

Betina Luiza Koop

INCORPORAÇÃO A VÁCUO DE CURCUMINA EM OSTRAS
(*Crassostrea gigas*)

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dr^a. Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz.

Coorientador: Dr. Lenilton Santos Soares.

Florianópolis/SC
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Koop, Betina Luiza

Incorporação a Vácuo de Curcumina em Ostras (*Crassostrea gigas*) / Betina Luiza Koop ; orientadora, Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz ; coorientador, Lenilton Santos Soares, Florianópolis, 2018.

94 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2018.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. ostras. 3. curcumina. 4. processo a vácuo. I. Fritz, Alcilene Rodrigues Monteiro. II. Soares, Lenilton Santos. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

**"INCORPORAÇÃO A VÁCUO DE CURCUMINA EM
OSTRAS (*Crassostrea gigas*)"**


Por

Betina Luiza Koop

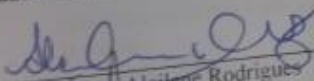
Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Alimentos**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos**, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

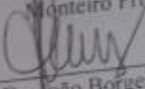

Profa. Dra. Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz
Orientadora

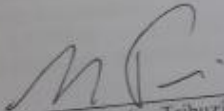

Dr. Lenilton Santos Soares
Coorientador


Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi
Coordenador

Banca Examinadora:


Profa. Dra. Alcilene Rodrigues
Monteiro Fritz


Prof. Dr. João Borges Laurindo


Prof. Dr. Giastino Tribuzi

Florianópolis, 12 de março de 2018.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida!

Aos meus pais, pelo amor e carinho incondicional, pela educação e apoio, por não medirem esforços para me ajudar em todos os momentos.

Aos meus irmãos, cunhado (a), pela nossa amizade, por todo apoio e companheirismo.

Ao meu namorado, Mateus Antonio Knapp, pela paciência, apoio e incentivo.

A toda minha família e amigos que sempre me dão forças para continuar.

Agradeço à minha orientadora Prof. Dra. Alcilene Rodrigues Monteiro, pela confiança e por todo apoio prestado.

Agradeço ao meu Coorientador Dr. Lenilton Santos Soares. pela confiança e apoio.

Agradeço aos colegas de laboratório (PROFI) e aos colegas da turma de mestrado, pela amizade, companheirismo e por toda ajuda.

Agradeço a Prof. Dra. Deise Helena Baggio Ribeiro, por todo apoio, paciência e ensinamentos. Agradeço a disponibilidade do laboratório de microbiologia de alimentos para realização dos experimentos.

À Fernanda, Mariana, Ana Flor, Helena e Mariele pela ajuda e ensinamentos compartilhados.

À Ana Paula, pelos ensinamentos e pelos momentos compartilhados no laboratório de microbiologia.

Agradeço à Universidade Federal de Santa Catarina, à CAPES e ao CNPq, pelo suporte financeiro e ensino de qualidade.

Agradeço aos laboratórios LABSEM e LATEC, pela disponibilidade dos equipamentos. Ao LMM pela doação das sementes de ostras.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos pelos ensinamentos.

A todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito da concentração de curcumina incorporada a vácuo nas características físico-químicas e microbiológicas de ostras (*Crassostrea gigas*). Ostras frescas foram limpas, cozidas por 15 min a 100 °C, resfriadas por 10 min a 4 °C e desconchadas. Em seguida foram imersas em uma solução curcumina-vinho branco tipo chardonnay (3,75% em álcool), com concentração inicial de 130 µg de curcumina/mL de solução para incorporação a vácuo (4°C), em diferentes pressões (30, 50, 100, 150 e 170 mbar) e tempos (3, 5, 10, 15 e 17 min). Utilizou-se o Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR) 2² com 4 pontos axiais e 4 repetições no ponto central para avaliar a influência da pressão e do tempo na concentração de curcumina incorporada em ostras. A variável tempo mostrou efeito positivo significativo (linear e quadrático) na concentração de curcumina incorporada, sem efeito da pressão. Entretanto, a curva de contorno mostrou uma tendência de aumento na concentração de curcumina incorporada em ostras nas maiores pressões e tempos de vácuo. Assim, as condições escolhidas para a etapa posterior de armazenamento foram pressão de 200 mbar e tempo de 20 min. Ostras cozidas foram imersas em solução curcumina-vinho branco tipo chardonnay (3,75% em álcool), submetidas a pressão de 200 mbar (vácuo) por 20 min (4 °C), dispostas em bandejas de poliestireno com absorvedor de umidade, revestidas de filme flexível multicamada, acondicionadas em ar sintético (20% O₂/80% N₂) e armazenadas a 4 °C por 14 dias. Durante o armazenamento, as ostras foram avaliadas quanto as características físico-químicas: pH, atividade de água, umidade, textura, e quanto aos aspectos microbiológicos para contagem de bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas totais, verificou-se também a concentração de curcumina durante o armazenamento e as bases voláteis totais. O pH das ostras diminuiu após a incorporação e durante o armazenamento, as bases voláteis mostraram-se de acordo com os padrões de frescor estabelecidos para pescados e moluscos pela legislação, corroborado pela concentração de curcumina (27,30 µg/g), que mostrou efeito positivo na inibição do crescimento de mesófilos e psicrotróficos totais no período analisado. A baixa contagem microbiológica indica o aumento no armazenamento de 7 dias (ostras sem curcumina) para 14 dias (ostras com curcumina), evidenciando-se o potencial da curcumina como agente antimicrobiano na conservação desse molusco.

Palavras-chave: ostras, curcumina, processo a vácuo.

ABSTRACT

In this work was studied the effects of the curcumin concentration on the physicochemical and microbiological characteristics of oysters (*Crassostrea gigas*) by vacuum infusion process. Fresh oysters were cleaned, cooked at 100 °C for 15 min, cooled at 4 °C for 10 min and removed from shells. After that the oysters were immersed in the solution curcumin-chardonnay white wine solution (3.75% of alcohol) with initial concentration of 130 µg of curcumin/mL solution, followed of the vacuum infusion at 4 °C, in different pressures (30, 50, 100, 150 and 170 mbar) and times (3, 5, 10, 15 and 17 min). A central composite rotational design (CCRD) 2² with 4 axial points and 4 repetitions at the central point was performed of oysters with curcumin was measured. Significant positive effect (linear and quadratic) of time on the concentration of curcumin incorporated was shown, not significant effect of the pressure was observed. However, a tendency to increase the concentration of curcumin incorporated in oysters in the higher-pressure range and longer vacuum times was observed through the contour curve. Thus, the conditions chosen for the subsequent storage step were pressure of 200 mbar and time of 20 min. Cooked oysters were immersed in curcumin-chardonnay white wine solution (3.75% alcohol) content initial concentration of 130 µg curcumin/mL solution. Vacuum curcumin infusion in oysters was performed at 200 mbar (vacuum) for 20 min, at 4 °C. Cooked oysters containing curcumin were placed in polystyrene package with moisture absorber, coated with flexible multilayer film, in synthetic air (20% O₂/80% N₂) and stored at 4 °C for 14 days. During storage, oysters were evaluated to pH, water activity, moisture, mass loss by exudation, texture, and microbiological count of total mesophilic and total psychrotrophic aerobic bacteria. The concentration of curcumin incorporated, and the total volatile bases were also analyzed. The pH of the oysters decreased after incorporation of the curcumin-solution and during storage. Volatile bases were in accordance with the freshness standards established for fish and molluscs by the Brazilian legislation, corroborated by the concentration of curcumin (27.30 µg/g), which showed a positive effect on the inhibition growth of total mesophilic and total psychrotrophic during storage period. Microbiological account indicated an increase of shelf life of oysters from 7 days (oysters without curcumin) to 14 days (oysters with curcumin), evidencing the potential of curcumin as an antimicrobial agent to mollusks conservation.

Keywords: oysters, curcumin, vacuum process.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 2.1 - Evolução da produção de ostras comercializadas por Santa Catarina entre 1991 e 2016..... | 23 |
| Figura 2.2 - Ostras <i>Crassostrea gigas</i> | 24 |
| Figura 2.3 - Ilustração Botânica da <i>Cúrcuma longa L.</i> | 27 |
| Figura 2.4 - Estrutura química dos curcuminóides..... | 28 |
| Figura 2.5 - Representação esquemática do processo de impregnação a vácuo..... | 33 |
| Figura 3.1 - Fluxograma do processo de incorporação a vácuo de curcumina em ostras..... | 46 |
| Figura 3.2 - Aparato experimental para incorporação a vácuo de curcumina em ostras..... | 47 |
| Figura 3.3 - Ostras após incorporação a vácuo de curcumina em diferentes soluções..... | 52 |
| Figura 3.4 - Efeito das variáveis tempo e pressão de vácuo na concentração de curcumina incorporada em ostras através da análise de Pareto..... | 54 |
| Figura 3.5 - Concentração de curcumina em ostras em função da pressão e do tempo de processo, curva de contorno..... | 55 |
| Figura 4.1 - Fluxograma do processo de incorporação a vácuo de curcumina em ostras..... | 66 |
| Figura 4.2 - Aparato experimental para incorporação a vácuo de curcumina em ostras..... | 67 |
| Figura 4.3 - pH das ostras sem curcumina (SC) e contendo curcumina (CC) durante 11 e 14 dias de armazenamento, respectivamente, a 4°C.. | 73 |
| Figura 4.4 - Perda de massa por exsudação de ostras SC e CC durante 18 dias de armazenamento (4 °C). | 74 |
| Figura 4.5 - Ostras SC e CC durante 18 dias de armazenamento a 4°C em embalagens não absorventes. | 76 |
| Figura 4.6 - Ostras SC e CC durante 7 e 14 dias de armazenamento, respectivamente, a 4°C em bandejas absorventes. | 76 |
| Figura 4.7 - Microestruturas de ostras com e sem incorporação de curcumina, com aumento (A) de 100 x e (B) de 300 x. | 78 |
| Figura 4.8 - Contagem microbiológica de bactérias mesófilas totais para ostras CC durante 17 dias de armazenamento a 4°C..... | 80 |
| Figura 4.9 - Contagem microbiológica de bactérias psicotróficas totais para ostras CC durante 17 dias de armazenamento a 4°C..... | 81 |

| | |
|--|----|
| Figura 4.10 - Contagem microbiológica de bactérias mesófilas totais para ostras SC e CC durante 10 e 14 dias de armazenamento, respectivamente, a 4°C. | 82 |
| Figura 4.11 - Aparência visual de ostras SC durante o armazenamento a 4 °C. | 83 |
| Figura 4.12 - Contagem microbiológica de bactérias psicrotróficas totais para ostras SC e CC durante 10 e 14 dias de armazenamento, respectivamente, a 4°C..... | 83 |
| Figura 4.13 - Evolução da composição de CO ₂ no <i>headspace</i> das embalagens contendo ostras SC e CC durante 10 e 14 dias de armazenamento, respectivamente, a 4°C. | 85 |
| Figura 4.14 - Evolução da composição de O ₂ no <i>headspace</i> das embalagens contendo ostras SC e CC durante 10 e 14 dias de armazenamento, respectivamente, a 4°C. | 85 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 3.1 - Matriz do planejamento experimental..... | 46 |
| Tabela 3.2 - Soluções testes para incorporação a vácuo de curcumina. | 48 |
| Tabela 3.3 - Parâmetros de cor para ostras com e sem (controle) incorporação a vácuo de curcumina em diferentes soluções..... | 52 |
| Tabela 3.4 - Matriz do planejamento experimental com as respostas em termos da concentração de curcumina incorporada..... | 53 |
| Tabela 3.5 - pH, a_w , umidade e CRA de ostras submetidas a incorporação a vácuo de curcumina..... | 57 |
| Tabela 3.6 - Propriedades mecânicas de dureza do corpo e músculo adutor de ostras após tratamento térmico e incorporação a vácuo de curcumina. | |
| Tabela 4.1 - Atividade de água e umidade das ostras CC e SC, durante o armazenamento a 4°C..... | 74 |
| Tabela 4.2 - Concentração de curcumina em ostras após incorporação a vácuo durante 14 dias de armazenamento a 4°C..... | 77 |
| Tabela 4.3 - Concentração de curcumina incorporada a vácuo em ostras..... | 79 |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO..... | 17 |
| 1.1 Objetivo Geral..... | 18 |
| 1.2 Objetivos Específicos..... | 18 |
| 1.3 Referências Bibliográficas..... | 19 |
| CAPÍTULO 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 22 |
| 2.1 Ostras (<i>Crassostrea gigas</i>)..... | 23 |
| 2.1.1 Microbiologia de Moluscos Bivalves..... | 25 |
| 2.2 Cúrcuma (<i>Cúrcuma longa</i> Linn)..... | 27 |
| 2.3 Incorporação de compostos bioativos..... | 30 |
| 2.3.1 Impregnação a vácuo..... | 32 |
| 2.4 Referências Bibliográficas..... | 34 |
| CAPÍTULO 3. ESTUDO DO PROCESSO DE INCORPORAÇÃO A VÁCUO DE CURCUMINA EM OSTRAS (<i>Crassostrea gigas</i>)..... | 43 |
| 3.1 Introdução..... | 44 |
| 3.2 Material e Métodos..... | 45 |
| 3.2.1 Matéria-Prima..... | 45 |
| 3.2.2 Processamento de ostras e incorporação a vácuo de curcumina.. | 45 |
| 3.2.3 Aparato experimental para incorporação a vácuo de curcumina.. | 46 |
| 3.2.4 Solução de curcumina..... | 47 |
| 3.2.4.1 Análise de cor..... | 48 |
| 3.2.5 Determinação da concentração de curcumina..... | 49 |
| 3.2.6 Caracterização físico-química das ostras após a incorporação de curcumina..... | 49 |
| 3.2.6.1 pH..... | 49 |
| 3.2.6.2 Atividade de água..... | 49 |
| 3.2.6.3 Umidade..... | 50 |
| 3.2.6.4 Capacidade de retenção de água (CRA)..... | 50 |
| 3.2.6.5 Análise do perfil de textura (TPA)..... | 50 |
| 3.3 Resultados e discussão..... | 51 |
| 3.3.1 Processo de incorporação da curcumina..... | 51 |
| 3.3.2 Determinação dos parâmetros do processo de incorporação a vácuo de curcumina em ostras..... | 52 |
| 3.3.3 Caracterização físico-química das ostras após a incorporação a vácuo de curcumina..... | 55 |
| 3.4 Conclusões..... | 58 |
| 3.5 Referências bibliográficas..... | 59 |
| CAPÍTULO 4 - INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE CURCUMINA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DE OSTRAS (<i>Crassostrea gigas</i>)..... | 62 |

| | | |
|--|--|-----------|
| 4.1 | Introdução..... | 64 |
| 4.2 | Material e Métodos..... | 65 |
| 4.2.1 | Matéria-Prima..... | 65 |
| 4.2.2 | Processamento de ostras e incorporação a vácuo de curcumina...65 | |
| 4.2.3 | Caracterização físico-química das ostras..... | 67 |
| 4.2.3.1 | pH..... | 67 |
| 4.2.3.2 | Atividade de água..... | 67 |
| 4.2.3.3 | Umidade..... | 68 |
| 4.2.3.4 | Capacidade de retenção de água (CRA)..... | 68 |
| 4.2.3.5 | Análise do perfil de textura (TPA)..... | 68 |
| 4.2.3.4 | Perda de massa por exsudação..... | 69 |
| 4.2.4 | Determinação da concentração de curcumina nas ostras..... | 69 |
| 4.2.5 | Caracterização microestrutural: microscopia eletrônica de varredura (MEV)..... | 69 |
| 4.2.6 | Avaliação microbiológica..... | 70 |
| 4.2.7 | Bases voláteis totais (Nitrogênio básico volátil)..... | 71 |
| 4.2.8 | Composição gasosa..... | 71 |
| 4.2.9 | Análise estatística..... | 72 |
| 4.3 | Resultados e Discussão..... | 72 |
| 4.3.1 | Caracterização físico-química das ostras..... | 72 |
| 4.3.2 | Concentração de curcumina incorporada em ostras..... | 77 |
| 4.3.3 | Caracterização microestrutural: microscopia eletrônica de varredura (MEV)..... | 77 |
| 4.3.4 | Avaliação microbiológica..... | 79 |
| 4.4 | Conclusões..... | 86 |
| 4.5 | Referências bibliográficas..... | 87 |
| CAPÍTULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | | 93 |
| 5.1 | Conclusões..... | 93 |
| 5.2 | Sugestões para trabalhos futuros..... | 93 |

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, o cultivo de moluscos bivalves (ostras e mexilhões), é predominante no estado de Santa Catarina, que lidera a produção nacional, detendo cerca de 98,1 % da produção nacional, devido às condições favoráveis ao cultivo, como as baías, enseadas e estuários protegidos pela sua geografia, além da qualidade da água nos pontos de produção (IBGE, 2015; SOUZA FILHO, 2003).

Ostras (*Crassostrea gigas*) são os moluscos bivalves mais cultivados em sistemas aquícolas ao redor do mundo devido ao seu potencial de crescimento rápido e a sua ampla tolerância a diferentes condições ambientais (FAO, 2010).

De uma maneira geral, as ostras possuem elevado valor nutritivo e podem ser consideradas fontes de proteínas de alto valor biológico, lipídeos benéficos à saúde incluindo o ômega-3, além de aminoácidos (arginina, cisteína e prolina), minerais (cálcio, ferro, zinco), bem como vitamina B₁₂, sendo uma boa fonte de nutrientes para a dieta humana. Pelo seu valor nutritivo, as ostras podem fazer parte de uma dieta saudável, desde que seja adequada a quantidade e a forma de preparo (DONG, 2009; USDA, 2016).

No entanto, ostras são organismos filtradores, altamente perecíveis, o que limita a comercialização global do produto (MORAES et al., 2000), sendo sua atividade microbiana o principal fator responsável pelas mudanças no sabor, textura e odor do alimento (CAO et al., 2009; PRAPAIWONG et al., 2009; MONTANHINI; NETO, 2015). Podem ser encontrados no mercado, produtos processados como, ostras enlatadas, congeladas e embaladas a vácuo, porém representam uma parcela reduzida do comércio deste molusco (FAO, 2010).

Neste contexto, é de extrema importância para o crescimento e ganho do mercado externo, o desenvolvimento de processos que propiciem a extensão da vida útil de produtos altamente perecíveis, e possam vir a garantir a segurança dos consumidores de ostras produzidas em Santa Catarina (MIOTTO, 2012).

Várias técnicas de processamento pós-colheita já foram utilizadas para prolongar a vida útil, e garantir a segurança no consumo de ostras, como processamento térmico, congelamento, irradiação, alta pressão hidrostática, atmosfera modificada e solubilização do CO₂ previamente ao uso de atmosfera modificada (LEKJING et al., 2017; BAKER, 2016; CRUZ-ROMERO et al., 2008; SOARES et al., 2015).

O uso de compostos naturais, para conservação e aumento da vida útil de alimentos, é um método promissor, devido à demanda dos

consumidores por alimentos com propriedades benéficas à saúde, a obtenção e aplicação de aditivos naturais confiáveis, com compostos polifenólicos, tais como extrato de uva, extrato erva-mate e curcumina, é de grande importância (KURT; ZORBA, 2005; GOKCE, 2011).

A curcumina é um composto fenólico obtido da cúrcuma, possui propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antiinflamatórias (AGGARWAL et al., 2007; AKPOLAT et al., 2010). O efeito antimicrobiano da curcumina é declarado eficaz tanto na medicina, para ferimentos, quanto em alimentos contra patógenos (*Vibrio parahaemolyticus*) (PATTARATANAWADEE et al., 2006; WANG et al., 2009). No entanto a utilização da curcumina é limitada pela baixa solubilidade em água, e degradação na presença de luz (SURESH et al., 2007).

Desta forma a incorporação da curcumina na estrutura porosa das ostras pode ser realizada através do processo de difusão a pressões ambientes, sendo necessário o uso de solventes para permitir sua solubilização e difusão no alimento. Entretanto, por se tratar de um mecanismo de transporte de massa lento, o processo a vácuo é uma alternativa para acelerar esse processo e facilitar a incorporação da curcumina.

A impregnação a vácuo é muito utilizada para desidratação osmótica de alimentos. Esse processo é acelerado devido a remoção do ar ocluso na matriz que favorece a remoção da água e a entrada da solução externa que possui o composto de interesse (LAURINDO et al., 2007).

O uso do vácuo para incorporação de curcumina em ostras parte do mesmo princípio, mas com o diferencial da necessidade da manutenção da umidade do produto.

A incorporação de compostos bioativos, com propriedades antioxidantes e antimicrobianas em ostras, busca o aumento da sua vida útil, e um novo produto.

1.1 Objetivo Geral

Estudar os efeitos da incorporação a vácuo de curcumina em ostras na redução do crescimento microbiano do produto.

1.2 Objetivos Específicos

- a. Definir a solução para incorporação de curcumina.

- b. Definir os parâmetros do processo de incorporação a vácuo de curcumina que preservem a estrutura das ostras.
- c. Determinar a concentração mínima de curcumina para inibir o desenvolvimento de bactérias mesófilas e psicotróficas totais em ostras.
- d. Avaliar a influência da pressão de vácuo na textura, atividade de água, umidade e capacidade de retenção de água das ostras.
- e. Avaliar a influência da curcumina no pH e no desenvolvimento microbiológico das ostras durante o armazenamento.

1.3 Referências Bibliográficas

AGGARWAL, B. B.; SUNDARAM C.; MALANI, N.; ICHIKAWA, H. Curcumin: the Indian solid gold. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 595, p. 1-75, fev. 2007.

AKPOLAT, M.; TARLADACALISIR, T., Y.; UZ, Y., H.; METIN, S., M.; KIZILAY, G. Effect of curcumin in cancer treatment. **New Medical Journal**, v. 27, p. 142-147, 2010.

BAKER, G. L. Food Safety Impacts from Post-Harvest Processing Procedures of Molluscan Shellfish - a review. **Foods**, v.29, n.5, abr. 2016.

CAO, R.; XUE, C.; LIU, Q.; XUE, Y. Microbiological, chemical, and sensory assessment of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) stored at different temperatures. **Czech J. Food Sci**, v. 27, p. 102-108, jan. 2009.

CRUZ-ROMERO, M. C.; KERRY J. P.; KELLY, A. L. Fatty acids, volatile compounds and colour changes in high-pressure-treated oysters (*Crassostrea gigas*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. n. 9, p. 54-61, jan. 2008.

DONG, M. F. **The nutritional value of shellfish**. A Washington Sea Grant Publication, 2009. Disponível em: <<http://wsg.washington.edu/aquaculture/pdfs/Nutritional-Value-ofShellfish.pdf>>. Acesso em: 06 de abril 2017.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome, 2010. Disponível em: <

<http://www.fao.org/docrep/013/i1820e/i1820e.pdf>. >. Acesso em: 07 de abril 2017.

GOKCE, R. Preserving food with antimicrobial substances. In: Erkmén O (ed.): Food Microbiology. 3ª ed. Efil Publications, Ankara, Turkey. 234-247, 2011.

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal. Brasília:** Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2015. Disponível em:< https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf>. Acesso em: 07 de abril de 2017.

KURT, S.; ZORBA, O. Bacteriocins and their potential usage in food. **Journal of the Faculty of Veterinary Medicine University of Yuzuncu Yil**, v.16, p. 77-83, 2005.

LEKJING, S.; KARRILA, S.; SIRIPONGVUTIKORN, S. Thermal Inactivation of *Listeria monocytogenes* in Whole Oysters (*Crassostrea belcheri*) and Pasteurization Effects on Meat Quality. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 26, n. 9, p.1107-1120, set. 2017.

LAURINDO, J.; STRINGARI, G.; PAES, S.; CARCIOFI, B. Experimental determination of the dynamics of vacuum impregnation of apples. **Journal of Food Science**, v. 72, p. 470-475, out. 2007.

MIOTTO, M. **Recomendações para um programa de Boas Práticas de Fabricação aquícolas em cultivos de ostras (*Crassostrea gigas*)**. 2012, 152f. Dissertação (mestrado em ciência dos alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MONTANHINI, M. T. M.; NETO, R. M. Changes in the microbiological quality of mangrove oysters (*Crassostrea brasiliiana*) during different storage conditions. **Journal of Food Protection**, v. 78, p.164-171, jan. 2015.

MORAES, I. R.; MASTRO, N. L.; JAKABI, M.; GELLI, D. S. Estudo da radiosensibilidade ao 60CO do *Vibrio cholerae* O1 incorporado em ostras. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 29-32, fev. 2000.

PATTARATANAWADEE, E.; RACHTANAPUN, C.; WANCHAITANAWONG, W. Antimicrobial activity of spice extracts against pathogenic and spoilage microorganisms. **Kasetsart Journal: Natural Science**, v. 4, p.159–165, jan. 2006.

PRAPAIWONG, N.; WALLACE, R. K.; ARIAS C. R. Bacterial loads and microbial composition in high pressure treated oysters during storage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 131, p.145-150, mai. 2009.

SURESH, D.; MANJUNATHA, H.; SRINIVASAN, K. Effect of heat processing of spices on the concentrations of their bioactive principles: Turmeric (*Curcuma longa*), red pepper (*Capsicum annum*) and black pepper (*Piper nigrum*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 346-351, mai. 2007.

SOARES, L.; TOSATI, J. V.; LIMA, M. De.; LERIN, L. A.; MONTEIRO, A. R. Evaluation of CO₂ absorption and desorption rate in oysters (*Crassostrea gigas*) using the soluble gas stabilization method. **International Journal of Food Science and Technology**, v.50, n.5, p.1089-1094, mai. 2015.

SOUZA FILHO, J. **Custo de produção da ostra cultivada**. Florianópolis: Instituto Cepa/SC. Cadernos de indicadores agrícolas, p. 23, 2003.

USDA. **National nutrient data base for standard reference release 28**. 2016. Disponível em: <
<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/4649?fgcd¼&manu¼&lfacet¼&format¼&count¼&max¼35&offset¼&sort¼&qlookup¼oysters> >
Acesso em: 06 de abril, 2017.

WANG, Y.; LU, Z.; WU, H.; LV, F. Study on the antibiotic of microcapsule curcumin against foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, v.136, p.71-74, nov. 2009.

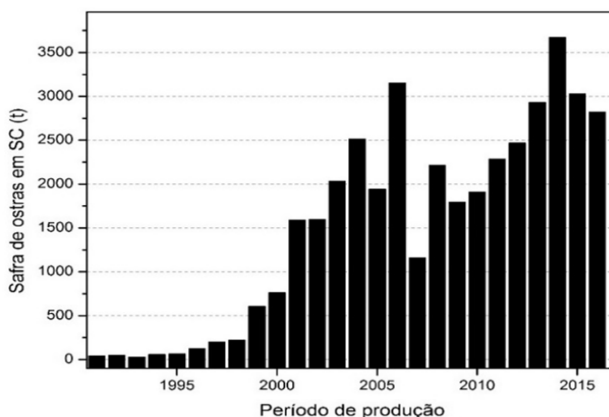
CAPÍTULO 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ostras (*Crassostrea gigas*)

A espécie *Crassostrea gigas* conhecida como Ostra do Pacífico ou Japonesa, é um molusco bivalve, pertencentes à família *Ostreidae*, gênero *Crassostrea*, filo *Mollusca*, e classe *Bivalvia* (THUNBERG, 1793), sendo originária do leste da Ásia, especificamente China e Coreia, além de ser endêmica no Japão. Atualmente apresenta-se distribuída mundialmente, podendo ser encontrada da América do Norte (EUA e Canadá) à América do Sul (Brasil, Chile e Argentina) (AREIAS, 2012; FAO, 2010). Seu habitat natural inclui zonas costeiras protegidas e estuarinas, podendo também ser encontrada em regiões de mar aberto (FAO, 2010).

No Brasil, o estado de Santa Catarina lidera a produção nacional de moluscos marinhos (ostras, mexilhões e vieiras). A produção de ostras e mexilhões no litoral catarinense concentra-se em uma faixa que inclui 12 municípios, estendendo-se desde São Francisco do Sul (norte do estado) até Palhoça (região centro-leste). A comercialização de ostras na safra de 2016 foi de 2.820,46 t, conforme mostrado na Figura 2.1, sendo o município de Florianópolis responsável pela maior produção 1.707,6 t (SANTOS et al., 2017).

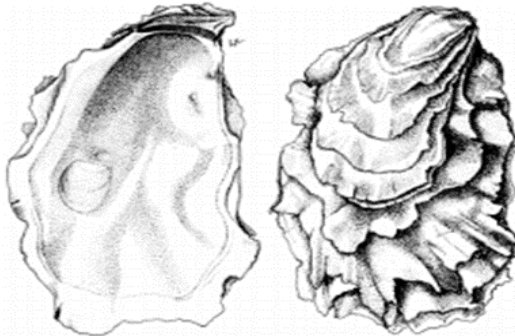
Figura 2.1 - Evolução da produção de ostras comercializadas por Santa Catarina entre 1991 e 2016.



Fonte: Adaptado de Santos et al. (2017).

As ostras possuem uma estrutura física composta por um corpo macio, não possuem esqueleto interno, o corpo é envolvido por duas conchas ou valvas articuladas em sua porção dorsal por um ligamento córneo. A valva superior ou direita é plana e a valva inferior ou esquerda é levemente côncava, encaixada sob a articulação, sendo a valva pela qual a ostra encontra-se fixada ao substrato, conforme mostrado na Figura 2.2. O músculo adutor une as duas valvas, responsável pelo fechamento das mesmas, atuando contra a pressão do ligamento, quando relaxado as valvas encontram-se abertas (RUPP, 1999; NETO, 2011).

Figura 2.2 - Ostras *Crassostrea gigas*.



Fonte: Miossec et al. (2009).

A taxa de crescimento das ostras *C. gigas* depende de diversos fatores, como espécie, distribuição geográfica, clima, localização e as diferenças genéticas entre indivíduos (HELM; BOURNE, 2004). Desenvolvem-se em condições de salinidade que podem variar entre 2 até 41%, mas preferem valores em torno de 20 a 25%. O intervalo de temperatura para seu desenvolvimento é muito amplo, de -1,8°C a 35°C, tendo como intervalo ideal de temperatura entre 11°C e 25°C (ANGELL, 1986).

O tamanho comercial da espécie *C. gigas* é de 8 cm, que é atingido em cerca de 7 a 8 meses de cultivo no estado de Santa Catarina no Brasil, enquanto na França, para a mesma espécie, o tempo necessário para alcançar o tamanho comercial é de aproximadamente dois anos, devido as condições favoráveis ao cultivo (MIZUTA, 2010).

2.1.1 Microbiologia de Moluscos Bivalves

O Ministério da Saúde por meio da Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamenta padrões microbiológicos para alimentos expostos à venda. Os itens 7, 20 e 22 dessa resolução abordam o pescado e os produtos derivados da pesca, bem como os limites bacteriológicos permitidos para sua comercialização. Estabelecendo para moluscos bivalves *in natura* resfriados ou congelados, não consumidos crus, os limites máximos permitidos para *Estafilococcus* coagulase positivo de até $1,0 \times 10^3$ UFC g^{-1} e ausência de *Salmonella* spp. em 25g. O limite para coliformes a 45°C é estabelecido apenas em moluscos bivalves cozidos, temperados ou não, industrializados resfriados ou congelados, sendo este de $5,0 \times 10$ NMP./g. A legislação estabelece valores limites específicos de *Vibrio parahaemolyticus* somente para pratos prontos à base de frutos do mar crus, sendo de $1,0 \times 10^3$ NMP./g. (BRASIL, 2001).

As ostras são organismos filtradores, e alimentam-se de partículas em suspensão na coluna da água, que tanto podem ser orgânicas como inorgânicas. Estas partículas são basicamente compostas por fitoplâncton, seu principal alimento, mas também podem conter microrganismos e outras substâncias dissolvidas, como aminoácidos e açúcares, entre outros (FELDHUSEN, 2000; MIZUTA, 2010). As bactérias patogênicas, que estejam eventualmente presentes na água de cultivo, após serem filtradas, poderão permanecer viáveis no trato digestivo das ostras (MORAES et al., 2000). A taxa de filtração das ostras chega a 10 litros/hora/grama de tecido seco (FROELICH; NOBLE, 2014).

Considerando-se que as ostras são tradicionalmente consumidas *in natura*, sem cozimento prévio ou pouco cozidas, juntamente com o elevado conteúdo de água e por possuir uma alta e diversa microbiota natural, este alimento é considerado de alto risco, altamente perecível e amplamente associado a intoxicações e infecções alimentares (PORTELLA, 2005; RAMOS, 2007; MIOTTO, 2012).

A microbiota das ostras após a coleta está diretamente relacionada à qualidade microbiológica da água, que é influenciada, também pela temperatura e salinidade da água, distância entre o local de cultivo e áreas poluídas com material fecal ou à ocorrência de bactérias naturalmente presentes na água (FELDHUSEN, 2000). Por isso, a qualidade sanitária das águas de cultivo de moluscos é imprescindível para a obtenção de um produto seguro.

As ostras, propiciam um ambiente favorável ao desenvolvimento de microrganismos, devido ao alto teor de carboidratos (5,6 g/100 g), quando comparada aos pescados e crustáceos, e menor teor de nitrogênio total. Portanto além de patogênicos, podem ser encontrados microrganismos deteriorantes em ostras, responsáveis por alterações sensoriais, diminuindo a vida útil do produto (JAY, 2005).

Os agentes de deterioração de moluscos, segundo as condições de temperatura, são bactérias psicrófilas e mesófilas, em sua maioria com atividades proteolíticas. Alterações de cor, da tonalidade amarelo esverdeado são consequentes da presença de psicrófilos e *Pseudomonas*. No armazenamento a temperaturas de refrigeração (0°C a 10°C) se multiplicam microrganismos psicrotróficos, sendo os principais agentes de deterioração de frutos do mar (EVANGELISTA, 1994).

Já foram isolados os seguintes gêneros de ostras deterioradas: *Serratia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Clostridium*, *Shewanella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Favlobacterium*, entre outros (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

De acordo com Feldhusen (2000) as bactérias patogênicas frequentemente associadas às doenças causadas pelo consumo de moluscos bivalves, podem ser divididas em três grupos, conforme a fonte de contaminação:

- Naturalmente presentes no ecossistema aquático (como *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium botulinum*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus* e *Listeria monocytogenes*),
- Presentes no ambiente como resultado da contaminação fecal humana e de animais de sangue quente (como *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Escherichia coli*),
- Decorrentes da manipulação e o processamento dos moluscos (como *Staphylococcus aureus*).

Vibrio parahaemolyticus é documentado como a principal fonte de gastroenterite aguda em humanos, e frequentemente isolado de frutos do mar. Muitos surtos de *V. parahaemolyticus* ocorreram em todo o mundo, assim a eliminação do *V. parahaemolyticus* em ostras é uma necessidade, para evitar surtos. Entretanto a redução dos níveis de *V. parahaemolyticus* de ostras após a colheita e antes do consumo contribuem para a diminuição do risco de doenças causadas por este patógeno (WU et al., 2016; ROJAS et al., 2011; RASZL et al., 2016).

Desta forma o hábito alimentar de consumir ostra *in natura* e sua curta vida útil restringem o comércio desse produto, que ocorre,

principalmente, via restaurantes e apresenta uma capacidade de absorção em torno de 3.000 t/ano (SANTOS et al., 2017). Com isso, há uma demanda por estudos de processos com a finalidade de reduzir a carga microbiana e aumentar a vida útil de ostras.

2.2 Cúrcuma (*Cúrcuma longa* Linn)

A cúrcuma conhecida no Brasil como açafrão da terra (Figura 2.3), é o rizoma de uma planta herbácea perene, pertencente à família do gengibre, *Zingiberaceae*, com nome científico *Cúrcuma longa* Linn, nativa do sul tropical da Ásia, mas amplamente cultivada nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (RAVINDRAN et al., 2007).

Figura 2.3 - Ilustração Botânica da *Cúrcuma longa* L.



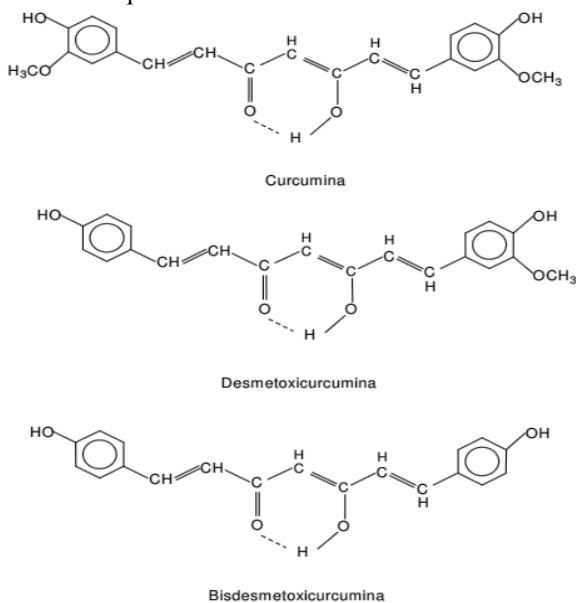
Fonte: Braga (2002).

Apresenta inúmeras propriedades biológicas de interesse para aplicação em alimentos, com comprovada atividade antioxidante, antifúngica e antimicrobiana (RAVINDRAN et al., 2007). Também é aplicada na medicina tradicional no tratamento de várias doenças incluindo, diabetes, reumatismo e doenças cardiovasculares (AGGARWAL; HARIKUMAR, 2009).

A cúrcuma apresenta uma composição química de 30 a 50% de amido, 6 a 10% de proteína, 6,5 a 8,5% de cinzas, 2 a 6% de fibras, 3 a 6% de óleo volátil e 2 a 8% de curcuminóides (GOVINDARAJAN; STAHL, 1980; BRAGA et al., 2003).

Os curcuminóides são divididos em três substâncias principais, como mostrado na Figura 2.4, a curcumina (80%), a desmetoxicurcumina (DMC) (18%) e a bisdesmetoxicurcumina (BDMC) (2%), diferenciadas pela quantidade de grupos metoxila (OCH₃) presentes na estrutura química. A curcumina apresenta dois grupos metoxila, a desmetoxicurcumina contém apenas um grupo metoxila e a bisdesmetoxicurcumina não apresenta grupo metoxila (ANAND et al., 2008; GOEL; AGGARWAL, 2010). Grande parte dos estudos realizados indicam que o componente mais ativo entre os curcuminóides da *C. longa* L é a curcumina (KUMAR et al., 2016).

Figura 2.4 - Estrutura química dos curcuminóides.



Fonte: Almeida (2006).

A curcumina (1,7-bis (4-hidroxi-3-metoxifenil) hepta-1,6-dien 3,5 diona) é um pigmento natural de coloração amarela presente nos rizomas de cúrcuma, apresenta-se na forma de pó, representando 2-5% nos rizomas secos, sendo extensivamente estudado com mais de 5600

citações (AGGARWAL et al., 2013). Pertence à classe dos polifenóis que são substância que possuem hidroxilas ligadas a anéis aromáticos (LI et al., 2011). Esse polifenol hidrofóbico apresenta baixa massa molecular (368,37 g/mol) e ponto de fusão de aproximadamente 183 °C, sendo praticamente insolúveis em água (0,6 µg/mL), o que limita não apenas a sua solubilidade e dispersão em matrizes de alimentos, mas também a sua biodisponibilidade. No entanto é solúvel em etanol, álcalis, cetonas, ácido acético e clorofórmio. Sua degradação é acelerada pela luz, ar, temperatura, e pH acima do neutro (SURESH et al., 2007).

Com relação à estabilidade da curcumina, Tonnesen et al. (1985), verificaram que a curcumina é instável em pH maior que 8,0. Resultados semelhantes foram observados por Rusig et al. (1992), os quais constataram a faixa de pH entre 4 e 8 como a que proporcionou maior estabilidade à molécula curcumina e que em pH superior a 8, a velocidade de degradação foi significativamente maior. Ainda a luz foi analisada e considerada o fator de maior relevância sobre a degradação da curcumina, provocando cerca de 30% de perda do pigmento, após 30 dias de exposição, enquanto a degradação pela ação exclusiva do oxigênio foi de 1,80%.

Estudos comprovaram a propriedade antimicrobiana da curcumina em uma ampla gama de microrganismos, em sua forma *in natura* para *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella dysenteriae* (BHAWANA et al., 2011; DUBEY et al., 2008; HAN; YANG, 2005; HU et al., 2013; MUN et al., 2013; PARVATHY et al., 2009; RAI et al., 2008).

O mecanismo de ação da curcumina sobre os microrganismos não se encontra completamente elucidado, contudo supõem-se que sua atividade antimicrobiana esteja relacionada com a interação da curcumina com a proteína FtsZ do citoesqueleto bacteriano, proteína envolvida na divisão celular de algumas bactérias (KAUR et al., 2010).

Na indústria de alimentos a curcumina é utilizada como corante natural para substituir os corantes sintéticos em produtos como, enlatados, *chutneys*, mostarda, pão, iogurte, manteiga, queijo, entre outros, porém sua utilização mais importante é na preparação de *curry* (OSORIO-TOBÓN et al., 2014). Os padrões estabelecidos em relação à Ingestão Diária Aceitável (IDA), para a curcumina, estão entre 0 a 3 mg/kg de massa corporal (JECFA, 2006).

Gul e Bakht (2015) aplicaram extrato de cúrcuma nas concentrações de 1,0 e 2,0% como conservante e antimicrobiano, combinado com tratamento térmico em refeições prontas para o

consumo, e obtiveram um alimento seguro e livre de contaminação microbiológica durante 90 dias de armazenamento em temperatura ambiente. Outro estudo utilizou curcumina nas concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0% em carne moída para inibir o crescimento de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium* e *Staphylococcus aureus*. A adição de curcumina alterou significativamente a contagem das bactérias, sendo as doses de 0,5% e 1,0% de curcumina melhor aceitas sensorialmente (SANDIKCI ALTUNATMAZ et al., 2016).

Wu et al. (2015) utilizaram ação fotodinâmica mediada pela curcumina, com um comprimento de onda de 470 nm, densidade de energia 3,6 J/cm² e concentração de 10 µM de curcumina, demonstrando-se que o norovírus foi significativamente inibido de 1-3 log UFC / mL em ostras.

Recentemente empregou-se a ação fotodinâmica mediada pela curcumina para avaliar o efeito da inativação de *V. parahaemolyticus* em ostras, utilizando-se comprimento de onda de 470 nm, densidade de energia 3,6 J/cm², observando-se que a curcumina foi capaz de inativar as células *V. parahaemolyticus* para um nível não detectável na concentração de 10 e 20 Mm, mostrando que a curcumina fotodinamicamente ativada prolongou a vida de prateleira de ostras de 8 para 12 dias e teve efeitos positivos na qualidade, exibindo retenção notável de odor (LIU et al., 2016).

2.3 Incorporação de compostos bioativos

A incorporação de compostos bioativos na matriz de alimentos sólidos, pode ser realizada por diferentes métodos, como imersão a pressão atmosférica, desidratação osmótica e sob vácuo.

A imersão à pressão atmosférica é usualmente utilizada para introdução de microrganismos probióticos em alimentos, como mostrado por Martins et al. (2016) para salada de frutas minimamente processada e melão minimamente processado (OLIVEIRA et al., 2014).

O tratamento osmótico é outro método amplamente utilizado para modificar a composição de alimentos sólidos (por exemplo, frutas, vegetais, carne e peixe), removendo parcialmente água e adicionando solutos (ROZEK et al., 2010, FERRARI et al., 2013).

A infusão de curcumina foi estudada por Bellary et al. (2011) que exploraram o tratamento osmótico como um método para infundir curcuminóides em fatias de coco. A concentração crescente de soluções osmóticas (0, 12,5, 25 e 50%) utilizadas para a incorporação de curcuminóides, indicou que a maior incorporação de curcuminóides foi

alcançada quando a concentração da solução envolvente foi mínima, isto é, 0%.

Bellary e Rastogi (2012) estudaram a impregnação de curcuminóides em fatias de coco usando soluções hipotônicas ou hipertônicas. O maior coeficiente de difusão foi $(1,78 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s})$ encontrado para solução de curcuminóides em cloreto de sódio a 2,5%, melhorado pela aplicação de ultrassom $(1,81 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s})$.

O uso de vácuo e ultrassom em conjunto com o tratamento osmótico para a infusão de compostos bioativos é utilizado no desenvolvimento de alimentos funcionais sem alterar significativamente a matriz alimentar (BELLARY; RASTOGI, 2014).

A impregnação a vácuo é aplicada em inúmeros processos nos quais as interações entre um sólido poroso e um líquido estão presentes, tais como: incorporação de ingredientes funcionais, vitaminas, minerais, antioxidantes, enzimas, reguladores de pH, antimicrobianos, fibra alimentar, probióticos, prebióticos e simbióticos (LIN et al., 2006; DEROSI et al., 2010; HIRONAKA et al., 2011).

A utilização de impregnação a vácuo em matéria prima animal foi estudada por Andrés-Bello et al. (2014) que introduziram bactérias ácido lácticas e nisina em filés de peixe para aumento da vida útil do produto, e por Schmidt (2006), para impregnação de sal em cortes de frango. Entretanto o uso desta tecnologia em matrizes vegetais é majoritariamente encontrado na literatura como na fortificação de abacaxi com cálcio e impregnação de lactato de cálcio em maçãs, estudos que foram realizados no Laboratório de propriedades físicas de alimentos (PROFI-UFSC) (LIMA, 2014; ASSIS, 2013).

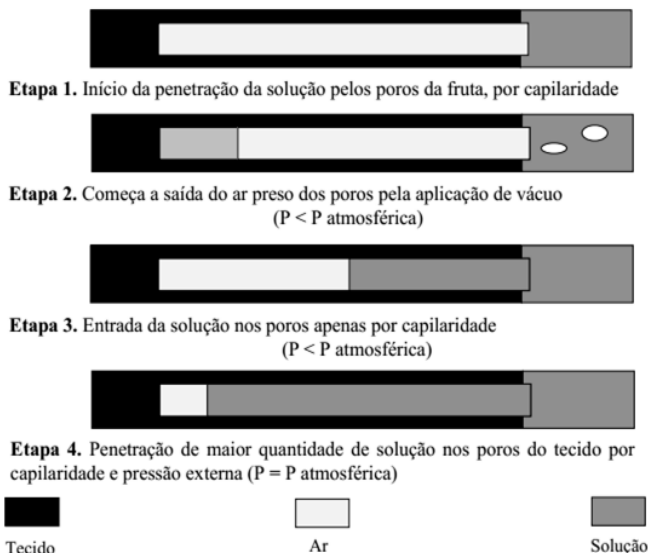
Dentre as técnicas de incorporação a impregnação a vácuo apresenta vantagem de permitir a introdução das substâncias dissolvidas ou dispersas em uma fase líquida diretamente na estrutura porosa (SALVATORI et al., 1998), com a possibilidade de manter a umidade do produto e acelerar a incorporação do composto de interesse. Pode ser empregada para incorporar compostos fisiologicamente ativos em tecidos vegetais, sem destruir a matriz dos alimentos. Essa técnica permite melhorias nas características físico-químicas e nutricionais e nas propriedades sensoriais dos alimentos, aumento da vida útil e introdução de produtos inovadores no mercado de alimentos (ALZAMORA et al., 2005; ZHAO; XIE, 2004). Assim, no presente estudo utilizou-se a técnica de impregnação a vácuo para a incorporação de curcumina em ostras.

2.3.1 Impregnação a vácuo

A impregnação a vácuo (IV) é um processo usualmente utilizado para acelerar a penetração de um líquido ou soluto de interesse em uma estrutura porosa, seja está vegetal ou animal (ZHAO; XIE, 2004). O processo de IV consiste na troca do gás e líquido aprisionado no interior dos poros de um alimento por um líquido externo, devido a ação de gradientes macroscópicos de pressão promovidos pela aplicação de vácuo e posterior restabelecimento da pressão atmosférica em uma câmara contendo o alimento imerso em uma solução (FITO, 1994; FITO; PASTOR, 1994; FITO et al., 1996).

O processo de IV ocorre em duas etapas, conforme mostrado na Figura 2.5. Na primeira etapa o alimento é imerso na solução que se deseja impregnar e o sistema é submetido a uma pressão subatmosférica por um determinado período de tempo, onde o gás ocluso nos poros do alimento se expande, até atingir o equilíbrio com a pressão imposta ao sistema, saindo do alimento e levando parte do líquido nativo presente no interior dos poros. Quando o equilíbrio das pressões do sistema é alcançado, uma quantidade de líquido penetra nos poros devido à ação das forças capilares. Após este período, é restabelecida a pressão atmosférica e o alimento é mantido imerso na solução por um determinado período de tempo. Nesta etapa, o gás residual da amostra se comprime, conduzindo à impregnação dos poros do alimento pela solução externa (FITO, 1994, FITO et al., 1996; FITO et al., 2001). Durante esse processo ocorre uma mudança rápida na composição do alimento, com modificação das condições para a transferência de massa (FITO et al., 1996).

Figura 2.5 - Representação esquemática do processo de impregnação a vácuo.



Fonte: adaptado de Fito (1994); Oliveira et al. (2014).

As propriedades mecânicas da matriz sólida e as propriedades de escoamento do líquido que penetra os poros irão definir os tempos característicos de penetração e de deformação relaxação, responsáveis pela impregnação final e deformação das amostras no equilíbrio. A quantidade de líquido impregnado na estrutura porosa dependerá do nível de desgaseificação e da pressão de trabalho (FITO et al., 1996; FITO; CHIRALT, 2000).

Vários estudos foram realizados a fim de elucidar os mecanismos utilizados na impregnação a vácuo de um material poroso, mas este é um problema complexo, uma vez que são muitas as variáveis e os mecanismos de transferência de massa envolvidos no processo (FITO, 1994; FITO; PASTOR, 1994; ZHAO; XIE, 2004; LAURINDO et al., 2007).

O primeiro modelo matemático do processo de impregnação a vácuo em alimentos porosos, foi proposto por Fito (1994) e Fito e Pastor (1994), conhecido como Mecanismo Hidrodinâmico (HDM), que descreve os mecanismos de desgaseificação e de infiltração em um alimento poroso, considera a pressão capilar e o gradiente macroscópico de pressão imposto ao sistema durante as etapas de aplicação do vácuo e recuperação da pressão atmosférica como as forças motrizes do

processo. O modelo do HDM permite o cálculo da fração volumétrica da amostra impregnada, ocasionada por gradientes macroscópicos de pressão e pela ação da capilaridade.

Fito et al. (1996) propuseram um modelo denominado Deformação-Relaxação (DRP), com correções ao modelo HDM, considerando a possibilidade da deformação da matriz porosa dos alimentos durante a aplicação do vácuo e à relaxação dos mesmos durante o restabelecimento da pressão, relacionada às propriedades viscoelásticas dos alimentos sólidos.

2.4 Referências Bibliográficas

AGGARWAL, B. B.; HARIKUMAR, K. B. Potential therapeutic effects of curcumin: the anti-inflammatory agent against neurodegenerative cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 41, p. 40-59, jan. 2009.

AGGARWAL, B. B.; YUAN, W.; LI, S.; GUPTA, S. C. Curcumin-free turmeric exhibits anti-inflammatory and anticancer activities: identification of novel components of turmeric. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 57, n. 9, p. 1529-1542, set. 2013.

ALMEIDA, L. **Caracterização de Pigmentos da Curcuma longa L.: Avaliação da Atividade Antimicrobiana, Morfogênese in vitro na Produção de Curcuminóides e Óleos Essenciais**. 2006. 120f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ALZAMORA, S. M.; SALVATORI, D.; TAPIA, M.; LÓPEZ-MALO, A.; WELTI-CHANES, J.; FITO, P. Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 205-214, mar. 2005.

ANAND, P.; THOMAS, S. G.; KUNNUMAKKARA, A. B.; SUNDARAM, C.; HARIKUMAR, K. B.; SUNG, B.; THARAKAN, S. T.; MISRA, K.; PRIYADARSINI, I. K.; RAJASEKHARAN, K. N.; AGGARWAL, B. B. Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. **Biochemical Pharmacology**, Special Issue: Apoptosis World 2008. v. 76, n. 11, p. 1590-1611, dez. 2008.

ANDRÉS-BELLO, A.; DE JESÚS, C.; GARCÍA-SEGOVIA, P.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; PAGÁN-MORENO, M. J. Vacuum impregnation as a tool to introduce biopreservatives in gilthead sea bream fillets (*Sparus aurata*). **Food Science and Technology**, v. 60, n.2, p.758-765, set. 2014.

ANGELL, C. L. **The biology and culture of tropical oysters**. Manila: International Center for Living Aquatic Resources Management, 1986.

AREIAS, D. L. L. **Efeito da salinidade e temperatura no assentamento da ostra *Crassostrea gasar* (Adanson, 1757) e indução da desova da ostra *Crassostrea gigas* (Thundberg, 1795)**. 2012. 74f. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Porto.

BHAWANA; BASNIWAL, R. K.; BUTTAR, H. S.; JAIN, V. K.; JAIN, N. Curcumin nanoparticles: preparation, characterization, and antimicrobial study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 5, p. 2056-2061, mar. 2011.

BELLARY, A. N.; SOWBHAGYA, H. B.; RASTOGI, N. K. Osmotic dehydration assisted impregnation of curcuminoids in coconut slices. **Journal of Food Engineering**, India, v. 105, n. 3, p. 453-459, ago. 2011.

BELLARY, A. N.; RASTOGI, N. K. Effect of hypotonic and hypertonic solutions on impregnation of curcuminoids in coconut slices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 16, p. 33-40, out. 2012.

BELLARY, A. N.; RASTOGI, N. K. Effect of selected pretreatments on infusion of curcuminoids and their influence on physicochemical properties of raw banana slices. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 10, p. 2803-2812, out. 2014.

BRAGA, M. E. M. **Extração supercrítica de curcuminóides de *Curcuma longa* L. usando como solvente mistura de CO₂ + etanol e/ou isopropanol: um estudo da cinética e das propriedades funcionais do extrato**. 2002, 183f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas.

BRAGA, M. E. M.; LEAL, P. F.; CARVALHO, J. E.; MEIRELES, M. A. A. Comparison of yield, composition, and antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa* L.) extracts obtained using various techniques. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 22, p. 6604-6611, out. 2003.

BRASIL. RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução. Aprova o regulamento técnico princípios gerais para estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos e seus anexos I, II e III. DOU, Brasília, 1 jan. 2001.

DEROSSI A.; DE PILLI, T.; SEVERINI, C. Reduction in the pH of vegetables by vacuum impregnation: A study on pepper. **Journal of Food Engineering**, v. 99, p. 9-15, jul. 2010.

DUBEY, S. K.; SHARMA, A. K.; NARAIN, U.; MISRA, K.; PATI, U. Design, synthesis and characterization of some bioactive conjugates of curcumin with glycine, glutamic acid, valine and demethylenated piperic acid and study of their antimicrobial and antiproliferative properties. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 9, p. 1837-46, set. 2008.

EVANGELISTA J. **Tecnologia de Alimentos**. 2ª edição. São Paulo: Atheneu, 1994.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome, 2010, 197p. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/013/i1820e/i1820e.pdf>>. Acesso em: 07 de abril de 2017.

FELDHUSEN, F. The role of seafood in bacterial foodborne diseases. **Microbes and infection / Institut Pasteur**, v. 2, n. 13, p. 1651-60, nov. 2000.

FERRARI, C. C.; SARANTÓPOULOS, C. I.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M.; HUBINGER, M. D. Effect of osmotic dehydration and pectin edible coatings on quality and shelf life of fresh-cut melon. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 1, p. 80-91, jan. 2013.

FITO, P. Modelling of vacuum osmotic dehydration of food. **Journal of Food Engineering**, v. 22, n. 1-4, p. 313-328, 1994.

FITO, P.; PASTOR, R. Non-diffusional mechanisms occurring during vacuum osmotic dehydration. **Journal of Food Engineering**, v. 21, n. 4, p. 513-519, 1994.

FITO, P.; CHIRALT, A.; PARDO, P. Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous food-liquid systems. **Journal of Food Engineering**, v. 27, n. 3, p. 229-240, 1996.

FITO, P; CHIRALT, A. Vacuum impregnation of plant tissues. In: Minimally processed fruits and vegetables. Maryland: Aspen publication, Cap. 11, p. 189-204, 2000.

FITO, P.; CHIRALT, A.; BARAT, J. M.; ANDRÉS, A.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. **Journal of Food Engineering**, v. 49, p. 297-302, set. 2001.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**, São Paulo: Atheneu, 2008.

FROELICH, B. A.; NOBLE, R. T. Factors affecting the uptake and retention of *Vibrio vulnificus* in oysters. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 80, p. 7454-7459, dez. 2014.

GOEL, A.; AGGARWAL, B. B. Curcumin, the golden spice from indian saffron, is a chemosensitizer and radiosensitizer for tumors and chemoprotector and radioprotector for normal organs. **Nutrition and Cancer**, v. 62, n. 7, p. 919-930, set. 2010.

GOVINDARAJAN, V. S.; STAHL, W. H. Turmeric-chemistry, technology, and quality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 12, n. 3, p. 199-301, 1980.

GUL, P.; BAKHT, J. Antimicrobial activity of turmeric extract and its potential use in food industry. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 4, p. 2272-79, abr. 2015.

HAN, S.; YANG, Y. Antimicrobial activity of wool fabric treated with curcumin. **Dyes and Pigments**, v. 64, n. 2, p. 157-161, fev. 2005.

HELM M. M.; BOURNE N. **Hatchery culture of bivalves. A practical manual**. FAO Fisheries Technical Paper, Rome, Italy, p. 471, 2004.

HIRONAKA, K.; KIKUCHI, M.; KOAZE, H.; SATO, T.; KOJIMA, M.; YAMAMOTO, K.; YASUDA, K.; MORI, M.; TSUDA, S. Ascorbic acid enrichment of whole potato tuber by vacuum-impregnation. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1114-18, ago. 2011.

HU, P.; HUANG, P.; CHEN, M. W. Curcumin reduces *Streptococcus mutans* biofilm formation by inhibiting sortase A activity. **Archives of Oral Biology**, v. 58, n. 10, p. 1343-48, out. 2013.

JAY, James M. **Microbiologia de alimentos**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KUMAR, A.; SINGH, M.; SINGH, P. P.; SINGH, S. K.; RAJ, P.; PANDEY, K. D. Antioxidant efficacy and curcumin content of turmeric (*Curcuma longa* L.) Flower. **International Journal of Current Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 3, p. 112-114, jul. 2016.

LAURINDO, J.; STRINGARI, G.; PAES, S.; CARCIOFI, B. Experimental determination of the dynamics of vacuum impregnation of apples. **Journal of Food Science**, v. 72, p. 470-475, out. 2007.

LI, S., YUAN, W., DENG, G., WANG, P., YANG, P.; AGGARWAL, B. B. Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric (*Curcuma longa* L.). **Pharmaceutical Crops**, v. 2, p. 28-54, 2011.

LIN, D.; LEONARD, S.; LEDERER, C.; TRABER, M.; ZHAO, Y. Retention of fortified vitamin E and sensory quality of fresh-cut pears by vacuum impregnation with honey. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 7, p. 553-559, set. 2006.

LIU, F.; LI, Z.; CAO, B.; WU, J.; WANG, Y.; XUE, Y.; XU, J.; XUE, C.; TANG, J., Q. The effect of a novel photodynamic activation method mediated by curcumin on oyster shelf life and quality. **Food Research International**, v. 87, p. 204-210, set. 2016.

KAUR, S. et al. Probing the binding site of curcumin in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* FtsZ - A structural insight to unveil antibacterial activity of curcumin. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 4209-214, set. 2010.

MARTINS, E. M. F.; RAMOS, A. M.; MARTINS, M. L.; LEITE JÚNIOR, B. R. C. Fruit salad as a new vehicle for probiotic bacteria. **Food Science and Technology**, v. 36, n. 3, jul./set. 2016.

MIOSSEC, L.; DEUFFM, R. M.; GOULLETQUER, P. Alien species alert: *Crassostrea gigas* (Pacific oyster). **Cooperative Research Report**, n. 299, p. 42, nov. 2009.

MIOTTO, M. **Recomendações para um programa de Boas Práticas de Fabricação aquícolas em cultivos de ostras (*Crassostrea gigas*)**. 2012, 152f. Dissertação (mestrado em ciência dos alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MIZUTA, D. D. **Contribuição do estudo oceanográfico para a produção comercial de ostras *Crassostrea gigas*: estudo de caso da Baía Sul, Ilha de Santa Catarina, SC**. 2010, 126f. Dissertação (Mestrado) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MORAES, I. R.; MASTRO, N. L.; JAKABI, M.; GELLI, D. S. Estudo da radiosensibilidade ao 60CO do *Vibrio cholerae* O1 incorporado em ostras. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 29-32, fev. 2000.

MUN, S. H.; JOUNG, D. K.; KIM, Y. S.; KANG, O. H.; KIM, S. B.; SEO, Y. S.; KIM, Y. C.; LEE, D. S.; SHIN, D. W.; KWEON, K. T.; KWON, D. Y. Synergistic antibacterial effect of curcumin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Phytomedicine**, v. 20, n. 8-9, p. 714-718, jun. 2013.

NETO, R. M. **Influência de Variáveis Ambientais Sobre o Desenvolvimento de Ostras *Crassostrea* (Sacco, 1897) na Baía de Guaratuba, Brasil**. 2011. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

OLIVEIRA, P. M.; CASTRO, B. R.; LOPES, M.; FURTADO, E. M.; MOTA, A. Minimally processed yellow melon enriched with probiotic bacteria. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, p. 2415-26, set./out. 2014.

OSORIO-TOBÓN, J. F.; CARVALHO, P. I. N.; ROSTAGNO, M. A.; PETENATE, A. J.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of curcuminoids from deflavored turmeric (*Curcuma longa* L.) using pressurized liquids: Process integration and economic evaluation. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 95, p. 167-174, nov. 2014.

PARVATHY, K. S.; NEGI, P. S.; SRINIVAS, P. Antioxidant, antimutagenic and antibacterial activities of curcumin- β -diglucoside. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 265-271, jul. 2009.

PEREIRA, M. A.; NUNES, M. M.; NUERNBERG, L.; SCHULZ, D.; BATISTA, C. R. V. Microbiological quality of oysters (*Crassostrea gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianópolis - Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 159-63, jun. 2006.

PORTELLA, C. D. G. **Avaliação da qualidade da ostra nativa *Crassostrea brasiliiana* congelada em concha em função da composição química e análise sensorial**. 2005, 66f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

RAI, D.; SINGH, J. K.; ROY, N.; PANDA, D. Curcumin inhibits FTsZ assembly: an attractive mechanism for its antibacterial activity. **Biochemical Journal**, v. 410, p. 147-155, fev. 2008.

RAMOS, R. J. **Monitoramento bacteriológico de águas do mar e ostras (*Crassostrea gigas*) em áreas de cultivo na baía Sul da Ilha de Santa Catarina**. 2007, 86f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RASZL, S. M.; FROELICH, B. A.; VIEIRA, C. R. W.; BLACKWOOD, A. D.; NOBLE, R. T. *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in South America: water, seafood and human infections. **Journal of Applied Microbiology**, v. 121, n. 5, p. 1201-22, nov. 2016.

RAVINDRAN, P. N.; BABU, K. N.; SIVARAMAN, K. **Turmeric: The genus *Curcuma***, Boca Raton, Taylor & Francis. 2007.

ROJAS, M. V. R.; MATTÉ, M. H.; DROPA, M.; SILVA, M. L.; MATTÉ, G. R. Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from oysters and mussels in São Paulo, Brazil. **Revista Internacional de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 53, n. 4, p. 201-5, jul./ago. 2011.

ROZEK, A.; GARCIA-PEREZ, V. J.; LOPEZ, F.; GUELL, C.; FERRANDO, M. Infusion of grape phenolics into fruits and vegetables by osmotic treatment: phenolic stability during air drying. **Journal of Food Engineering**, v. 99, n. 2, p. 142-150, jul. 2010.

RUPP, G. S. **Introdução à biologia das ostras**. In: FERREIRA, J.F. et al. Cultivo de ostras. Laboratório de cultivo de moluscos marinhos. Florianópolis, p. 15-24, 1999.

RUSIG, O.; MARTINS, M., C. Efeito da temperatura, do pH e da luz sobre extratos de oleorresina de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) e curcumina. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, Viçosa, v. 1, n. 1, p. 158-64, 1992.

SALVATORI, A.; ANDRÉS, A.; CHIRALT, A.; FITO, P. The response of some properties of fruits to vacuum impregnation. **Journal of Food Process Engineering**, v. 21, p. 59-73, fev. 1998.

SANDIKCI ALTUNATMAZ, S. et al. Antimicrobial effects of curcumin against *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* and *E. coli* O157:H7 pathogens in minced meat. **Veterinárni Medicína**, v. 61, n. 5, p. 256-262, 2016.

SANTOS, A. A. DOS; MARCHIORI, N. C.; GIUSTINA, E. G. D. **Síntese Informativa da Maricultura**. EPAGRI, Florianópolis, 2016. Disponível em: <<http://www.epagri.sc.gov.br/wp-content/uploads/2013/08/Sintese-informativa-da-maricultura-2016.pdf>>. Acesso em: 15 de dezembro de 2017.

SURESH, D.; MANJUNATHA, H.; SRINIVASAN, K. Effect of heat processing of spices on the concentrations of their bioactive principles: Turmeric (*Curcuma longa*), red pepper (*Capsicum annum*) and black pepper (*Piper nigrum*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 346-351, mai. 2007.

TONNESEN, H., H.; KARLSEN J.; VAN, H., GB. Studies on curcumin and curcuminoids. VI. Kinetics of curcumin degradation in aqueous solution. **Lebensm Unters Forsch**, v. 180, p. 402-404, ago. 1985.

THUNBERG. *Crassostrea gigas*. World Register of Marine Species, 1793.

ZHAO, Y.; XIE, J. Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetable processing. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, p. 434-451, set. 2004.

WU, J.; HOU, W.; CAO, B.; ZUO, T.; XUE, C.; LEUNG, A. W.; Xu, C.; TANG, Q. J. Virucidal Efficacy of Treatment with Photodynamically Activated Curcumin on Murine Norovirus Bio-accumulated in Oysters. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 12, p. 385-392, set. 2015.

WU, J.; MOU, H.; XUE, C.; LEUNG, A. W.; XU, C.; TANG, Q. J. Photodynamic effect of curcumin on *Vibrio parahaemolyticus*. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 15, p. 34-39, set. 2016.

CAPÍTULO 3. ESTUDO DO PROCESSO DE INCORPORAÇÃO A VÁCUO DE CURCUMINA EM OSTRAS (*Crassostrea gigas*)

Resumo

A concentração de curcumina incorporada em ostras (*Crassostrea gigas*) cozidas e desconchadas usando pressões subatmosféricas (vácuo) foi estudada no presente trabalho. Os parâmetros de processo foram estudados através de um Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR) 2^2 com 4 pontos axiais e 4 repetições no ponto central para avaliar a influência da pressão (30, 50, 100, 150 e 170 mbar) e do tempo (3, 5, 10, 15 e 17 minutos) na concentração de curcumina incorporada. Foi avaliado o efeito da presença de curcumina no pH das ostras e o efeito da pressão de vácuo na umidade, atividade de água, capacidade de retenção de água e textura das ostras. Ostras cozidas e desconchadas foram imersas em uma solução curcumina-vinho branco tipo chardonnay (3,75% em álcool) com concentração inicial de 130 μg de curcumina/mL de solução e submetidas ao processo de incorporação a vácuo nas condições do delineamento experimental a 4 °C. A variável tempo mostrou efeito positivo significativo (linear e quadrático) na concentração de curcumina incorporada, sem efeito da pressão, de acordo com a análise de Pareto. Entretanto, através da curva de contorno observou-se uma tendência ao aumento da concentração de curcumina incorporada em ostras nas maiores pressões e tempos mais longos de vácuo. Houve decréscimo do pH das ostras após a incorporação de curcumina, e houve aumento significativo da atividade de água e diferença significativa no teor de umidade e na capacidade de retenção de água das amostras com curcumina nas condições estudadas.

Palavras-chave: ostras, curcumina, infusão a vácuo.

Abstract

In this work the concentration of curcumin incorporated by vacuum pressures in oysters (*Crassostrea gigas*) cooked and shelled, was studied. The influence of pressure (30, 50, 100, 150 and 170 mbar) and time (3, 5, 10, 15 and 17 minutes) of vacuum in the curcumin incorporated within oysters were studied through a Central Composite Rotational Design (CCRD) 2^2 with 4 axial points and 4 repetitions at central point. The effect of curcumin in pH of oysters and the effect of vacuum pressure on moisture, water activity, water-holding capacity and texture of oysters were evaluated. Cooked and shelled oysters were immersed in curcumin-chardonnay white wine (3.75% alcohol) solution with initial concentration of 130 μg curcumin/mL solution. After that,

oyster meat in solution was loaded into the experimental vacuum chamber to incorporation of curcumin, at 4 °C, according experimental design conditions. Significant positive effect (linear and quadratic) of time on the concentration of curcumin incorporated was observed, without effect of the pressure, according to Pareto analysis. However, a tendency to increase the concentration of curcumin incorporated in oysters in the higher-pressure range and longer vacuum times was observed through the contour curve. pH of oysters decreased after incorporation of curcumin, and there was a significant increase in water activity value and significant difference in the moisture content and water-holding capacity of curcumin samples under the conditions studied.

Keywords: oysters, curcumin, vacuum infusion.

3.1 Introdução

A comercialização e consumo de ostras na sua forma *in natura*, restringe o comércio deste produto devendo ser consumida em até 3 dias quando mantida sob temperatura de refrigeração (PORTELLA, 2005; RAMOS, 2007; MIOTTO, 2012). Este curto período de vida útil impede que o produto seja comercializado no varejo, considerado o canal comercial mais importante de gêneros alimentícios (SANTOS et al., 2017).

Processos para aumento da vida útil de ostras são de grande importância econômica por razões que incluem a possibilidade de transporte a longas distâncias, novos mercados consumidores, redução de perdas devido a deterioração e a conveniência para as indústrias, restaurantes e consumidores (GENIGEORGIS, 1985).

O uso de processos combinados como tratamento térmico brando e solubilização de CO₂ previamente ao uso de atmosfera modificada (SGS) foi estudado por Soares et al. (2015), o uso de processos combinados inativou *Vibrios* spp presentes em ostras e retardou o desenvolvimento de mesófilos e psicrotróficos totais por 31 dias de armazenamento.

A curcumina por sua capacidade antimicrobiana e ao mesmo tempo suas propriedades terapêuticas (AGGARWAL; HARIKUMAR, 2009) foi utilizada no presente estudo como alternativa para aumentar a vida útil de ostras.

O uso de pressões inferiores a pressão atmosférica (pressões de vácuo) para incorporação de compostos ativos em alimentos, tem mostrado bons resultados, principalmente em matrizes porosas, pois a

utilização de gradientes de pressão acelera o processo de incorporação, sem alteração significativa na estrutura do alimento (RODRIGUES, 2013; LIMA, 2014). Neste contexto, o objetivo deste estudo foi determinar o efeito dos parâmetros de processo, pressão e tempo de vácuo na concentração de curcumina incorporada em ostras (*Crassostrea gigas*) e avaliar o efeito da pressão na atividade de água, capacidade de retenção de água, umidade e textura das ostras, e o efeito da curcumina incorporada no pH das ostras.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Matéria-Prima

As ostras *in natura* utilizadas no presente estudo foram adquiridas de um produtor local, no bairro Sambaqui, Florianópolis/SC, oriundas das sementes doadas pelo Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (LMM - UFSC).

3.2.2 Processamento de ostras e incorporação a vácuo de curcumina

As ostras foram lavadas em água corrente potável para a remoção das sujidades presentes na superfície das conchas. Posteriormente, 7 kg de ostras foram submetidas ao tratamento térmico em vapor fluente a 100 °C por 15 minutos (SOARES et al., 2015). Em seguida, foram resfriadas a 4 °C por 10 minutos e desconchadas, seguido do acondicionamento a 4 °C por 2 horas. A incorporação de curcumina nas ostras foi realizada a pressões subatmosféricas nas condições descritas na Tabela 3.1, a 4 °C. O processo utilizado está apresentado no fluxograma da Figura 3.1.

Delineamento experimental

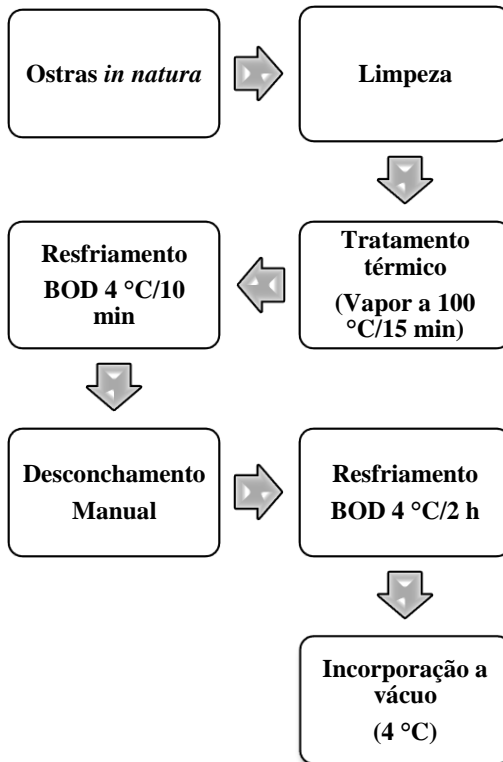
Para estudar o efeito combinado das variáveis pressão de vácuo versus período de vácuo na concentração de curcumina incorporada nas ostras, utilizou-se o Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR), aleatorizado 2^2 com 4 pontos axiais e 4 pontos centrais. Os níveis pressão e tempo de vácuo estão apresentados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Matriz do planejamento experimental.

| Variáveis | Níveis | | | | |
|----------------|--------|----|-----|-----|-------|
| | -1,41 | -1 | 0 | +1 | +1,41 |
| Pressão (mbar) | 30 | 50 | 100 | 150 | 170 |
| Tempo (min) | 3 | 5 | 10 | 15 | 17 |

Fonte: Autor (2017).

Figura 3.1 - Fluxograma do processo de incorporação a vácuo de curcumina em ostras.



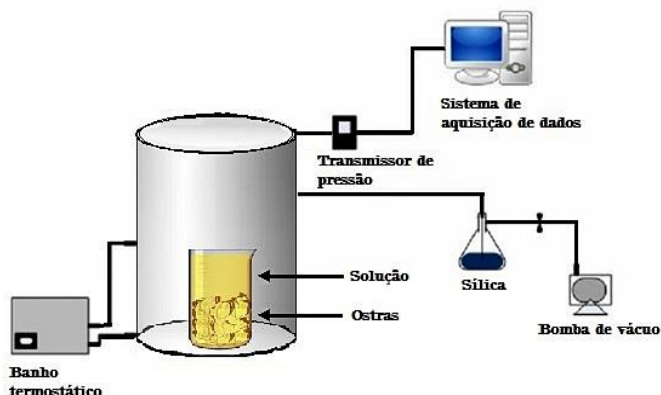
Fonte: Autor (2017).

3.2.3 Aparato experimental para incorporação a vácuo de curcumina

O aparato experimental utilizado para incorporação da curcumina a vácuo, é constituído de uma câmara de aço inoxidável em formato

cilíndrico, com volume interno de $0,014 \text{ m}^3$, no interior da câmara introduziu-se um bquer (2 L) contendo 400 g de ostras e a solução de curcumina, na proporção 1:1 (massa de ostra:massa de solução). A câmara foi conectada a uma bomba de vácuo (Vacuubrand, RZ 6, Alemanha) e a um *trapping* contendo esferas de sílica gel, como mostrado na Figura 3.2.

Figura 3.2 - Aparato experimental para incorporação a vácuo de curcumina em ostras.



Fonte: Adaptado de Lima (2014).

A temperatura do processo de $4 \text{ }^\circ\text{C}$ foi mantida através da circulação de água usando um banho termostatizado (Quimis, 6214m2, Brasil). No interior da câmara foi introduzido um termopar do tipo J (Ferro-constantan, Salvi Casagrande, Brasil), um transdutor de pressão relativa (Velki, IT-TR, 4-20 mA, Brasil) e um vacuômetro (Edwards, APG100-XM), conectados a um sistema de aquisição de dados (Agilent, Data Acquisition 34970A, EUA), acoplado em um computador que armazena os dados através do software Benchlink Data Logger 3.0 (Agilent, 2009).

3.2.4 Solução de curcumina

Inicialmente utilizou-se três soluções de curcumina testes no processo de incorporação. Uma solução de curcumina em tween 80-água (Synth) 2 % de tween 80 na solução, uma solução de curcumina em etanol (Neon, 99,8 %) 3,75 % em álcool na solução, e uma solução de

curcumina em vinho branco (Chardonnay 13%) 3,75 % em álcool na solução. Em todas as soluções a concentração de curcumina foi de 130 µg/mL de solução. As soluções testes foram preparadas adicionando curcumina em pó (Neon, 96 %) em solventes: etanol, vinho branco tipo chardonnay, e tween 80-água (2,00 % v/v), posteriormente completou-se o volume final (400 mL) com água destilada para as soluções de etanol e vinho branco. As soluções foram homogeneizadas em agitador magnético (Dist, IST) por 15 minutos a temperatura ambiente para completa solubilização da curcumina. A composição das soluções está descrita na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Soluções testes para incorporação a vácuo de curcumina.

| SOLUÇÕES | COMPOSIÇÃO | | | | | |
|--------------------------|-------------|---------------------|----------------|-------------------------|---------------------------|------------------|
| | *CUR (g) | Tween 80 (mL) | Etanol (mL) | Vinho branco (mL) | Água destilada (mL) | % (v/v) ** |
| CUR - tween 80 | 0,052 | 8,00 | - | - | 392,00 | 2,00 |
| CUR - etanol | 0,052 | - | 15,00 | - | 385,00 | 3,75 |
| CUR - vinho branco | 0,052 | - | - | 115,40 | 284,60 | 3,75 |

*CUR: curcumina. ** Porcentagem em relação a água destilada-etanol, água destilada-vinho branco e água destilada-tween 80. Fonte: Autor (2017).

3.2.4.1 Análise de cor

Para a medida de cor das amostras, utilizou-se um colorímetro (Minolta Chroma Meter CR-400, Konica Minolta, Osaka, Japan), ajustado para operar com iluminante D65 e ângulo de observação de 2°, previamente calibrado. De acordo com a escala, L* (luminosidade, 0 a 100 preto ao branco), e as coordenadas de cromaticidade a* e b*. As leituras dos parâmetros a* e b* permitiram calcular o ângulo Hue, chroma e a diferença global da cor (ΔE). As leituras foram realizadas no corpo das ostras, e a média dos valores de 5 ostras em triplicata foram consideradas para a análise estatística. A análise foi realizada no Laboratório de Frutas e Hortaliças (LFH), no Centro De Ciências Agrárias (CCA) da UFSC.

3.2.5 Determinação da concentração de curcumina

A determinação da concentração de curcumina incorporada nas ostras, foi realizada por extração alcoólica convencional do soluto das ostras, em triplicata. 8 ± 1 g de ostras inteiras foram imersas em 20 mL de etanol (Neon, 99,8%), em um tubo falcon, ao abrigo da luz, a temperatura ambiente (23 °C) por 5 horas, condições estabelecidas em testes experimentais preliminares. A solução de curcumina extraída das ostras foi centrifugada (Quimis, Q222T) a 5000 rpm por 10 minutos e a absorbância foi determinada pela leitura do sobrenadante no espectrofotômetro (Quimis, Q898U2M5) a 425 nm, e comparada com uma curva de calibração previamente construída em triplicata. A curva de calibração apresentou boa linearidade nas concentrações de 0,90 a 7,30 µg de curcumina/mL de etanol, descrita pela equação $y=8,163x-0,593$ ($R^2=0,9992$), que corresponde a concentração de curcumina (µg/mL) e x a absorbância.

3.2.6 Caracterização físico-química das ostras após a incorporação de curcumina

As propriedades físico-químicas das ostras após tratamento térmico sem curcumina (controle) e após o processo de incorporação a vácuo foram avaliadas através das análises de: pH, atividade de água (a_w), umidade, capacidade de retenção de água (CRA) e análise do perfil de textura (TPA). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

3.2.6.1 pH

O pH das ostras foi medido diretamente no alimento com um pHmetro de sólidos (Testo 205) composto por uma sonda para medição do pH e temperatura.

3.2.6.2 Atividade de água

A atividade de água das ostras foi determinada por meio de um higrômetro com controle interno de temperatura (Aqualab, Decagon Devices). Após a calibração do equipamento, $4,0 \pm 0,5$ g de amostra trituradas foram colocadas no aparelho e a leitura realizada a temperatura de 25 °C.

3.2.6.3 Umidade

O conteúdo de umidade das ostras foi determinado conforme o método 925.09 da AOAC, (2000). 5,0 ± 0,5 g de ostra foram colocadas em cápsulas de porcelana taradas previamente, aquecidas em estufa a 105 °C por 1 hora, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e pesadas em balança analítica (Marte, Ay220). Após as cápsulas foram colocadas em estufa a 105 °C por 24 horas, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente, e novamente pesadas.

3.2.6.4 Capacidade de retenção de água (CRA)

A capacidade das ostras em reter sua água de constituição após o processamento foi determinada utilizando um método descrito por Desmond et al. (2000), modificado. 10,0 ± 0,5 g de ostras foram envolvidas em gaze e centrifugadas em tubo de polipropileno de 50 mL (contendo uma parcela de algodão ao fundo) a 7000 rpm por 10 minutos, a 3 °C em ultra centrífuga. As amostras foram pesadas antes e após a centrifugação e a CRA foi calculada conforme a Equação 3.1:

$$CRA = \frac{(m_a * X_w) - (m_a - m_d)}{m_a(1 - X_w)} \quad (3.1)$$

Onde, m_a é a massa da amostra antes da centrifugação (g), m_d é a massa da amostra após a centrifugação (g), X_w é o teor de umidade da amostra antes da centrifugação (g de água/g de amostra) e CRA é a capacidade de retenção de água (g de água/g de amostra seca).

3.2.6.5 Análise do perfil de textura (TPA)

A análise do perfil de textura foi realizada com uma probe plana circular de 50 mm de diâmetro acoplada ao texturômetro (Stable Micro System, TA.XT2i, Inglaterra). Durante o ensaio, cinco ostras foram comprimidas individualmente por duas vezes consecutivas até atingir 50% da sua altura a uma velocidade de 1 mm.s⁻¹, simulando-se o movimento da mandíbula durante a mastigação (BOURNE, 1982). A partir da análise das curvas de força *versus* tempo fornecido pelo equipamento foi possível determinar a dureza das ostras (BOURNE, 2002). A média dos valores para cada amostra foi considerada para a análise estatística.

3.2.7 Análise estatística

O tratamento estatístico dos dados obtidos foi realizado com auxílio do *software* STATISTICA, versão 10.0, através da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 95 % de confiança a partir do planejamento experimental.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Processo de incorporação da curcumina

Inicialmente a incorporação da curcumina foi realizada a pressão de 50 mbar por 10 minutos (ANDRÉS-BELLO et al., 2014), como teste para avaliar se o processo era eficaz para incorporar curcumina no interior dos poros das ostras. Não foram encontrados trabalhos na literatura que reportem o uso de soluções não osmóticas para incorporação de soluto a vácuo em moluscos. Devido à baixa solubilidade da curcumina em água (0,6 µg/mL), foram testadas três soluções para incorporação a vácuo. As soluções testadas apresentaram concentração de 130 µg/mL, limite de dissolução da curcumina em vinho branco tipo chardonnay, assim utilizou-se a mesma concentração inicial de curcumina para todas as soluções.

A diferença global da cor (ΔE) mostra que as ostras incorporadas com solução curcumina-vinho branco tipo chardonnay (D) não apresentaram diferença significativa em relação a amostra controle (A) ($p < 0,05$). Ostras incorporadas com solução curcumina-tween 80 (B) e solução curcumina-etanol (C), apresentaram diferença significativa no valor de ΔE (Tabela 3.3).

De acordo com a escala para valores de ΔE , proposta por Young e Whittle (1985), amostras com variação entre 0 e 0,2 são indiferentes, 0,2-0,5 pouca diferença, 0,5-1,5 diferença média, 1,5-3,0 distintas, 3,0-6,0 muito distintas, e >12 grande diferença. Assim, a amostra controle e com solução de vinho branco apresentaram média diferença global da cor. Os resultados são confirmados pelo ângulo hue (H°) e a cromaticidade (C^*), não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre a amostra controle e incorporada com solução curcumina-vinho branco.

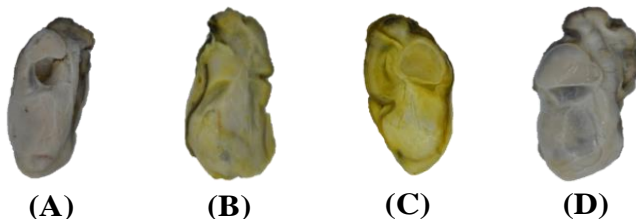
Tabela 3.3 - Parâmetros de cor para ostras com e sem incorporação a vácuo de curcumina em diferentes soluções.

| Tratamentos | Parâmetros | | |
|-------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | H° | C* | ΔE |
| A | 83,59 ± 3,26 ^a | 12,18 ± 0,77 ^a | 2,13 ± 0,03 ^a |
| B | 96,34 ± 1,21 ^b | 15,42 ± 0,96 ^b | 3,93 ± 0,35 ^b |
| C | 96,11 ± 1,04 ^b | 28,51 ± 1,26 ^c | 16,66 ± 0,23 ^c |
| D | 85,22 ± 2,88 ^a | 12,15 ± 0,84 ^a | 2,81 ± 0,21 ^a |

A: ostras sem curcumina (controle), ostras incorporadas com: solução curcumina-tween 80 (B), solução curcumina-etanol (C), solução curcumina-vinho branco (D). Os valores que apresentam a mesma letra em uma mesma coluna não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey. Fonte: Autor (2017).

A coloração da superfície das ostras após a incorporação de curcumina para todas as soluções testadas e para a amostra controle pode ser observada na Figura 3.3. A solução curcumina-vinho branco tipo chardonnay, foi escolhida para a realização das demais etapas do estudo devido à semelhança visual com a amostra controle de ostras, sem alteração da aparência, evidenciando-se que a incorporação ocorreu no interior dos poros.

Figura 3.3 - Ostras após incorporação a vácuo de curcumina em diferentes soluções.



A: ostras sem curcumina (controle), ostras incorporadas com: solução curcumina-tween 80 (B), solução curcumina-etanol (C), solução curcumina-vinho branco (D). Fonte: Autor (2017).

3.3.2 Determinação dos parâmetros do processo de incorporação a vácuo de curcumina em ostras

A partir do planejamento experimental do tipo 2² com 4 pontos centrais e 4 pontos axiais, o efeito das condições operacionais do processo (pressão e tempo) na concentração de curcumina incorporada em ostras, foi determinado, como mostrado na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 - Matriz do planejamento experimental com as respostas em termos da concentração de curcumina incorporada.

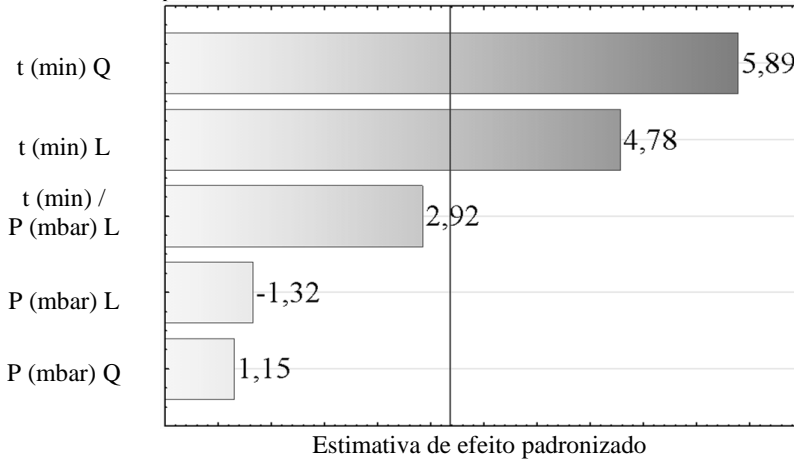
| P (mbar) | t (min) | [CUR] µg/g |
|-----------------|----------------|-----------------------------|
| -1 (50) | -1 (5) | 9,62 ± 0,66 ^{a,b} |
| -1 (50) | +1 (15) | 9,44 ± 1,49 ^{a,b} |
| +1 (150) | -1 (5) | 6,81 ± 0,08 ^a |
| +1 (150) | +1 (15) | 10,73 ± 0,87 ^{b,c} |
| -1,41 (30) | 0 (10) | 8,97 ± 0,53 ^{a,b} |
| +1,41 (170) | 0 (10) | 8,19 ± 1,77 ^{a,b} |
| 0 (100) | -1,41 (3) | 9,16 ± 0,97 ^a |
| 0 (100) | +1,41 (17) | 13,23 ± 0,03 ^c |
| 0 (100) | 0 (10) | 6,89 ± 0,44 ^{a,b} |
| 0 (100) | 0 (10) | 8,38 ± 0,04 ^{a,b} |
| 0 (100) | 0 (10) | 7,87 ± 0,22 ^{a,b} |
| 0 (100) | 0 (10) | 7,05 ± 0,74 ^a |

P: pressão; t: tempo; [CUR]: concentração de curcumina. Os valores que apresentam a mesma letra em uma mesma coluna não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey. Fonte: Autor (2017).

A relação pressão e tempo de vácuo no processo apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$) para a concentração de curcumina incorporada nas ostras, sendo a maior concentração obtida (13,23 µg/g) à pressão de 100 mbar e tempo de processo de 17 minutos.

A Figura 3.4, mostra os efeitos linear (L) e quadrático (Q) das variáveis: pressão e tempo de vácuo e suas interações sobre a concentração de curcumina incorporada em ostras. Assim, observa-se que a variável tempo de vácuo (L, Q) apresentou efeito positivo significativo na concentração de curcumina incorporada. O mesmo comportamento foi relatado por Bellary et al. (2011) que exploraram o tratamento osmótico como um método para infundir curcuminóides em fatias de coco, e constataram que o tempo afetou significativamente a concentração impregnada, e a maior incorporação de curcuminóides foi alcançada com solução não osmótica (0%).

Figura 3.4 - Efeito das variáveis tempo e pressão de vácuo na concentração de curcumina incorporada em ostras através da análise de Pareto.

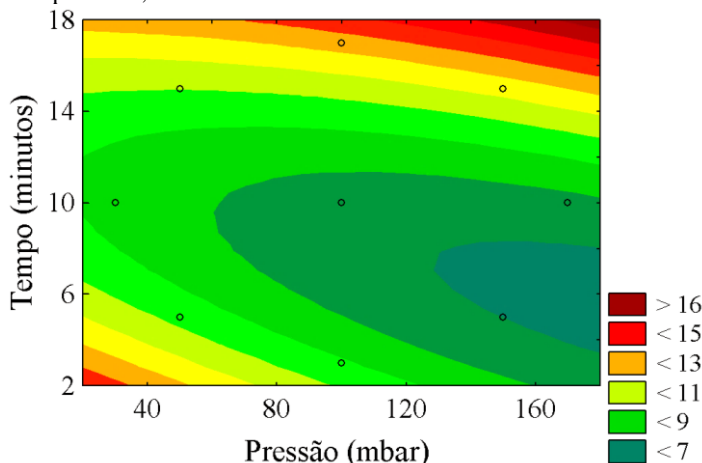


Fonte: Autor (2017).

A variável pressão de vácuo (L, Q) não teve efeito positivo significativo na concentração de curcumina incorporada. Schmidt (2006), no estudo da impregnação de solução salina em cortes de frango, verificou que a intensidade de vácuo (10 a 200 mmHg) não influenciou significativamente o ganho de sal utilizando solução osmótica de NaCl a 10%, houve aumento apenas no ganho de água, nas menores pressões.

A curva de contorno apresentada na Figura 3.5, mostra o efeito do aumento da concentração de curcumina nas ostras com aumento da pressão de vácuo e tempos mais longos de processo, corroborado com as maiores concentrações de curcumina obtidas, a 100 mbar por 17 minutos e 150 mbar por 15 minutos.

Figura 3.5 - Concentração de curcumina em ostras em função da pressão e do tempo de processo, curva de contorno.



Fonte: Autor (2017).

A partir dos resultados obtidos, optou-se pela pressão de 200 mbar e tempo de 20 minutos para as próximas etapas do estudo, por apresentar melhor facilidade de trabalho.

3.3.3 Caracterização físico-química das ostras após a incorporação a vácuo de curcumina

A Tabela 3.5, mostra que, imediatamente após o processo, houve decréscimo do pH das ostras em todos os tratamentos, quando comparada a amostra controle, apresentando diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$). A diminuição do pH das ostras está associada ao baixo pH da solução de curcumina usada ($\text{pH} = 3,40$). Não há na literatura relatos de estudos semelhantes. O valor encontrado para o pH das ostras após tratamento térmico (6,59) está de acordo com o valor obtido por Lima et al. (2016) para mexilhões cozidos (6,50) e abaixo do valor obtido por Soares et al. (2015) para ostras cozidas (6,71), assim o pH das ostras é considerado aceitável.

O conteúdo de umidade e a_w das ostras apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras submetidas a diferentes condições de processo. A a_w das ostras após o processo de incorporação aumentou, provavelmente devido ao preenchimento dos poros da ostra pela solução não osmótica de curcumina incorporada. A umidade

apresentou valor médio de 80,04 %. Cruz-Romero et al. (2008) relataram valores de umidade próximos a 84,00 % e a_w de 0,988 para ostras tratadas em alta pressão. Soares et al. (2015) obtiveram valores médios de umidade para ostras de 73,00 % e a_w de 0,986, para ostras solubilizadas em CO₂ previamente ao uso de atmosfera modificada (SGS). As diferenças entre os valores do teor de umidade reportados na literatura e no presente estudo se devem à variabilidade da amostra, e os processos empregados. É desejável que o processo não altere a umidade das ostras, pois a perda de água está relacionada com a maior rigidez do produto (LIMA et al., 2016).

Os resultados da CRA de ostras submetidas à incorporação de curcumina em diferentes pressões e tempos, apresentaram variação entre os tratamentos ($p < 0,05$), no entanto não foi observada maior perda de água nas ostras após aplicação de vácuo. É desejável em produtos de pescado alta retenção de água, porque resulta em melhores características de textura, suculência, cor e sabor. Os produtos com baixa capacidade de retenção acumulam exsudado que se tornam um critério de rejeição pelo consumidor (SKIPNES et al., 2007).

Tabela 3.5 - pH, a_w , umidade e CRA de ostras submetidas a incorporação a vácuo de curcumina.

| P(mbar) | t(min) | pH | a_w | Umidade (%) | CRA (g H₂O retida/g matéria seca) |
|----------------|---------------|----------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---|
| 0* | 0* | 6,59 ± 0,01 ^a | 0,983 ± 0,001 ^{a,b} | 81,66 ± 0,36 ^a | 2,49 ± 0,03 ^{a,b,c} |
| -1(50) | -1(5) | 6,52 ± 0,03 ^{a,b} | 0,992 ± 0,002 ^d | 80,60 ± 0,87 ^{a,b,c} | 2,08 ± 0,26 ^{a,b} |
| -1(50) | +1(15) | 6,49 ± 0,03 ^{b,c} | 0,994 ± 0,001 ^d | 80,28 ± 0,72 ^{a,b,c} | 2,06 ± 0,13 ^{a,b} |
| +1(150) | -1(5) | 6,31 ± 0,05 ^e | 0,989 ± 0,002 ^{c,d} | 79,30 ± 0,53 ^{b,c,d} | 2,23 ± 0,19 ^{a,b,c} |
| +1(150) | +1(15) | 6,29 ± 0,03 ^e | 0,992 ± 0,000 ^d | 78,10 ± 0,37 ^{d,e} | 2,02 ± 0,16 ^a |
| -1,41(30) | 0(10) | 6,30 ± 0,04 ^e | 0,993 ± 0,002 ^d | 81,29 ± 0,37 ^{a,b} | 2,60 ± 0,09 ^c |
| 1,41(170) | 0(10) | 6,31 ± 0,03 ^e | 0,992 ± 0,003 ^d | 79,00 ± 0,98 ^{c,d} | 2,01 ± 0,11 ^a |
| 0(100) | -1,41(3) | 6,45 ± 0,02 ^{c,d} | 0,989 ± 0,001 ^{b,c,d} | 81,23 ± 0,78 ^{a,b} | 2,53 ± 0,11 ^{b,c} |
| 0(100) | 1,41(17) | 6,33 ± 0,04 ^e | 0,990 ± 0,001 ^{c,d} | 80,72 ± 0,83 ^{a,b,c} | 2,32 ± 0,14 ^{a,b,c} |
| 0(100) | 0(10) | 6,39 ± 0,05 ^d | 0,980 ± 0,001 ^a | 76,82 ± 0,32 ^e | 2,05 ± 0,10 ^{a,b} |
| 0(100) | 0(10) | 6,41 ± 0,03 ^d | 0,983 ± 0,001 ^a | 79,05 ± 0,33 ^{b,c,d,e} | 2,17 ± 0,04 ^{a,b,c} |
| 0(100) | 0(10) | 6,42 ± 0,06 ^d | 0,985 ± 0,002 ^{a,b,c} | 80,96 ± 0,69 ^{a,b,c} | 2,40 ± 0,03 ^{a,b,c} |
| 0(100) | 0(10) | 6,41 ± 0,05 ^d | 0,985 ± 0,004 ^{a,b,c} | 79,84 ± 0,16 ^{a,b,c,d} | 2,11 ± 0,11 ^{a,b,c} |

Os valores que apresentam a mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey. *Tratamento controle: ostras após tratamento térmico sem curcumina. Fonte: Autor (2017).

A dureza do corpo e do músculo adutor das ostras não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle após o processo de incorporação a vácuo de curcumina nas diferentes pressões estudadas, demonstrando-se que o processo não alterou a estrutura do alimento, conforme a Tabela 3.6.

Tabela 3.6 - Propriedades mecânicas de dureza do corpo e músculo adutor de ostras após tratamento térmico e incorporação a vácuo de curcumina.

| P (mbar) | t (min) | Dureza (N) | |
|-----------|----------|----------------------------|-----------------------------|
| | | Corpo | Músculo adutor |
| 0* | 0* | 85,66 ± 7,15 ^a | 121,96 ± 11,58 ^a |
| -1(50) | -1(5) | 66,18 ± 19,79 ^a | 145,32 ± 45,60 ^a |
| -1(50) | 1(15) | 70,24 ± 4,96 ^a | 105,04 ± 29,21 ^a |
| 1(150) | -1(5) | 79,91 ± 13,64 ^a | 125,26 ± 6,35 ^a |
| 1(150) | 1(15) | 82,37 ± 14,46 ^a | 93,49 ± 17,33 ^a |
| -1,41(30) | 0(10) | 88,89 ± 24,92 ^a | 110,89 ± 15,06 ^a |
| 1,41(170) | 0(10) | 63,11 ± 12,45 ^a | 151,50 ± 25,26 ^a |
| 0(100) | -1,41(3) | 73,85 ± 13,56 ^a | 79,22 ± 12,13 ^a |
| 0(100) | 1,41(17) | 80,60 ± 6,42 ^a | 92,99 ± 1,81 ^a |
| 0(100) | 0(10) | 151,52 ± 4,48 ^b | 245,00 ± 1,96 ^b |
| 0(100) | 0(10) | 83,21 ± 22,42 ^a | 113,63 ± 26,65 ^a |
| 0(100) | 0(10) | 96,60 ± 27,24 ^a | 103,39 ± 8,88 ^a |
| 0(100) | 0(10) | 70,90 ± 14,95 ^a | 89,19 ± 5,57 ^a |

Os valores na mesma coluna com letras iguais não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey. Tratamento controle: ostras após tratamento térmico sem curcumina. Fonte: Autor (2017).

A textura das ostras foi medida através da dureza do corpo e músculo adutor, estando relacionada a quantidade de água presente na ostra. Quando comparada ao controle, ostras cozidas e incorporadas de curcumina mostraram variação, sem apresentar um comportamento definido.

3.4 Conclusões

Curcumina foi incorporada nos poros das ostras usando pressões de vácuo. Soluções curcumina-tween 80, curcumina-vinho branco e curcumina-etanol foram utilizadas no processo de incorporação a vácuo e a solução curcumina-vinho branco tipo chardonnay resultou em ostras visualmente semelhantes a amostra controle. A variável tempo mostrou efeito positivo significativo (L, Q) na concentração de curcumina incorporada durante o processo e não houve efeito significativo da

pressão. O pH das ostras contendo curcumina diminuiu e houve aumento da a_w , devido a incorporação da solução no interior dos poros da ostra, e diferença significativa na umidade e capacidade de retenção de água. A partir desses resultados, conclui-se que a curcumina pode ser incorporada em ostras usando pressões subatmosféricas.

3.5 Referências Bibliográficas

AGGARWAL, B. B.; HARIKUMAR, K. B. Potential therapeutic effects of curcumin: the anti-inflammatory agent against neurodegenerative cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 41, p. 40-59, jul.2009.

ANDRÉS-BELLO, A.; DE JESÚS, C.; GARCÍA-SEGOVIA, P.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; PAGÁN-MORENO, M. J. Vacuum impregnation as a tool to introduce biopreservatives in gilthead sea bream fillets (*Sparus aurata*). **Food Science and Technology**, v. 60, n.2, p.758-765, 2014.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17 th Edition, Revision, Gaithersburg, 2000.

BELLARY, A. N.; SOWBHAGYA, H. B.; RASTOGI, N. K. Osmotic dehydration assisted impregnation of curcuminoids in coconut slices. **Journal of Food Engineering**, India, v. 105, 3, p. 453-459, ago. 2011.

BOURNE, M. C. **Chapter 3 – Physics and Texture**. Food Texture and Viscosity, 2a ed. P. 59-106, 1982.

BOURNE, M. C. **Chapter 3 – Physics and Texture. Food Texture and Viscosity, Concept and Measurement**. Food Science and Technology, 2a ed. p.59-106, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal RIISPOA. Brasília, DF, 1980. 165 p.

CRUZ-ROMERO, M. C.; KERRY J. P.; KELLY, A. L. Fatty acids, volatile compounds and colour changes in high-pressure-treated oysters

(*Crassostrea gigas*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. n. 9, p. 54-61, jan. 2008.

DESMOND, E. M.; KENNY, T. A.; WARD, P.; SUN, D. W. Effect of rapid and conventional cooling methods on the quality of cooked ham joints. **Meat Science**, v. 56, p. 271-277, nov. 2000.

GENIGEORGIS, C. A. Microbial and safety implications of the use of modified atmosphere to extend the storage life of fresh meat and fish. **International Journal of Food Microbiology**, v. 1, n. 5, p. 237-251, mar. 1985.

LIMA, M. M. **Propriedades físico-químicas e de textura de abacaxi (var. Pérola) desidratado enriquecido com cálcio por impregnação a vácuo**. 2014, 124 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

LIMA, M.; SIGA, C.; LEITEMPERGHER, F.; LERIN, L. A.; SOARES, L. S.; TOSATI, J. V.; RODRIGUES, N. B.; MONTEIRO, A. R. Mussel (*Perna perna*) Processing by an Alternative Method and Packaging Under Modified Atmosphere to Improve Physicochemical and Microbiological Characteristics. **Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 3, p. 1-9, jun. 2016.

MIOTTO, M. **Recomendações para um programa de Boas Práticas de Fabricação aquícolas em cultivos de ostras (*Crassostrea gigas*)**. 2012, 152 f. Dissertação (mestrado em ciência dos alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

PORTELLA, C. D. G. **Avaliação da qualidade da ostra nativa *Crassostrea brasiliiana* congelada em concha em função da composição química e análise sensorial**. 2005, 66 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

RAMOS, R. J. **Monitoramento bacteriológico de águas do mar e ostras (*Crassostrea gigas*) em áreas de cultivo na baía Sul da Ilha de Santa Catarina**. 2007, 86f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RODRIGUES, M. Z. **Impregnação a vácuo de micro-organismos probióticos em goiaba minimamente processada**. 2013, 82f. Mestrado

(Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SANTOS, A. A. DOS; MARCHIORI, N. C.; GIUSTINA, E. G. D. **Síntese Informativa da Maricultura**. EPAGRI, Florianópolis, 2016. Disponível em: <<http://www.epagri.sc.gov.br/wp-content/uploads/2013/08/Sintese-informativa-da-maricultura-2016.pdf>>. Acesso em: 15 de dezembro de 2017.

SKIPNES, D.; ØSTBY, M. L.; HENDRICKX, M. E. A method for characterising cook loss and water holding capacity in heat treated cod (*Gadus morhua*) muscle. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 1078-1085, jun. 2007.

SOARES, L.; TOSATI, J. V.; LIMA, M. De.; LERIN, L. A.; MONTEIRO, A. R. Evaluation of CO₂ absorption and desorption rate in oysters (*Crassostrea gigas*) using the soluble gas stabilization method. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 5, p. 1089-1094, mai. 2015.

SCHMIDT, F. C. **Estudo das trocas de massa durante o tratamento de cortes de peito de frango com soluções salinas**. 2006, 89f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis.

SCHMIDT, F.C; CARCIOFI, B. A. M, LAURINDO, J. B. Efeito da impregnação a vácuo na transferência de massa durante o processo de salga de cortes de peito de frango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 366-372, 2008.

YOUNG, K.W.; WHITTLE, K. Colour measurement of fish minces using Hunter L, a, and b values. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 36, p. 383-392, jun.1985.

CAPÍTULO 4 - INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE CURCUMINA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DE OSTRAS (*Crassostrea gigas*)

Resumo

A curcumina é um composto polifenólico, que possui propriedades benéficas à saúde, com comprovada ação antimicrobiana. O objetivo do presente estudo foi determinar o efeito da concentração de curcumina em ostras para retardar o desenvolvimento de bactérias mesófilas e psicrotróficas totais, e avaliar a influência nas características físico-químicas. Ostras após tratamento térmico foram imersas em uma solução de curcumina-vinho branco tipo chardonnay (3,75% em álcool) com concentração inicial de 130 µg/mL, submetidas a pressão de 200 mbar (vácuo) por 20 minutos (4 °C), dispostas em bandejas de poliestireno com absorvedor de umidade, revestidas de filme flexível multicamada, acondicionadas em ar sintético (20% O₂/80% N₂), e armazenadas a 4 °C por 14 dias. Houve mudanças nas características físico-químicas das ostras após o processo de incorporação a vácuo de curcumina. A concentração de curcumina incorporada 27,30 µg/g, retardou o desenvolvimento de bactérias mesófilas e psicrotróficas totais no período analisado, e o odor característico de ostras cozidas foi conservado, corroborado com o baixo teor de bases voláteis totais. Em termos microbiológicos a concentração de curcumina proporcionou aumento na vida útil das ostras de 7 dias (sem curcumina) para 14 dias (com curcumina). Os resultados obtidos mostram o potencial da curcumina como agente antimicrobiano na conservação de ostras.

Palavras-chave: ostras, curcumina, armazenamento.

Abstract

Curcumin is a polyphenolic compound, which has benefit health properties and antimicrobial effect. The objective of the present study was to determine the curcumin concentration on oysters to inhibit development of total mesophilic and total psychrotrophic bacteria. Also, was evaluated the influence of curcumin on the physicochemical characteristics oysters. After heat treatment, shelled oysters were immersed in solution of curcumin (130 µg/mL of solution)-chardonnay white wine (3.75% in alcohol). Vacuum curcumin infusion in oysters was performed at 200 mbar (vacuum) for 20 min at 4 °C, placed in polystyrene package with moisture absorbent, coated with flexible multilayer film, conditioned in synthetic air (20% O₂ / 80% N₂) for 14 days, at 4 °C. There were changes on the physicochemical

characteristics of the oysters after the curcumin infusion by vacuum process. 27.30 µg/g of samples of curcumin incorporated was enough to inhibit the development of total mesophilic and total psychrotrophic bacteria in oysters during stored period. Cooked oyster's odor was smelled agree with content of total volatile bases date obtained. According with microbiological count curcumin incorporated in oysters increased their shelf life from 7 (without curcumin) to 14th days (with curcumin). These results confirm antimicrobial effect of curcumin and the possibility the application for conservation of oysters.

Keywords: oysters, curcumin, storage.

4.1 Introdução

O consumo de ostras apresenta potencial para atender algumas das necessidades nutricionais dos seres humanos, promovendo o desenvolvimento econômico da pesca (ASHIE et al., 1996). No entanto, as ostras possuem curta vida útil, associada a altos níveis de nitrogênio amoníaco livre, pH neutro e alta diversidade da microbiota, dominada por bactérias psicrotóxicas (MADIGAN et al., 2014; JAY, et al., 2005).

A curcumina é rica em composto fenólico, e tem aplicações em alimentos como corante natural em fatias de coco, fatias de banana e peixe defumado (BELLARY et al., 2016; KABA et al., 2016), como agente antimicrobiano natural em cenouras minimamente processadas (SILVA et al., 2017), contra patógenos em carne moída (GUL; BAKHT, 2015), e na inibição de *Vibrio parahaemolyticus* em ostras (LIU et al., 2016).

Apesar do crescente interesse sobre a curcumina, as suas aplicações práticas são limitadas devido à sua baixa solubilidade em água e sensibilidade diante de condições alcalinas, tratamentos térmicos, luz, entre outros (SURESH et al., 2007). O uso de pressões de vácuo é uma alternativa para a introdução da curcumina na matriz alimentar, além de proporcionar proteção do composto à luz.

O processo de incorporação de solutos a vácuo é uma tecnologia não destrutiva que pode constituir-se em um novo método de processamento na conservação das ostras, a incorporação de compostos bioativos além de melhorar as propriedades relacionadas à saúde dos consumidores podem facilitar a produção de alimentos funcionais (BETORET et al., 2015; RADZIEJEWSKA et al., 2014).

Assim, a incorporação de curcumina em ostras cozidas surgiu como uma alternativa para aumentar o tempo de armazenamento das ostras sob refrigeração. Portanto, o objetivo deste estudo foi determinar

a concentração mínima de curcumina para inibir o desenvolvimento de mesófilos e psicrotróficos totais em ostras, e avaliar a influência da concentração de curcumina nas características físico-químicas e microbiológicas das ostras durante o período de estocagem sob refrigeração.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Matéria-Prima

As ostras *in natura* utilizadas no presente estudo foram adquiridas de um produtor local, no bairro Sambaqui, Florianópolis/SC, oriundas das sementes doadas pelo Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (LMM - UFSC).

4.2.2 Processamento de ostras e incorporação a vácuo de curcumina

As ostras foram lavadas em água corrente potável para a remoção das sujidades presentes na superfície das conchas. Posteriormente, 7 kg de ostras foram submetidas ao tratamento térmico em vapor fluente a 100 °C por 15 minutos (SOARES et al., 2015). Em seguida, foram resfriadas a 4 °C por 10 minutos e desconchadas, seguido do acondicionamento a 4 °C por 2 horas, de acordo com o fluxograma mostrado na Figura 4.1.

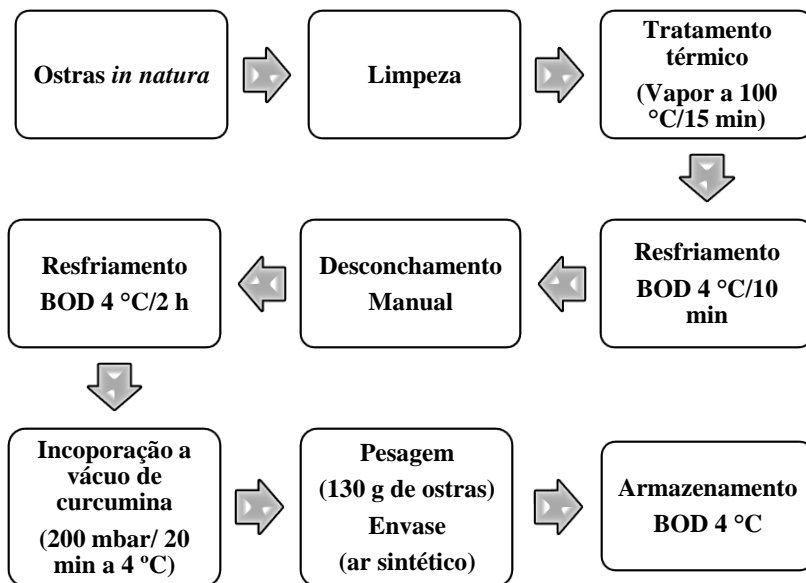
A incorporação de curcumina nas ostras foi realizada em condição subatmosférica à pressão de 200 mbar por 20 minutos. O aparato experimental (Figura 4.2) utilizado para incorporação de curcumina a vácuo, é constituído de uma câmara de aço inoxidável em formato cilíndrico, com volume interno de 0,014 m³, no interior da câmara introduziu-se um béquer (2 L) contendo 800 g de ostras e a solução curcumina-vinho branco tipo chardonnay (3,75% em álcool) com concentração inicial de 130 µg de curcumina/mL de solução, na proporção 1:1 (massa de ostra:massa de solução) a 4°C.

A câmara foi conectada a uma bomba de vácuo (Vacubrand, RZ 6, Alemanha) e a um *trapping* contendo esferas de sílica gel. A temperatura do processo de 4 °C foi mantida através da circulação de água usando um banho termostatzado (Quimis, 6214m2, Brasil). No interior da câmara foi introduzido um termopar do tipo J (Ferro-constantan, Salvi Casagrande, Brasil), um transdutor de pressão relativa (Velki, IT-TR, 4-20 mA, Brasil) e um vacuômetro (Edwards, APG100-XM), conectados a um sistema de aquisição de dados (Agilent, Data

Acquisition 34970A, EUA), acoplado em um computador que armazena os dados através do software Benchlink Data Logger 3.0 (Agilent, 2009).

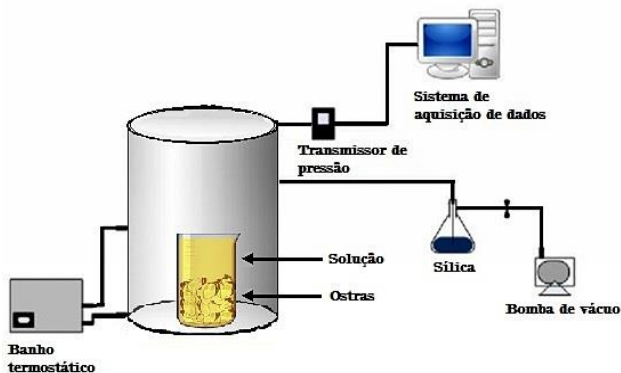
Após o processo de incorporação a vácuo, $130,00 \pm 1,00$ g de ostras com e sem curcumina (ostras após tratamento térmico), foram dispostas em bandejas de poliestireno sem absorvedor e com absorvedor de umidade, acondicionadas em embalagem de alta barreira, constituída de poliamidas, polietileno e polietileno modificado, espessura de 90 μm e taxa de permeabilidade ao O_2 (0 % UR/23 °C) de 55 $\text{cc}/\text{m}^2/\text{dia}$ sob condições atmosféricas (Spel Embalagens Ltda), e ar sintético (20% O_2 /80% N_2) (White Martins, Praxair INC), foi injetado com o uso de seladora à vácuo (Selovac, 200b-Brasil). As ostras foram armazenadas sob refrigeração a 4 °C.

Figura 4.1 - Fluxograma do processo de incorporação a vácuo de curcumina em ostras.



Fonte: Autor (2017).

Figura 4.2 - Aparato experimental para incorporação a vácuo de curcumina em ostras.



Fonte: Adaptado de Lima (2014).

4.2.3 Caracterização físico-química das ostras

As propriedades físico-químicas pH, atividade de água (a_w), umidade, análise do perfil de textura (TPA) e a perda de massa por exsudação das ostras foram avaliadas ao longo de 11 dias de armazenamento para ostras cozidas sem adição de curcumina e ao longo de 14 dias de armazenamento para ostras contendo curcumina (0, 4, 7, 11 e 14 dias). A capacidade de retenção de água (CRA) foi realizada após o tratamento térmico (ostras sem curcumina) e após a incorporação a vácuo de curcumina. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.3.1 pH

O pH das ostras foi medido diretamente no alimento com um pHmetro de sólidos (Testo 205) composto por uma sonda para medição do pH e temperatura.

4.2.3.2 Atividade de água

A atividade de água das ostras foi determinada por meio de um higrômetro com controle interno de temperatura (Aqualab, Decagon Devices). Após a calibração do equipamento, $4,0 \pm 0,5$ g de amostra triturada foram colocadas no aparelho e a leitura realizada a temperatura de 25 °C.

4.2.3.3 Umidade

O conteúdo de umidade das ostras foi determinado conforme o método 925.09 da AOAC, (2000), 5,0 ± 0,5 g de ostra foram colocadas em cápsulas de porcelana taradas previamente, aquecidas em estufa a 105 °C por 1 hora, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e pesadas em balança analítica (Marte, Ay220). Após as cápsulas foram colocadas em estufa a 105 °C por 24 horas, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente, e novamente pesadas.

4.2.3.4 Capacidade de retenção de água (CRA)

A capacidade das ostras em reter sua água de constituição após o processamento foi determinada utilizando um método descrito por Desmond et al. (2000), modificado. 10,0 ± 0,5 g de ostras foram envolvidas em gaze e centrifugadas em tubo de polipropileno de 50 mL (contendo uma parcela de algodão ao fundo) a 7000 rpm por 10 minutos e 3°C em ultra centrífuga. As amostras foram pesadas antes e após a centrifugação e a CRA foi calculada conforme a Equação 4.1:

$$CRA = \frac{(m_a * X_w) - (m_a - m_d)}{m_a(1 - X_w)} \quad (4.1)$$

Onde, m_a é a massa da amostra antes da centrifugação (g), m_d é a massa da amostra após a centrifugação (g), X_w é o teor de umidade da amostra antes da centrifugação (g de água/g de amostra) e CRA é a capacidade de retenção de água (g de água/g de amostra seca).

4.2.3.5 Análise do perfil de textura (TPA)

A análise do perfil de textura foi realizada com uma probe plana circular de 50 mm de diâmetro acoplada ao texturômetro (Stable Micro System, TA.XT2i, Inglaterra). Durante o ensaio, cinco ostras foram comprimidas individualmente por duas vezes consecutivas até atingir 50% da sua altura a uma velocidade de 1 mm.s⁻¹, simulando-se o movimento da mandíbula durante a mastigação (BOURNE, 1982). A partir da análise das curvas de força *versus* tempo fornecido pelo equipamento foi possível determinar a dureza das ostras (BOURNE, 2002). A média dos valores para cada amostra foi considerada para a análise estatística.

4.2.3.4 Perda de massa por exsudação

A perda de massa por exsudação foi determinada a partir do método gravimétrico. Para cada ensaio, a massa da amostra e do exsudado foram determinadas, e expressos em porcentagem (%), conforme sugerido por (SIVERTSVIK & BIRKELAND, 2006; LIMA et al., 2016).

4.2.4 Determinação da concentração de curcumina nas ostras

A determinação da concentração de curcumina incorporada nas ostras, foi realizada por extração alcoólica convencional do soluto, das ostras. $8,0 \pm 1,0$ g de ostras inteiras foram imersas em 20 mL de etanol P.A. (Neon, 99,8%), em um tubo falcon, ao abrigo da luz, a temperatura ambiente (23 °C), por 5 horas, condições estabelecidas em testes experimentais preliminares. A solução de curcumina extraída das ostras foi centrifugada (Quimis, Q222T) a 5000 rpm por 10 minutos e a absorbância foi determinada pela leitura do sobrenadante no espectrofotômetro (Quimis, Q898U2M5) a 425 nm e comparada com uma curva de calibração previamente construída em triplicata. A curva de calibração apresentou boa linearidade nas concentrações de 0,90 a 7,30 µg de curcumina/mL de etanol, descrita pela equação $y = 8,163x - 0,593$ ($R^2=0,9992$), que corresponde a concentração de curcumina (µg/mL) e x a absorbância. A extração foi realizada ao longo de 14 dias de armazenamento (0, 4, 7, 11 e 14 dias), em triplicata.

4.2.5 Caracterização microestrutural: microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As microscopias das ostras com e sem curcumina foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia (LCME), da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), através do microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM-6390LV, USA). As amostras foram cortadas em lâminas com auxílio de um bisturi, e liofilizadas (Liobras, Liotop L101, Brasil) por 24 horas para retirada da umidade residual. Após foram coladas em *stubs* de metal, recobertas com ouro e realizada a visualização das microscopias.

4.2.6 Avaliação microbiológica

A análise de *Vibrio* spp. foi realizada para ostras *in natura* e ostras cozidas com e sem curcumina, após o processo. De acordo com o método descrito em American Public Health Association (A.P.H.A.) (2001).

Análise de *Vibrio* spp.

Cerca de $25,0 \pm 0,5$ g de ostras foram adicionadas em 225 mL de água salina peptonada (3% NaCl), seguido de agitação em Stomacher (Interscience) por 60 segundos. Em seguida realizou-se as diluições em Água Salina Peptonada (3% NaCl), inoculando-se 1 mL das diferentes diluições em tubos de água peptona alcalina, incubados 35 ± 2 °C/24 horas. Após realizou-se estriamento em duplicata dos tubos turvos, em placas com cerca de 15 a 20 mL de meio TCBS (Ágar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose, Acumedia) solidificado. As placas foram incubadas invertidas a 35 ± 1 °C por 18-24 horas.

Ao completar 18 horas de incubação realizou-se a identificação bioquímica de *Vibrio parahaemolyticus*. Para isso, isolou-se uma colônia verde da placa de TCBS e introduziu-se em água salina peptona (3% NaCl), de maneira a se obter uma suspensão bacteriana com turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala Mac Farland. Inoculou-se 1 mL da suspensão em galerias de Bactray II (microrganismos Gram negativos oxidase negativa), e incubou-se por 18-24 horas a 35 ± 1 °C. Após incubação, realizou-se a leitura das reações e a confirmação dos resultados por meio do manual do fabricante.

Efeito de diferentes concentrações de curcumina na inibição do crescimento de mesófilos e psicotróficos totais em ostras

Para avaliar o efeito da concentração de curcumina no crescimento microbiano, utilizaram-se três condições de processo: 150 mbar por 5 minutos, 100 mbar por 17 minutos e 200 mbar por 20 minutos. O processamento foi realizado conforme descrito no item 4.2.2. A determinação da concentração de curcumina incorporada nas ostras, foi realizada por extração alcoólica convencional do soluto (4.2.4). As análises microbiológicas para contagem de bactérias mesófilas e psicotróficas totais foram realizadas nos dias 0, 3, 7, 10, 14 e 17 dias de armazenamento para as ostras com curcumina. De acordo

com os métodos descritos em American Public Health Association (A.P.H.A.) (2001).

Contagem de Bactérias Aeróbias Mesófilas e Psicrotróficas Totais

A contagem de microrganismos mesófilos e psicrotróficos foi realizado em meio de cultura Agar Padrão para contagem (Plate Count Agar, Merck). Cerca de $25,0 \pm 0,5$ g de ostras foram adicionados em 225 mL de água peptonada 0,1% seguido de agitação em Stomacher (Interscience) por 60 segundos. Em seguida 100 μ L das diferentes diluições, foram inoculados em superfície com cerca de 15 a 20 ml de meio PCA solidificado, para contagem total de psicrotróficos, em duplicata. As placas foram incubadas invertidas a 7 ± 1 °C por 10 dias. Para a contagem selecionou-se as placas que apresentavam entre 10 e 300 colônias e contou-se as com a ajuda de um contador de colônias (Phoenix Luferto).

Para mesófilos 1 mL das diferentes diluições foram inoculados em profundidade, em duplicata, após verteu-se nas placas inoculadas, 12 a 15 mL de meio PCA, as placas foram incubadas invertidas a 35 ± 1 °C por 48 horas. Completado o tempo de incubação, selecionou-se as placas que apresentavam entre 25 e 250 colônias e contou-se com a ajuda de um contador de colônias (Phoenix Luferto).

4.2.7 Bases voláteis totais (Nitrogênio básico volátil)

A análise de bases voláteis totais foi realizada no Laboratório de Análises (LABCAL), no departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (CAL), da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), para as amostras após incorporação de curcumina (0 dias) e em 15 dias de armazenamento a 4°C, por meio da metodologia LANARA, XI-5.

4.2.8 Composição gasosa

A composição gasosa no *headspace* das embalagens foi realizada através da leitura das concentrações de O₂ e CO₂ utilizando-se o analisador de gases (CheckMate II, PBI Dansensor). As medições foram feitas durante o armazenamento (0, 4, 7, 11 e 14 dias) para as amostras com e sem curcumina, sendo realizadas de forma destrutiva a cada ponto da análise, em triplicata.

4.2.9 Análise estatística

O tratamento estatístico dos dados obtidos foi realizado com auxílio do *software* STATISTICA, versão 10.0, através da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 95 % de confiança.

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Caracterização físico-química das ostras

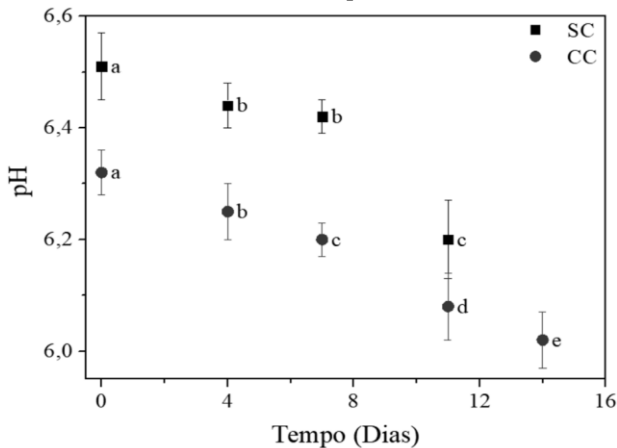
Dois tipos de embalagens (bandejas de poliestireno) foram utilizadas para acondicionamento das ostras com e sem curcumina. Um tipo de embalagem sem absorvedor e um tipo contendo absorvedor de umidade. Os resultados mostraram que o pH, atividade de água (a_w), umidade, capacidade de retenção de água, perda de massa por exsudação e dureza das ostras durante 18 dias de armazenamento, não mostraram diferenças significativas entre os tipos de embalagem utilizadas (absorvente e não absorvente). Assim, optou-se por apresentar e discutir os resultados para ostras armazenadas em embalagem de poliestireno com absorvedor de umidade. Entretanto, os dados de perda de massa por exsudação são das amostras acondicionadas em embalagem não absorvente.

As ostras *in natura* apresentaram pH de $6,58 \pm 0,07$. Esse valor de pH está de acordo com o obtido por Soares et al. (2015) de 6,5 para ostras da espécie *Crassostrea gigas*. Após tratamento térmico houve diminuição no pH das ostras (6,51), em relação a amostra *in natura* no tempo zero, e decréscimo significativo durante o armazenamento ($p < 0,05$), para as ostras com e sem curcumina. O pH das ostras contendo curcumina variou de 6,32 (dia zero) a 6,02 (14º dia), o menor valor inicial está associado ao baixo pH da solução de curcumina usada (pH=3,40), de acordo com os resultados mostrados na Figura 4.3. Segundo Jay et al. (2005), pH acima de 5,9 para moluscos é considerado adequado.

O pH de frutos do mar, incluindo moluscos é comumente utilizado como indicativo de frescor. A fermentação bacteriana de carboidratos nos frutos do mar leva à produção de ácidos orgânicos, que resulta em uma redução no pH e, portanto, na qualidade do alimento. Assim, as variações de pH em ostras são geralmente medidas para descrever sua deterioração microbiológica (KHAN et al., 2005; CAO et al., 2009). Neste estudo, o pH das ostras cozidas com e sem curcumina

está dentro da faixa aceitável para consumo, no período de armazenamento estudado.

Figura 4.3 - pH das ostras sem curcumina (SC) e contendo curcumina (CC) durante 11 e 14 dias de armazenamento, respectivamente, a 4°C.



Os valores que apresentam a mesma letra para SC e CC não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey. Fonte: Autor (2017).

Os valores de a_w das ostras contendo curcumina não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) durante o armazenamento e diferença significativa para as ostras sem curcumina. Os valores médios encontrados para a a_w das ostras foram: $0,989 \pm 0,002$ para ostras *in natura*, $0,984 \pm 0,001$ para ostras sem curcumina e $0,988 \pm 0,002$ para ostras contendo curcumina. A a_w das ostras com curcumina aumentou, devido ao preenchimento dos poros da ostra pela solução não osmótica de curcumina incorporada. Todas as amostras apresentaram decréscimo significativo ($p < 0,05$) de umidade durante o armazenamento, devido à perda de água das ostras ao longo do armazenamento e a variabilidade da amostra, os resultados para a_w e umidade são mostrados na Tabela 4.1. Os valores de a_w e umidade apresentados, mostram que as ostras estão classificadas como alimentos altamente susceptível ao desenvolvimento de microrganismos, uma vez que a a_w e a umidade podem influenciar as taxas de reação de um produto.

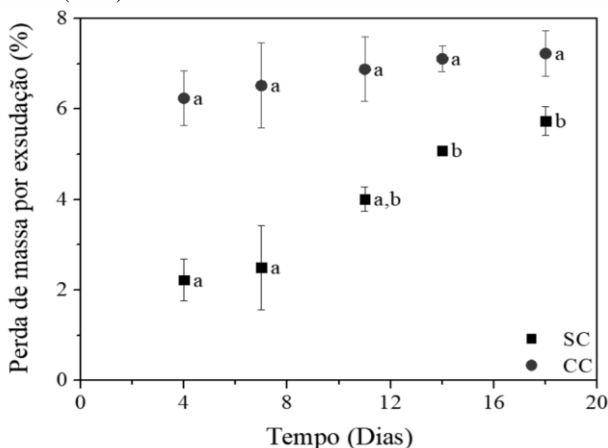
Tabela 4.1 - Atividade de água e umidade das ostras CC e SC, durante o armazenamento a 4°C.

| t (dias) | a _w | | Umidade (%) | |
|-------------|----------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|
| | SC | CC | SC | CC |
| 0 | 0,983±0,001 ^a | 0,987±0,002 ^a | 80,65±0,71 ^a | 80,03±0,77 ^a |
| 4 | 0,983±0,002 ^{a,b} | 0,989±0,001 ^a | 77,55±0,47 ^b | 79,12±0,74 ^{a,b} |
| 7 | 0,984±0,001 ^{a,b} | 0,989±0,002 ^a | 77,35±0,68 ^b | 77,92±0,60 ^c |
| 11 | 0,985±0,001 ^b | 0,989±0,002 ^a | 77,44±0,71 ^b | 78,25±0,67 ^{b,c} |
| 14 | - | 0,988±0,002 ^a | - | 77,52±0,21 ^c |

Os valores que apresentam a mesma letra em uma mesma coluna não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey. Fonte: Autor (2017).

O maior índice da CRA (2,22 g de água retida por g de matéria seca) foi das amostras de ostras sem curcumina. Para as amostras com curcumina, o índice foi de 2,19 g de água retida por g de matéria seca, ambos no tempo inicial, evidenciando que o processo de vácuo não provocou maior perda de água das ostras, como mostrado na Figura 4.4. Uma das propriedades mais importantes da carne para a indústria é a retenção do conteúdo de água, pelo alimento, pois o exsudado provoca perda de nutrientes e rejeição pelo consumidor devido ao líquido exposto no interior das embalagens (ANDERSEN, 2000; JEREMIAH, 2001; MASNIYOM et al., 2011).

Figura 4.4 - Perda de massa por exsudação de ostras SC e CC durante 18 dias de armazenamento (4 °C).



Os valores que apresentam a mesma letra para SC, CC não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey. Fonte: Autor (2017).

A Figura 4.4 apresentou o comportamento da perda de massa por exsudação das ostras com e sem curcumina. Observa-se um aumento significativo ($p < 0,05$) da perda de massa durante o armazenamento para ostras sem curcumina, de 2,22 % (4 dias) para 5,74 % (18 dias). Resultado semelhante foi encontrado por Lima et al. (2016), mostrando aumento do exsudado de 3,28 % (4 dias) para 5,78 % (25 dias), em mexilhão *Perna perna* após tratamento térmico (a vapor 100 °C durante 6 min), armazenados a 3 °C. Para ostras contendo curcumina não houve diferença significativa ($p < 0,05$) durante o armazenamento, com exsudado de 6,24 % (4 dias) a 7,23 % (18 dias).

Conforme Griffin et al. (1982) carnes expostas a 2 °C apresentaram menor perda de líquido ($p < 0,05$) em relação a 7 °C. Entretanto, em ambas as temperaturas, foi verificado o aumento da exsudação com o aumento do tempo, condizente com os resultados deste experimento, e de acordo com o estudo de Meischke-Hertog et al. (1998). Kim et al. (2013) mostrou aumento da exsudação (2,10 para 3 %) com o tempo de armazenamento em carne suína refrigerada a 1 °C durante 7 dias. O maior teor de exsudado mostrado no presente estudo evidencia a necessidade do uso de embalagens absorventes.

A degradação da estrutura muscular dos moluscos, causada pela combinação da atividade microbiana e enzimas endógenas proteínases, que causam a secreção de várias enzimas hidrolíticas está relacionada com a perda de água desses produtos para o meio externo (MASNIYOM et al., 2011, LIMA et al., 2016). Nas embalagens não absorventes a presença do exsudado pode ser observada (Figura 4.5) para as amostras sem curcumina ao longo do tempo.

Figura 4.5 - Ostras SC e CC durante 18 dias de armazenamento a 4 °C em embalagens não absorventes.



*Parte superior da figura ostras CC, e inferior SC. Fonte: Autor (2017).

O exsudado é um parâmetro de rejeição do produto pelo consumidor, por isso a utilização de embalagens absorventes é uma alternativa para minimizar este problema. A Figura 4.6 mostra as ostras armazenadas em embalagens de poliestireno absorventes, onde não é observada a presença do exsudado.

Figura 4.6 - Ostras SC e CC durante 7 e 14 dias de armazenamento, respectivamente, a 4°C em bandejas absorventes.



Fonte: Autor (2017).

A dureza do corpo das ostras com e sem curcumina apresentou valores médios de $75,15 \pm 6,53$ N e $67,35 \pm 6,46$ N, respectivamente, durante o armazenamento. A textura é um dos fatores sensoriais que determinam a aceitabilidade de um alimento pelos consumidores (BOURNE, 1982). Neste estudo, demonstrou-se que o processo de vácuo na incorporação de curcumina não influenciou na textura das ostras.

4.3.2 Concentração de curcumina incorporada em ostras

De acordo com a Tabela 4.2, a concentração de curcumina em ostras não mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) até o 7º dia de armazenamento. Nos dias posteriores de armazenamento houve diminuição da concentração de curcumina extraída das ostras. Como o exsudado não apresentou a presença de curcumina, a perda gradativa ao longo do armazenamento pode ser atribuída a degradação pela luz, uma vez que a curcumina é um pigmento fotossensível (IRWING et al., 2011).

Bellary et al. (2016) mostraram degradação de curcuminóides influenciada pelos materiais de embalagens quando incorporados em fatias de coco e banana desidratadas. As maiores taxas de degradação foram observadas para embalagens de polipropileno (PP) e polietileno tereftalato (PET)/polietileno de baixa densidade (PEBD) em relação a embalagem composta com PET/PEBD metalizado, durante 90 dias de armazenamento à temperatura ambiente.

Tabela 4.2 - Concentração de curcumina em ostras após incorporação a vácuo durante 14 dias de armazenamento a 4 °C.

| Tempo (dias) | [CUR] $\mu\text{g/g}$ |
|--------------|---------------------------------|
| 0 | 31,01 \pm 3,84 ^a |
| 4 | 27,12 \pm 3,62 ^{a,b} |
| 7 | 30,36 \pm 3,05 ^a |
| 11 | 24,92 \pm 2,24 ^b |
| 14 | 25,49 \pm 2,77 ^b |

Os valores que apresentam a mesma letra em uma mesma coluna não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey. Fonte: Autor (2017).

A diferença global da cor mostrou que as ostras com curcumina (2,81) não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle sem curcumina (2,13). Resultados confirmados pela coloração visual na superfície das ostras (Figura 4.6), evidenciando-se que a incorporação ocorreu no interior dos poros.

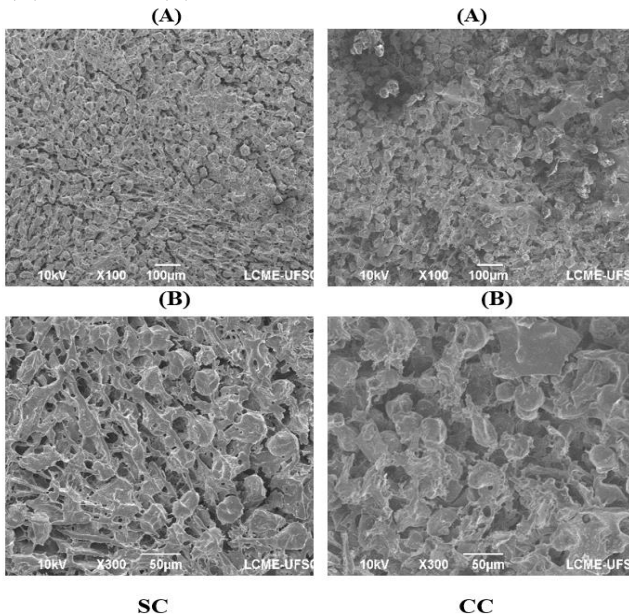
4.3.3 Caracterização microestrutural: microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A incorporação de compostos ativos a vácuo é aplicada em alimentos porosos, assim para visualizar a estrutura interna das ostras

com e sem curcumina com maiores detalhes, utilizou-se as micrografias obtidas por MEV. A Figura 4.7, mostra que ostras sem curcumina apresentam estrutura composta por uma matriz porosa com espaços vazios e uma rede de capilares que permitem a retenção de água, semelhante ao mostrado por Lima et al. (2014) para a microestrutura do manto de mexilhões cozidos.

A microestrutura de ostras com curcumina apresenta semelhança com a amostra sem curcumina (Figura 4.7). Entretanto observa-se que a matriz porosa apresenta inchaço, conseqüente do ganho de massa pelo preenchimento dos poros com a solução curcumina-vinho branco. O mesmo comportamento foi descrito por Tribuzi et al. (2014) para mexilhões tratados com solução osmótica de NaCl a 5 %.

Figura 4.7 - Microestruturas de ostras com e sem incorporação de curcumina, com aumento (A) de 100 x e (B) de 300 x.



Fonte: Autor (2017).

4.3.4 Avaliação microbiológica

Presença de *vibrio* spp.

Ostras *in natura* do presente estudo apresentaram crescimento de colônias suspeitas para *V. parahaemolyticus* (colônias verdes) e *V. cholerae* (colônias amarelas), nas diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . A presença de *V. parahaemolyticus* em ostras *in natura*, na diluição 10^{-1} , foi confirmada com uso do Kit Bactray II. No entanto, o *Vibrio* spp. foi eliminado pelo tratamento térmico aplicado para a aberturas das conchas das ostras. Não houve crescimento de colônias nas placas de TCBS para ostras com e sem curcumina. Resultado semelhante foi descrito por Soares et al (2015) que mostraram eliminação de *Vibrio* spp com o tratamento térmico de 100 °C por 10 minutos em ostras. De acordo com Andrews et al. (2000) a temperatura de pasteurização de 50 °C por 10 minutos aplicada em ostras foi suficiente para reduziu *V. parahaemolyticus* e *vulnificus* para um nível não detectável.

A eliminação de *Vibrio* spp. é necessária para garantir a segurança dos consumidores de ostras, porque diferentes espécies do gênero *Vibrio* podem estar presentes em moluscos crus ou submetidos à cocção insuficiente. *Vibrio parahaemolyticus* é documentado como a principal fonte de gastroenterite aguda em humanos (THOMPSON, IIDA e SWINGS, 2004; SILVA et al. 2017).

Influência das concentrações de curcumina na inibição do crescimento de bactérias mesófilas e psicrotróficas totais em ostras

As concentrações de curcumina incorporadas em ostras a diferentes pressões e tempos de vácuo são mostradas na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 - Concentração de curcumina incorporada a vácuo em ostras.

| P (mbar) | t (minutos) | [CUR] µg/g |
|----------|-------------|--------------|
| 150 | 5 | 6,25 ± 0,76 |
| 100 | 17 | 13,12 ± 1,30 |
| 200 | 20 | 26,45 ± 1,27 |

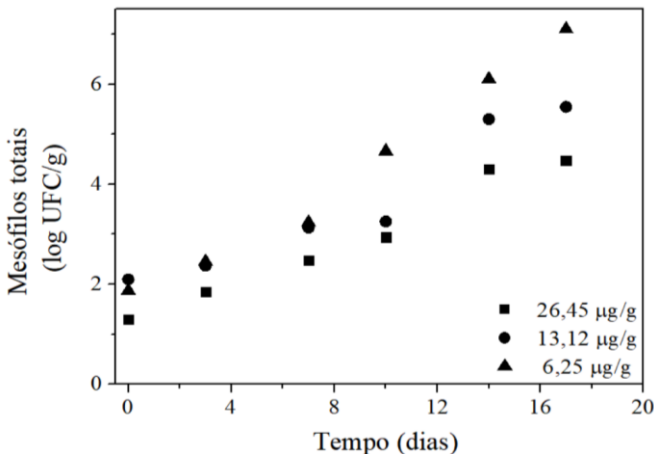
Fonte: Autor (2017).

Ostras *in natura* apresentaram contagem inicial de 2,90 Log UFC.g⁻¹ para mesófilos e 2,40 Log UFC.g⁻¹ para psicrotróficos. O tratamento térmico reduziu a contagem de mesófilos para 2,05 Log UFC.g⁻¹ e inativou os microrganismos psicrotróficos.

Soares et al. (2015) mostraram redução na contagem de microrganismos mesófilos (3,92 para 1,40 Log UFC.g⁻¹) e psicrotróficos (3,99 para 1,40 Log UFC.g⁻¹) com a aplicação do tratamento térmico de 100 °C por 10 minutos, em ostras da mesma espécie. O mesmo tratamento foi aplicado em mexilhões por 6 minutos, com redução de psicrotróficos de 3 para <1 ciclo logarítmico (LIMA et al., 2016).

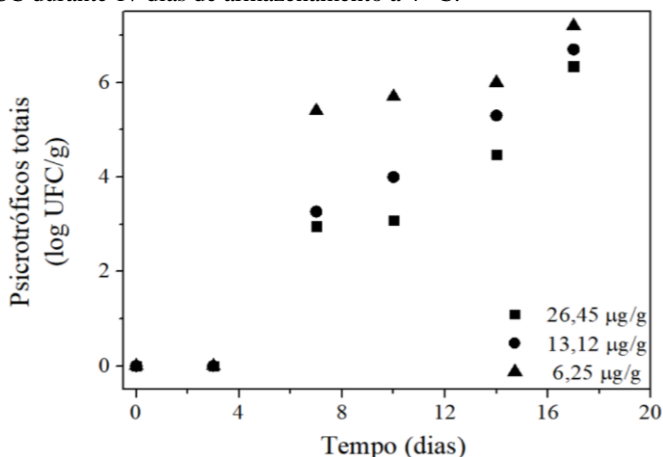
A curcumina presente nas ostras retardou o desenvolvimento de bactérias mesófilas e psicrotróficas totais em todas as concentrações utilizadas (26, 13 e 6 µg/g de ostra), com maior eficiência para maior concentração de curcumina incorporada 26,45 µg/g de ostra. Observa-se o aumento da contagem durante o armazenamento, entretanto observa-se que a presença de curcumina nas ostras apresentou relação direta com a inibição do crescimento microbiano, Figuras 4.8 e 4.9.

Figura 4.8 - Contagem microbiológica de bactérias mesófilas totais para ostras CC durante 17 dias de armazenamento a 4°C.



Fonte: Autor (2017).

Figura 4.9 - Contagem microbiológica de bactérias psicrotróficas totais para ostras CC durante 17 dias de armazenamento a 4 °C.



Fonte: Autor (2017).

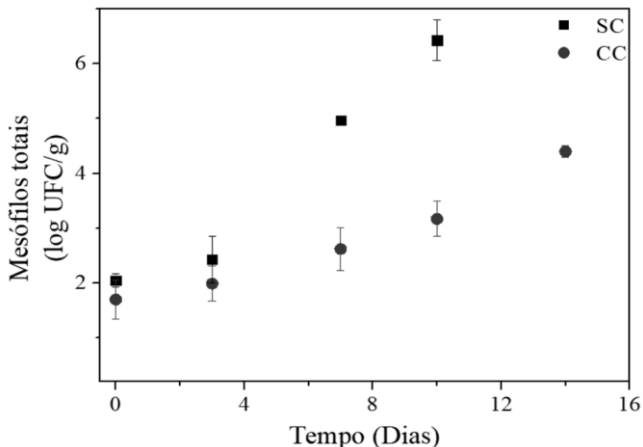
O aumento na contagem de psicrotróficos iniciou a partir do sétimo dia de armazenamento, resultado importante para a qualidade do produto, pois as bactérias psicrotróficas, são indicadores do processo de deterioração do alimento (MOL et al., 2007).

A partir desses resultados, a concentração de 26,45 µg de curcumina/g de ostra foi utilizada nos demais experimentos a pressão de vácuo de 200 mbar por 20 minutos.

As Figuras 4.10 e 4.12 mostram o comportamento das bactérias mesófilas e psicrotróficas totais, respectivamente, de ostras com e sem curcumina durante todo o armazenamento. A concentração média de curcumina incorporada nas ostras durante o armazenamento foi de $27,30 \pm 2,75$ µg/g de ostra.

A contagem de mesófilos para ostras contendo curcumina aumentou de $1,70 \log \text{UFC.g}^{-1}$ para $4,40 \log \text{UFC.g}^{-1}$ durante o período de armazenamento, mas o desenvolvimento foi menos pronunciado que as amostras sem curcumina em todo o período analisado. No 10º dia de estocagem a contagem de mesófilos de ostras sem curcumina era de $6,43 \log \text{UFC.g}^{-1}$ e para ostras contendo curcumina de $3,17 \log \text{UFC.g}^{-1}$, mostrando o efeito inibidor da curcumina no desenvolvimento de bactérias mesófilas (Figura 4.10).

Figura 4.10 - Contagem microbiológica de bactérias mesófilas totais para ostras SC e CC durante 10 e 14 dias de armazenamento, respectivamente, a 4 °C.

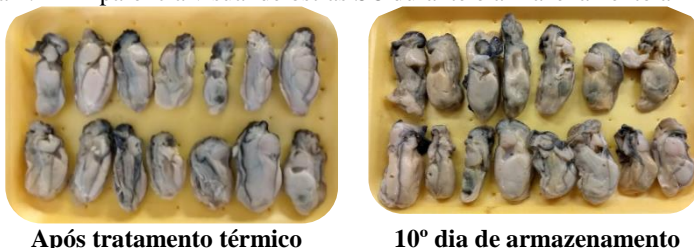


Fonte: Autor (2017).

Ostras cozidas sem curcumina foram consideradas impróprias para consumo a partir do décimo dia porque a contagem de mesófilos foi superior a 6 ciclos logarítmicos corroborado pelo surgimento de odores característicos a produtos a base de pescados deteriorados. Este aumento no crescimento microbiano está em acordo com a composição gasosa no *headspace* da embalagem (Figuras 4.13 e 4.14) onde foi possível observar uma redução nos níveis de O_2 e aumento significativo da concentração de CO_2 do tempo 7 para 10 dias. Na Figura 4.11 é mostrada a diferença na aparência de ostras armazenadas logo após o tratamento térmico e ostras após o 10º dia de armazenamento.

Em produtos de pescado, a contagem de mesófilos para rejeição sensorial é de 7-8 logs $UFC.g^{-1}$ e o limite de aceitabilidade é de 6 log $UFC.g^{-1}$ para bactérias aeróbias mesófilas. Contagem de bactérias mesófilas e psicrotólicas fornecem melhores resultados sobre o mecanismo de deterioração do pescado (MOL et al., 2007).

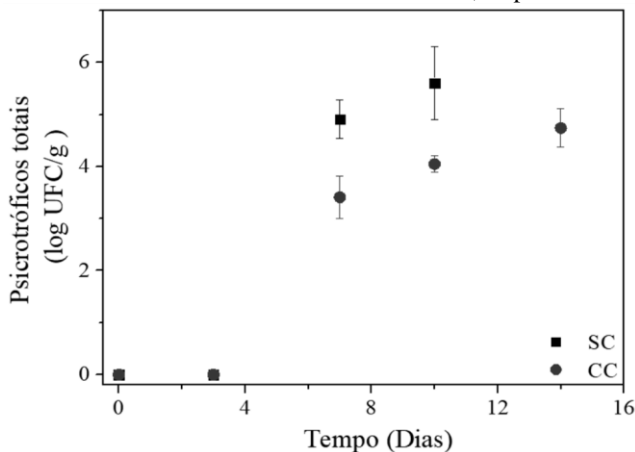
Figura 4.11 - Aparência visual de ostras SC durante o armazenamento a 4 °C.



Fonte: Autor (2017).

O tratamento térmico inativou as bactérias psicrotróficas totais no tempo inicial, com crescimento a partir do sétimo dia de armazenamento. A incorporação de curcumina em ostras foi efetiva para retardar o desenvolvimento de bactérias psicrotróficas quando comparada a amostra sem curcumina (Figura 4.12).

Figura 4.12 - Contagem microbiológica de bactérias psicrotróficas totais para ostras SC e CC durante 10 e 14 dias de armazenamento, respectivamente, a 4 °C.



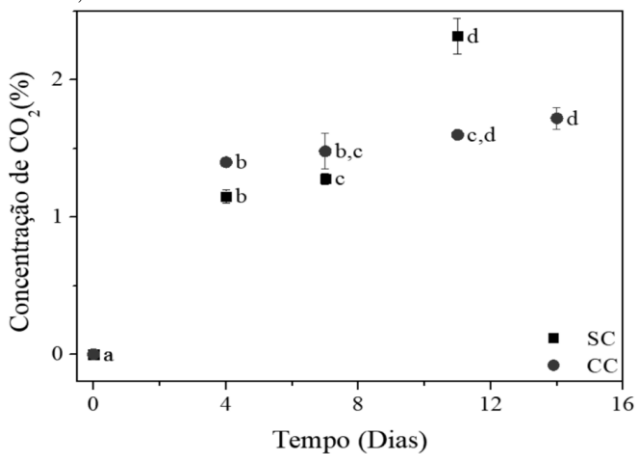
Fonte: Autor (2017).

Silva et al. (2017) avaliaram a atividade antimicrobiana de microcristais de curcumina em cenoura minimamente processada, com concentração de $1,3 \pm 0,6$ mg curcumina/g cenoura. Os microcristais de curcumina reduziram significativamente a contagem de microrganismos psicrotróficos e mesófilos totais durante 15 dias de armazenamento.

A contagem de bactérias mesófilas e psicrotróficas totais é um parâmetro importante para determinar a vida útil de ostras. O tratamento térmico combinado com a incorporação de curcumina em ostras retardou o desenvolvimento microbiano, mantendo as ostras próprias para consumo durante 14 dias de armazenamento a temperatura de refrigeração (4 °C).

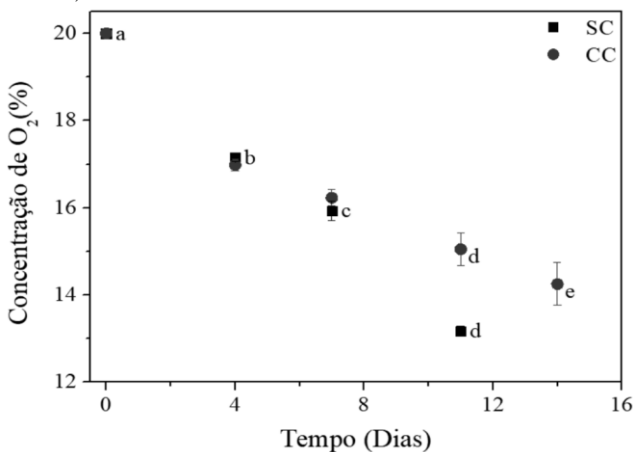
A concentração de CO₂ aumentou significativamente ($p < 0,05$) no *headspace* da embalagem ao longo do armazenamento para as ostras com e sem curcumina, corroborado com a composição de O₂, que mostrou redução significativa ($p < 0,05$) para ambos os tratamentos. O aumento do CO₂ no 10º dia (Figura 4.13) coincide com aumento da contagem da carga microbiana. O uso de curcumina e baixas temperaturas como meio para aumentar o tempo de conservação de ostras foi obtido devido o desenvolvimento desacelerado dos microrganismos da classe dos mesófilos e psicrotróficos. Embora, a refrigeração seja o meio mais utilizado e recomendado para retardar desenvolvimento microbiano de produtos cárneos frescos e processados, a diversidade de organismos presentes e a riqueza de substratos podem contribuir para a deterioração da carne em condições apropriadas. As bactérias psicrotróficas se desenvolvem à temperatura de refrigeração. Pertencem a classe dos gram positivos, bactérias ácidos lácticas, e bactérias gram negativas, como *Pseudomonas* spp. e *Enterobacteriaceae*. As espécies de *Pseudomonas* estão particularmente envolvidas na deterioração de produtos cárneos armazenados à baixas temperaturas. No presente trabalho, a presença de curcumina nas ostras favoreceu a estocagem do produto a baixas temperaturas por 14 dias.

Figura 4.13 - Evolução da composição de CO₂ no *headspace* das embalagens contendo ostras SC e CC durante 10 e 14 dias de armazenamento, respectivamente, a 4 °C.



Os valores que apresentam a mesma letra para SC, CC não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey. Fonte: Autor (2017).

Figura 4.14 - Evolução da composição de O₂ no *headspace* das embalagens contendo ostras SC e CC durante 10 e 14 dias de armazenamento, respectivamente, a 4 °C.



Os valores que apresentam a mesma letra para SC, CC não diferem estatisticamente a um nível de significância de 5 %, pelo teste de Tukey. Fonte: Autor (2017).

Além do pH, as bases voláteis totais também são usadas para quantificar a formação de compostos de degradação em moluscos e podem avaliar seu grau de conservação. De acordo com Soares e Gonçalves (2012), as bases voláteis totais representam o conjunto das bases nitrogenadas, como amônia, trimetilamina, dimetilamina, monometilamina, putrescina, cadaveriana e espermidina, normalmente presentes em pescado em processo de deterioração. Segundo Jesus et al. (2001) o nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT) tem sido utilizado para estimar objetivamente o grau de frescor de pescados e moluscos. Os valores aumentam com aumento da contagem microbiana.

Neste trabalho ostras contendo curcumina apresentaram um teor de 5,82 mg N-BVT/100 g imediatamente após o processo de incorporação de curcumina (dia zero) e de 9,98 mg N-BVT/100 g no 15º dia de estocagem. O limite estabelecido pela legislação brasileira para o pescado e produtos derivados é de 30 mg N-BVT/100 g (BRASIL, 1997). Desta forma as ostras contendo curcumina estão dentro do limite estabelecido pela legislação e próprias para o consumo durante 15 dias de armazenamento. O mesmo comportamento foi observado por Liu et al. (2016) que estudou o efeito da ativação fotodinâmica mediada pela curcumina na vida útil e qualidade de ostras e relatou prolongamento de 8 para 12 dias na vida útil de ostras após o tratamento fotodinâmico, retenção notável de odor e menos substâncias produtoras de off odor quando comparadas ao grupo controle, com valor inicial de N-BVT de 3,61 mg/100 g. Cao et al. (2017) mostraram valor inicial de N-BVT de 4,19 e 18,28 mg/100 g (12 dias) em ostras *Crassostrea gigas* tratadas sob alta pressão. Lannelongue et al. (1982) listaram os seguintes valores (mg por 100 g N-BVT) para diferentes graus de frescor dos peixes: ≤ 12 , peixe fresco; 12-20, comestível com apenas leve decomposição; 20-25 limite, e > 25 , não comestíveis e decompostos, assim, ostras com curcumina do presente estudo são consideradas frescas.

4.4 Conclusões

A incorporação de curcumina em ostras cozidas foi mais eficaz a pressão de vácuo de 200 mbar e 20 minutos de processo usando uma solução curcumina-vinho branco tipo chardonnay contendo 3,75% de álcool. A microestrutura das ostras mostrou que a curcumina foi incorporada na estrutura interna das ostras com a aplicação de pressões subatmosféricas (vácuo). Nessa condição a concentração de curcumina incorporada foi de 27,30 $\mu\text{g/g}$ de amostra. As propriedades físico-químicas das ostras com curcumina mostraram decréscimo do pH ao

longo do armazenamento, mas manteve-se as bases voláteis de acordo com os padrões de frescor estabelecidos para pescados e moluscos. Das concentrações estudadas, 27,30 µg de curcumina/g de amostra foi eficiente para aumentar o tempo de armazenamento das ostras de 7 dias após tratamento térmico para 14 dias após incorporação a vácuo de curcumina nas ostras.

4.5 Referências bibliográficas

ANDERSEN, H. J. What is pork quality? In Quality of meat and fat in pigs as affected by genetics and nutrition. **EAAP Publication, Zurich, Switzerland**, v. 100, p. 15-26, 2000.

ANDREWS, L. S.; PARK, D. L.; CHEN, Y. P. Low temperature pasteurization to reduce the risk of vibrio infections from raw shell-stock oysters. **Food addition contaminants**, v. 17, n. 9, p. 787-91, set. 2000.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17 th Edition, Revision, Gaithersburg, 2000.

A.P.H.A. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20 ed. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) e Water Environment Federation (WEF). Baltimore: Maryland, 2001.

ASHIE, N. A.; SIMPSON, B. K. Application of high hydrostatic pressure to control enzyme related fresh seafood texture deterioration. **Food Research International**, v. 29, n. 5-6, p. 569-575, 1996.

BELLARY, A. N.; INDIRAMMA, A. R.; PRAKASH, M.; SOWBHAGYA, H. B.; RASTOGI, N. K. Effect of Storage Conditions and Packaging Materials on Quality Parameters of Curcuminoids Impregnated Coconut and Raw Banana Slices. **Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 3, p. 1-10, jun. 2016.

BETORET, E.; BETORET, N.; ROCCULI, P.; ROSA, M., D. Strategies to improve food functionality: Structure–property relationships on high pressures homogenization, vacuum impregnation and drying technologies. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, n. 1, p. 1-12, 2015.

BOURNE, M. C. **Chapter 3 – Physics and Texture.** Food Texture and Viscosity, 2a ed. p. 59-106, 1982.

BOURNE, M. C. **Chapter 3 – Physics and Texture. Food Texture and Viscosity, Concept and Measurement.** Food Science and Technology, 2a ed. p. 59-106, 2002.

BRASIL. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Diário Oficial da União, Brasília.

CAO, R.; XUE, C.; LIU, Q.; XUE, Y. Microbiological, chemical, and sensory assessment of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) stored at different temperatures. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 27, p. 102-108, jan. 2009.

CAO, R.; ZHAO, L.; LIU, Q. High Pressure Treatment Changes Spoilage Characteristics and Shelf Life of Pacific Oysters (*Crassostrea gigas*) During Refrigerated Storage. **Journal of Ocean University of China**, v. 16, n. 2, p. 351-355, abr. 2017.

DESMOND, E. M.; KENNY, T. A.; WARD, P.; SUN, D. W. Effect of rapid and conventional cooling methods on the quality of cooked ham joints. **Meat Science**, v. 56, p. 271-277, nov. 2000.

GUL, P.; BAKHT, J. Antimicrobial activity of turmeric extract and its potential use in food industry. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 4, p. 2272-79, 1 abr. 2015.

GRIFFIN, D. B.; SAVELL, J. W.; SMITH, G. C.; VANDERZANT, C.; TERRELL, R. N.; LIND, K. D.; GALLOWAY, D. E. Centralized packaging of beef loin steaks with different oxygen-barrier films; physical and sensory characteristics. **Journal of Food Science**, v. 47, p. 1059-1069, 1982.

IRWING, G. B.; KARMOKAR, A.; BERRY, D. P.; BROWN, K.; STEWARD, W. P. Curcumin: The potential for efficacy in gastrointestinal diseases. **Best Practice & Research: Clinical Gastroenterology**, v. 25, p. 519-534, ago. 2011.

JAY, J., LOESSNER, M., GOLDEN, D. Modern Food Microbiology. 7. ed. New York: Springer, 2005.

JEREMIAH, L. E. Packaging alternatives to deliver fresh meats using short-or long-term distribution. **Food Research International**, v. 34, p. 749-772, nov. 2001.

JESUS, R. S.; LESSI, E.; TENUTA FILHO, A. Estabilidade química e microbiológica de minced fish de peixes amazônicos durante o congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 144-8, mai./aug. 2001.

KABA, N.; OZGUL, O.; BENGUNUR, C. Effects of Natural and Artificial Colorants on Hot Smoked Garfish (*Belone belone* (Linnaeus, 1761)) Stored at $+4 \pm 1$ °C. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 26, n. 10, p. 1233-243, jun. 2016.

KHAN, M. A.; PARRISH, C. C.; SHAHIDI, F. Quality indicators of cultured Newfoundland blue mussels (*Mytilus edulis*) during storage on ice: microbial growth, pH, lipid oxidation, chemical composition characteristics, and microbial fatty acid contents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 18, p. 7067-7073, set. 2005.

KIM, G. D.; JUNG, E. Y.; YANG, H. S.; JOO, S. T.; JEONG, J. Y. Influence of meat exudates on the quality characteristics of fresh and freeze-thawed pork. **Meat science**, v. 95, n. 2, p. 323-9, out. 2013.

LIMA, M.; SOARES, L. S.; TOSATI, J. V.; LERIN, L. A.; OLIVEIRA, J. V.; MONTEIRO, A. R. Application of CO₂ in *Perna perna* Mussel: Evaluation of Absorption Mechanism During Soluble Gas Stabilization (SGS) Process. **Food Engineering Reviews**, v. 7, n. 2, p. 250-257, nov. 2014.

LIMA, M. M. **Propriedades físico-químicas e de textura de abacaxi (var. Pérola) desidratado enriquecido com cálcio por impregnação a vácuo.** 2014, 124f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

LIMA, M.; SIGA, C.; LEITEMPERGHER, F.; LERIN, L. A.; SOARES, L. S.; TOSATI, J. V.; RODRIGUES, N. B.; MONTEIRO, A.

R. Mussel (*Perna perna*) Processing by an Alternative Method and Packaging Under Modified Atmosphere to Improve Physicochemical and Microbiological Characteristics. **Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 3, p.1-9, jun. 2016.

LIU, F.; LI, Z.; CAO, B.; WU, J.; WANG, Y.; XUE, Y.; XU, J.; XUE, C.; TANG, J., Q. The effect of a novel photodynamic activation method mediated by curcumin on oyster shelf life and quality. **Food Research International**, v. 87, p. 204-210, set. 2016.

MADIGAN, T., L.; BOTT, N., J; TOROK, V., A; PERCY, N., J.; CARRAGHER, J., F.; LOPES, de Barros, M., A.; et al. A microbial spoilage profile of half shell Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) and Sydney rock oysters (*Saccostrea glomerata*). **Food Microbiology**, v. 38, p. 219-227, 2014.

MASNIYOM, P.; BENJAMA, O.; MANEESRI, J. Extending the shelflife of refrigerated green mussel (*Perna viridis*) under modified atmosphere packaging. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 33, n. 2, p. 171-179, mar./abr. 2011.

MEISCHKE-HERTOG, M. J. A.; SMULDERS, F. J. M., LOGTESTIJN, F. J. M. S. The effect of storage temperature on drip loss from fresh beef. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 78, n. 4, p. 522-526, dez. 1998.

MOL, S.; ERKAN, N.; ÜÇOK, D.; TOSUN, Y. Effect of psychrophilic bacteria to estimate fish quality. **Journal of Muscle Foods**, v. 18, p. 120-128, jan. 2007.

RADZIEJEWSKA, K., E.; BIEGANSKA, M., R.; KIDON, M. Applicability of vacuum impregnation to modify physico-chemical, sensory and nutritive characteristics of plant origin products - a review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 9, p. 16577-610, 2014.

SILVA, A. C. D.; SANTOS, P. D. F.; PALAZZI, N. C.; LEIMANN, F. V.; FUCHS, R. H. B.; BRACHT, L.; GONÇALVES, O. H. Production and characterization of curcumin microcrystals and evaluation of the antimicrobial and sensory aspects in minimally processed carrots. **Food & Function**, v. 8, p. 1851-58, mai. 2017.

SIVERTSVIK, M.; BIRKELAND, S. Effects of Soluble Gas Stabilization, Modified Atmosphere, Gas to Product Volume Ratio and Storage on the Microbiological and Sensory Characteristics of Ready-to-Eat Shrimp (*Pandalus borealis*). **Food Science and Technology International**, v. 12, n. 5, p. 445-454, 2006.

SOARES, K. M. P.; GONÇALVEZ, A. A. Qualidade e segurança do pescado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 71, n. 1, 2012.

SOARES, L. S.; TOSATI, J. V.; LIMA, M.; LERIN, L. A.; MONTEIRO, A. R. Evaluation of CO₂ absorption and desorption rate in oysters (*Crassostrea gigas*) using the soluble gas stabilization method. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 5, p. 1089-1094, nov. 2015.

SURESH, D.; MANJUNATHA, H.; SRINIVASAN, K. Effect of heat processing of spices on the concentrations of their bioactive principles: Turmeric (*Curcuma longa*), red pepper (*Capsicum annum*) and black pepper (*Piper nigrum*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 346-351, mai. 2007.

THOMPSON, F.L.; IIDA, T.; SWINGS, J. Biodiversity of vibrios. **Microbiology Molecular Biology Reviews**, v. 68, p. 403-432, 2004.

TRIBUZI, G.; SCHMIDT, F. C.; LAURINDO, J. B. Operational diagrams for salting-marination processes and quality of cooked mussels. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2, p. 746-753, dez. 2014.

USDA. **National nutrient data base for standard reference release 28**. 2016. Disponível em: <
https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/4649?fgcd¼&manu¼&lfacet¼&format¼&count¼&m_ax¼35&offset¼&sort¼&qlookup¼oysters >
Acesso em: 06 de abril, 2017.

CAPÍTULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1 Conclusões

O uso de pressões subatmosféricas foi eficaz na incorporação de curcumina em ostras. Resultados corroborados pelo aumento da atividade de água das ostras após o processo.

A solução de curcumina em vinho branco tipo chardonnay proporcionou melhor incorporação e distribuição da curcumina nos poros das ostras, mostrado pela coloração das ostras semelhante a amostra controle (sem incorporação de curcumina).

O delineamento experimental foi a ferramenta utilizada para avaliar a influência do processo da pressão e tempo de vácuo na concentração de curcumina incorporada nas ostras. A variável tempo apresentou efeito positivo significativo no aumento da concentração de curcumina sem efeito da pressão. A estrutura corpórea das ostras é composta de poros, por isso não é necessária a utilização de alto vácuo para introdução do composto de interesse.

O tratamento térmico a 100 °C por 15 minutos eliminou *Vibrios* spp. de ostras (*Crassostrea gigas*).

A concentração de curcumina de 27,30 µg/g de amostra foi a que resultou em maior inibição do desenvolvimento de bactérias mesófilas e psicrotróficas totais.

Durante 14 dias de armazenamento as ostras apresentaram odor característico de ostras cozidas, em conformidade com os valores de bases voláteis totais, inferiores ao máximo permitido pela legislação.

5.2 Sugestões para trabalhos futuros

- Realizar análise sensorial de aceitação e intenção de compra de ostras com solução de curcumina em vinho branco chardonnay.
- Avaliar o uso de tratamentos combinados para infusão de curcumina em ostras, ultrassom e vácuo.
- Avaliar a cinética de incorporação a vácuo de curcumina em ostras (ganho de água, ganho de massa e ganho de curcumina).
- Estudar técnicas de incorporação de micropartículas de curcumina em ostras para melhorar a solubilidade em água.
- Estudar a aplicação de tratamento não térmico em ostras, uso de fotoativação da curcumina para inibição do desenvolvimento microbiano.

- Avaliar o efeito *in vivo* e *in vitro* da curcumina sob microrganismos presentes em ostras.