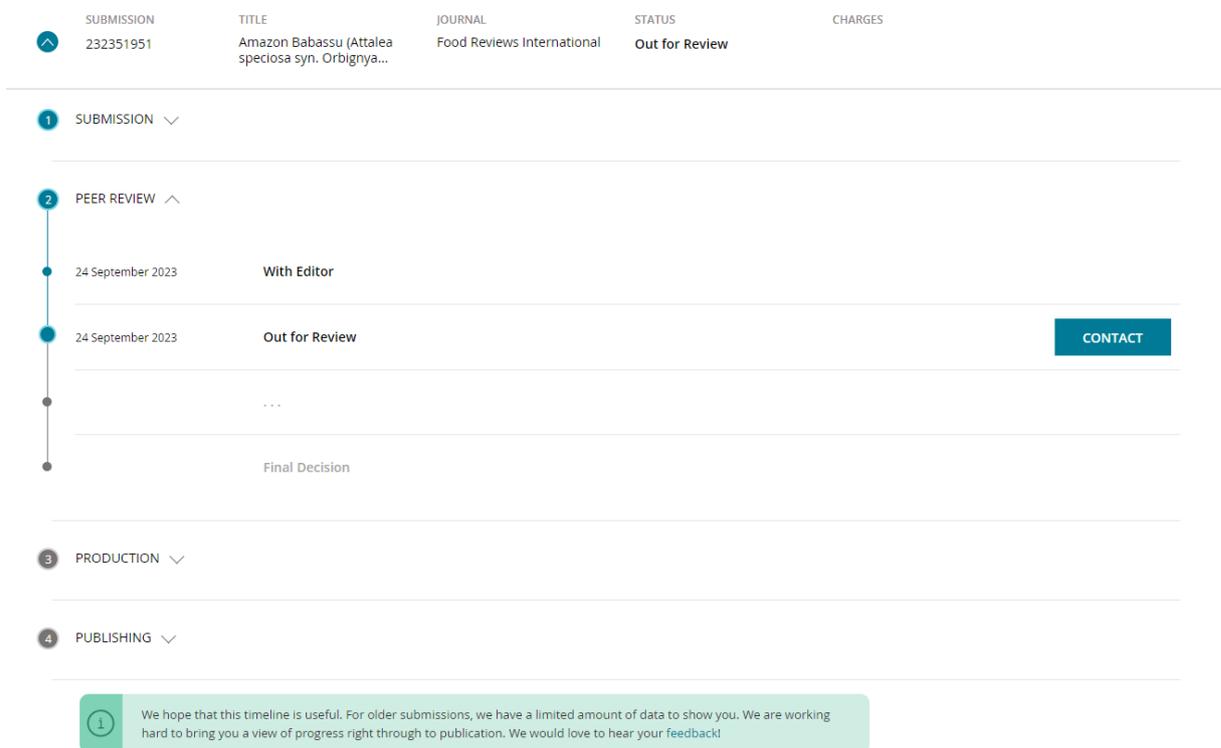
Resultados Obtidos

Divulgação de resultados em meios científicos ou de comunicação

APÊNDICE A – ARTIGO 1

Submissão do artigo de revisão intitulado “*Amazon Babassu (Attalea speciosa syn. Orbignya phalerata) and its coconut by-products bioactive compounds: health benefits, dietary supplements, and biotechnology potentials*” na revista “*Food Reviews International*” de fator de impacto 6,043.

Com a participação dos autores: Rayssa Cruz Lima, Anna Paula Azevedo de Carvalho, Antônio Eugênio Castro Cardoso de Almeida e Carlos Adam Conte-Junior.



APÊNDICE B – ARTIGO 2

Artigo experimental intitulado “*Green ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds of babassu (Attalea speciosa) mesocarp: Effects of solid-liquid ratio extraction, antioxidant capacity, and antimicrobial activity*” publicado na revista “*Applied Food Research*”.

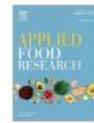
Com a participação dos autores: Rayssa Cruz Lima, Anna Paula Azevedo de Carvalho, Bruno Dutra da Silva, Luiz Torres Neto, Mayara Regina da Silva de Figueiredo, Pedro Henrique Thimotheu Chaves, Antônio Eugênio Castro Cardoso de Almeida, Carlos Adam Conte-Junior.

Doi: <https://doi.org/10.1016/j.afres.2023.100331>



Applied Food Research

Volume 3, Issue 2, December 2023, 100331



Green ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds of babassu (*Attalea speciosa*) mesocarp: Effects of solid-liquid ratio extraction, antioxidant capacity, and antimicrobial activity

[Rayssa Cruz Lima](#)^{a b c}, [Anna Paula Azevedo de Carvalho](#)^{a b c d e f g}  ,
[Bruno Dutra da Silva](#)^{c d h}, [Luiz Torres Neto](#)^{c d h}, [Mayara Regina da Silva de Figueiredo](#)^{b c},
[Pedro Henrique Thimotheu Chaves](#)^{b c}, [Antônio Eugênio Castro Cardoso de Almeida](#)^a,
[Carlos Adam Conte-Junior](#)^{a b c d e f g h}

Show more 

 Add to Mendeley  Share  Cite

<https://doi.org/10.1016/j.afres.2023.100331> 

[Get rights and content](#) 

Under a [Creative Commons license](#) 

 open access