



## Área: Tecnologia de Alimentos

# INFLUÊNCIA DA IRRADIAÇÃO E DO ARMAZENAMENTO DE PINHÕES SOB REFRIGERAÇÃO NA COR, COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

**Kennia Mendes Prietsch\*, Pérsia Barcellos Carrasco, Altair Delfino da Rocha Faes, Eliezer Avila Gandra, Carla Rosane Barboza Mendonça, Caroline Dellinghausen Borges**

*Laboratório de Tecnologias Inovadoras, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS*

*E-mail: [kenniaprietsch@hotmail.com](mailto:kenniaprietsch@hotmail.com)*

**RESUMO** – O pinhão apresenta elevado grau de perecibilidade, em virtude da alta atividade de água (>0,98), sendo facilmente acometido por fungos durante a estocagem, além de suscetível ao processo de germinação e infestação por larvas. Técnicas de conservação e industrialização do pinhão devem ser desenvolvidas para promover a sua comercialização e consumo em outras épocas do ano. Objetivou-se com o estudo avaliar a influência do processo de irradiação de pinhões e do armazenamento sob refrigeração na cor, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. Os pinhões foram selecionados, descartando os que apresentaram deterioração ou fungos aparentes e submetidos aos seguintes tratamentos: Tratamento A – pinhões irradiados (1 kGy) armazenados à temperatura ambiente; Tratamento B – pinhões não irradiados armazenados à temperatura ambiente; Tratamento C – pinhões irradiados (1 kGy) armazenados à temperatura de refrigeração (4 °C); Tratamento D – pinhões não irradiados armazenados à temperatura de refrigeração (4 °C). Os pinhões foram irradiados com radiação gama a partir de uma fonte de cobalto-60, com energia de partícula de 1,25 MeV, dose de 1 kGy, rendimento de 2,0584 Gy.min<sup>-1</sup>, a 20-22 °C. As análises foram realizadas em 0, 30, 60 e 90 dias de armazenamento. O armazenamento dos pinhões, independente do tratamento, ocasionou escurecimento das sementes, intensificação da cor vermelha e amarela, assim como redução dos compostos fenólicos e aumento da atividade antioxidante. Dentre os tratamentos, o uso isolado de refrigeração propiciou a obtenção de maiores valores de atividade antioxidante.

**Palavras-chave:** *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze, cobalto 60, conservação

## 1 INTRODUÇÃO

O pinhão apresenta elevado grau de perecibilidade, em virtude da alta atividade de água (>0,98), sendo facilmente acometido por fungos durante a estocagem (BALBINOT et al., 2008), além de suscetível ao processo de germinação e infestação por larvas (OLIVERA, 2008). Normalmente, é comercializado nas próprias pinhas, ou então a granel, debulhado, envasado em sacos plásticos, refrigerado ou moído congelado (OLIVERA, 2008). Técnicas de conservação e industrialização do pinhão devem ser desenvolvidas para promover a sua comercialização e consumo em outras épocas do ano, além do período sazonal, incentivando a sua produção, extração e comercialização de forma sustentável, tendo em vista seu caráter essencialmente extrativista (DAVID; SILOCHI, 2010).

A radiação ionizante impede a multiplicação de células vivas como bactérias, fungos e organismos superiores, pois altera as estruturas moleculares e induz modificações bioquímicas nos processos fisiológicos dos tecidos de alguns vegetais, retardando a sua maturação, envelhecimento e brotamento (STEFANOVA; VASILEV; SPASSOV, 2010). Com isso, pode ocasionar alterações nos compostos secundários e assim, na atividade antioxidante. Objetivou-se com o estudo avaliar a influência do processo de irradiação de pinhões e do armazenamento sob refrigeração na cor, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de pinhão *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze foram obtidas de um produtor na cidade de Vacaria (Latitude: 28° 30' 39" Sul, Longitude: 50° 55' 47" Oeste), no estado do Rio Grande do Sul. As sementes foram coletadas e encaminhadas para a cidade de Pelotas – RS, onde foram armazenadas em temperatura ambiente (18 °C), por dois dias até o processamento.

Os pinhões foram selecionados, descartando os que apresentaram deterioração ou fungos aparentes. Após, foram divididos em dois grupos. No primeiro grupo, os pinhões foram irradiados com radiação gama a partir de uma fonte de cobalto-60 (Theratronics, Eldorado 78, Best Theratronics Ltd., Ottawa, Canada), com energia de partícula de 1,25 MeV, dose de 1 kGy, rendimento de 2,0584 Gy.min<sup>-1</sup>, a 20-22 °C. Os pinhões (5 kg) foram dispostos em um cubo com 22,5 cm de aresta, de faces vazadas, revestido com filme de policloreto de vinila. A irradiação foi aplicada de forma tridirecional de lados paralelos e opostos. No outro grupo de pinhões não foi aplicada irradiação. Após, cada quilo de pinhão foi



embalado em sacos de polietileno de alta densidade. Ambos grupos foram armazenados tanto à temperatura ambiente (média de 18 °C), quanto em refrigeração a 4 °C. As análises foram realizadas em 0, 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

Os seguintes tratamentos foram avaliados: Tratamento A – pinhões irradiados (1 kGy) armazenados à temperatura ambiente; Tratamento B – pinhões não irradiados armazenados à temperatura ambiente; Tratamento C – pinhões irradiados (1 kGy) armazenados à temperatura de refrigeração (4 °C); Tratamento D – pinhões não irradiados armazenados à temperatura de refrigeração (4 °C).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial 4 x 4, sendo 4 tratamentos (A, B, C e D) e 4 períodos de avaliação (0, 30, 60 e 90 dias de armazenamento), sendo as avaliações realizadas no mínimo em triplicata. Cada tratamento foi composto de 330 unidades de pinhão.

#### Cor

A cor foi determinada utilizando-se um colorímetro Minolta CR 400. No padrão *C.I.E L\*a\*b\**, onde a coordenada *L\** expressa o grau de luminosidade da cor medida ( $L^* = 100 =$  branco;  $L^* = 0 =$  preto), a coordenada *a\** expressa o grau de variação entre o vermelho (+60) e o verde (-60) e a coordenada *b\** expressa o grau de variação entre o azul (-60) e o amarelo (+60).

#### Compostos fenólicos totais

Os pinhões com casca foram submetidos ao cozimento em panela de pressão por 20 min. Para o preparo do extrato hidroalcoólico os pinhões foram descascados, triturados e 5 g destes foram adicionados de 50 mL de solução metanólica (70% metanol/30% de água). O extrato ficou 3 h sob agitação a temperatura ambiente, após foi submetido a filtração em papel qualitativo.

A determinação dos compostos fenólicos totais seguiu a metodologia proposta por Singleton et al. (1999) com algumas modificações. Alíquotas de 1 mL do extrato hidroalcoólico (70% metanol/30% água) foram adicionados de 1 mL de solução Folin-Ciocalteu e, posteriormente, 8 mL de água destilada. Após 3 min de reação, 1 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 mol.L<sup>-1</sup> foi adicionado e a mistura incubada a 37 °C por 30 min. A absorbância da solução resultante foi medida em espectrofotômetro (AAKER) a 750 nm. A quantificação foi realizada utilizando a curva de calibração realizada com o ácido gálico nas concentrações de 0 a 0,5 mg mL<sup>-1</sup> ( $y=1,9772x + 0,072$   $R^2=0,9832$ ). Os resultados foram expressos em mg EAG.100g<sup>-1</sup> de pinhão.

#### Atividade antioxidante

Os pinhões com casca foram submetidos a cocção em panela de pressão por 20 min. Para o preparo do extrato hidroalcoólico os pinhões foram descascados, triturados e 5 g destes foram adicionados de 50 mL de solução metanólica (70% metanol/30% de água). O extrato ficou 3 h sob agitação a temperatura ambiente, após foi submetido a filtração em papel qualitativo.

A determinação da atividade antioxidante foi realizada seguindo o método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) de acordo com Brand-Willians et al. (1995). Foram utilizados 750 µL do extrato hidroalcoólico (70% metanol/30% água) em 3750 µL de DPPH (0,05 mM), a leitura realizada após 20 min, em espectrofotômetro (AAKER), a 515 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição.

#### Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias entre os tratamentos foi realizada pelo Teste de Tukey com nível de significância de 5%, utilizando-se o programa STATISTIX 10. Para a avaliação do tempo de armazenamento foi calculado o intervalo de confiança a 95%.

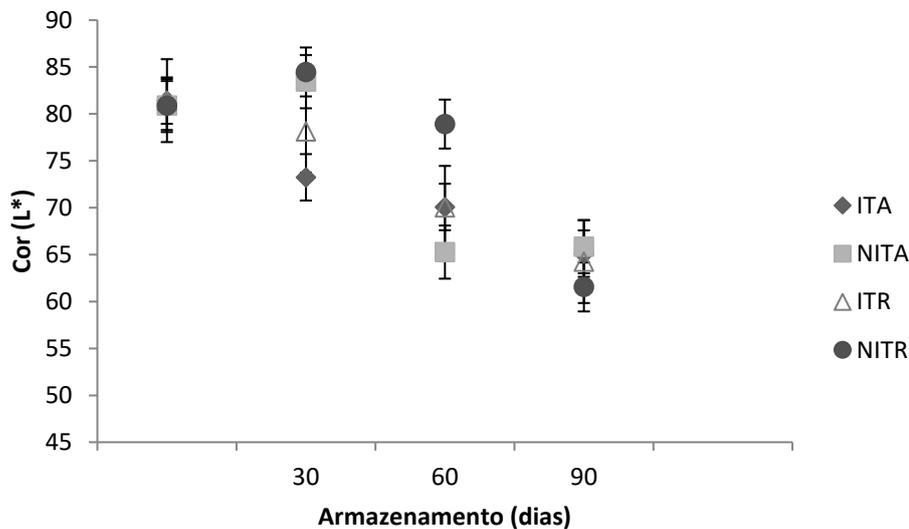
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Cor

Em relação à coordenada *L\**, que se refere a variação do branco (100) ao preto (0), observou-se redução significativa ( $p \leq 0,05$ ) dos valores, com tendência ao escurecimento das sementes de pinhão submetidas aos diferentes tratamentos, durante o armazenamento (Figura 1). Ao término do armazenamento não foi observada diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) nos valores entre os tratamentos (dados não mostrados).

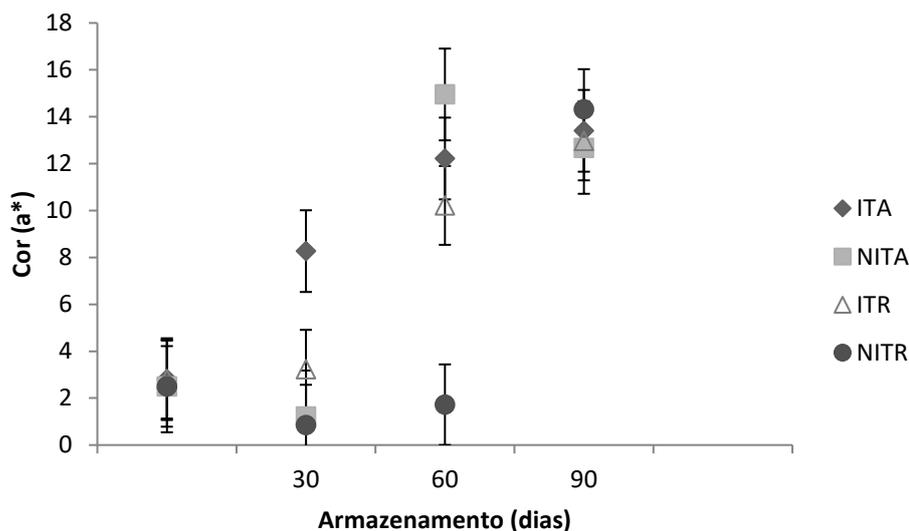


**Figura 1** - Cor ( $L^*$ ) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.



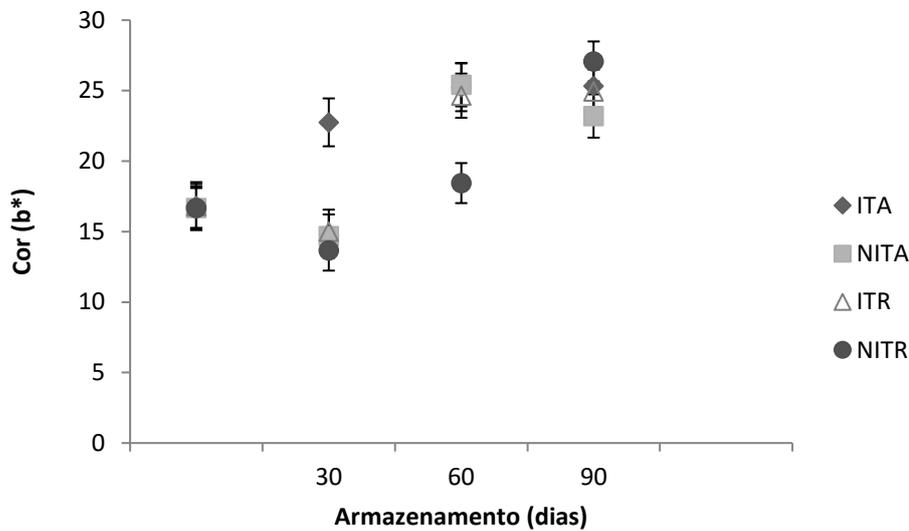
A coordenada  $a^*$  está relacionada a variação de cores entre o vermelho (+60) e o verde (-60), e a coordenada  $b^*$ , reflete a variação entre o amarelo (+60) e o azul (-60). Ao avaliar as coordenadas  $a^*$  e  $b^*$ , todas as amostras apresentaram aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) nos valores durante o armazenamento (Figura 2 e 3), ou seja, houve a intensificação das cores vermelha e amarela, respectivamente. Não houve distinção significativa entre os tratamentos para os valores de  $a^*$  (dados não mostrados) e de  $b^*$  (dados não mostrados) ao término do armazenamento.

**Figura 2** - Cor ( $a^*$ ) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.





**Figura 3-** Cor ( $b^*$ ) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.



O armazenamento, independente do tratamento, ocasionou intensificação da cor vermelha e amarela dos pinhões. Gama et al. (2010) obtiveram valores inferiores para os parâmetros de cor de diferentes amostras de pinhões coletados no início do período de liberação, obtendo-se em média para  $L^*$  70,85,  $a^*$  5,04 e  $b^*$  16,96.

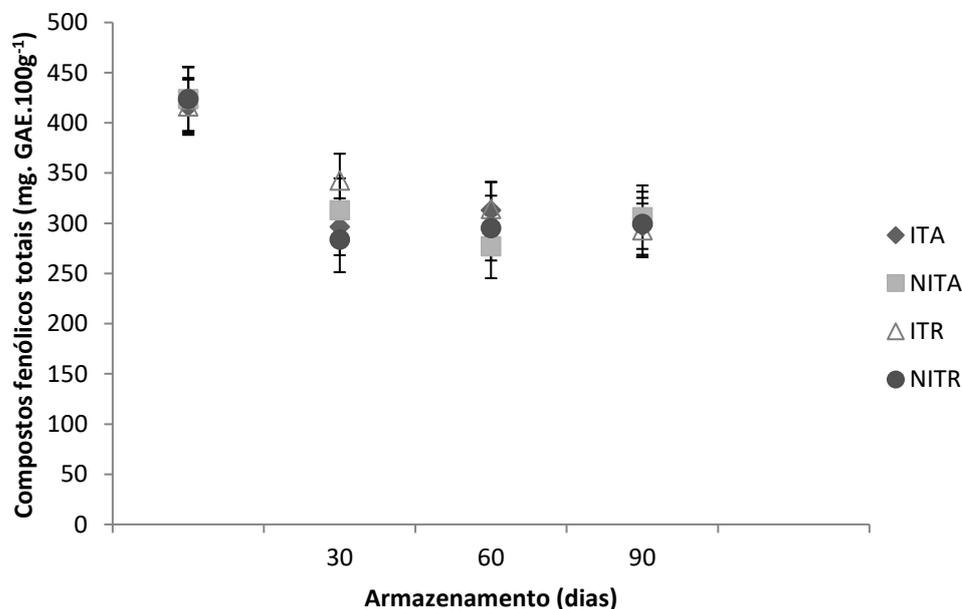
Possivelmente, a intensificação da cor esteja relacionada a difusão de flavonoides da casca para a polpa, como a catequina e a quercetina, responsáveis pelas cores vermelha e amarela, respectivamente (CORDENUNSI et al., 2004).

#### Compostos fenólicos totais

Ao analisar o teor de compostos fenólicos dos pinhões submetidos aos distintos tratamentos em relação ao tempo, pode-se observar que houve uma redução significativa dos valores ( $p \leq 0,05$ ) a partir do trigésimo dia de armazenamento, com posterior manutenção destes, independente do tratamento (Figura 4). Ao término do armazenamento, pode-se observar efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ) da irradiação na redução dos compostos fenólicos (ITA e ITR). Os pinhões irradiados armazenados sob refrigeração (ITR) apresentaram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) os menores teores de compostos fenólicos ( $292,91 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ), já aqueles não irradiados armazenados no ambiente (NITA) apresentaram os maiores valores ( $306,06 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) (dados não mostrados).



**Figura 4** - Compostos fenólicos totais ( $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ ) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.



O efeito do tempo no teor de compostos fenólicos pode variar em função da espécie da planta ou cultivar, condições geográficas, ambientais, estado da amostra (seca ou úmida), composição fenólica, procedimento de extração e temperatura (KHATTAK, 2008). A redução observada nos teores dos compostos fenólicos também pode estar relacionada a processos de complexação e polimerização dos taninos (MENEZES, 1994; ANTUNES et al., 2006).

A exposição dos pinhões à radiação pode ocasionar uma oxidação dos compostos fenólicos, propiciando redução desses compostos como observado por Song et al. (2006) ao avaliar sucos de vegetais.

Segundo Cordenunsi et al. (2004), o pinhão *in natura* apresenta baixos valores de compostos fenólicos, entretanto durante o processo de cocção esses compostos migram da casca para a semente. Dentre os principais compostos fenólicos estão a catequina, a epicatequina, a quercetina, a apigenina e o ácido gálico (KOEHNLEIN et al., 2012). Distintos valores têm sido relatados na literatura para o teor de compostos fenólicos de pinhões, com variação de 54 mg a 5140  $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  (CORDENUNSI et al., 2004; SANT'ANNA et al., 2016).

Ao avaliar o efeito da irradiação sobre os compostos fenólicos, Oliveira et al. (2013) não observaram influência desta em polpa de camu-camu armazenada em temperatura ambiente e sob refrigeração durante a estocagem, diferente do encontrado neste estudo. Já Hussain et al. (2016) observaram um incremento de compostos fenólicos em espinafre armazenado a 4 °C, conforme o aumento da dose de irradiação.

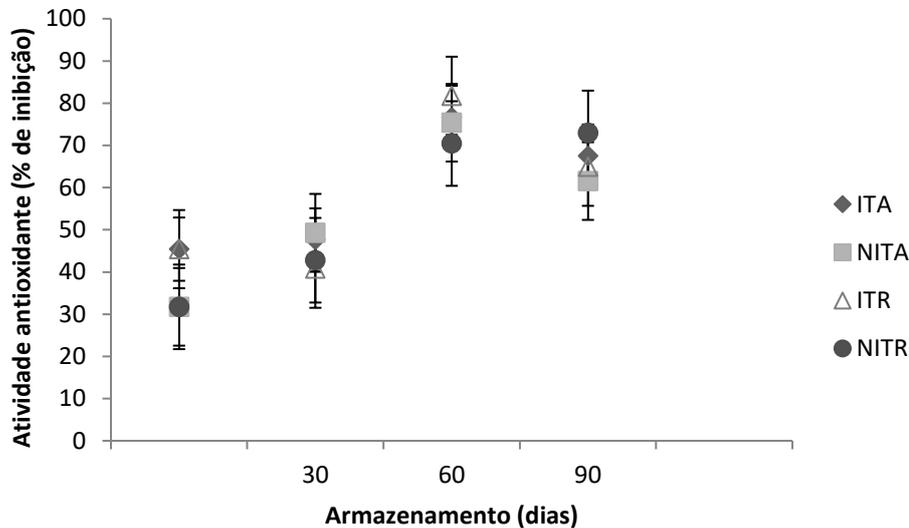
#### Atividade antioxidante

Em relação à atividade antioxidante, pode-se observar aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) dos valores em todos os tratamentos durante o armazenamento (Figura 5). Em 90 dias de armazenamento, os pinhões não irradiados (NITR e NITA) apresentaram os maiores percentuais de inibição, sendo obtidos significativamente ( $p \leq 0,05$ ) os maiores valores para os armazenados em temperatura de refrigeração (72,94%). Por outro lado, o efeito da refrigeração também foi significativo ( $p \leq 0,05$ ), visto que os menores valores foram obtidos para os pinhões irradiados e armazenados a temperatura ambiente (ITA) (61,54%) (dados não mostrados).

Não se observou influência do teor de compostos fenólicos dos pinhões submetidos à cocção na atividade antioxidante, por mais que se observe relação do aumento da atividade antioxidante com o aumento das coordenadas  $a^*$  e  $b^*$ , as quais possivelmente estejam relacionadas com os compostos catequina e quercetina, respectivamente. Entretanto, o aumento da atividade antioxidante pode ser relacionado ao teor de vitamina C.



**Figura 5** - Atividade antioxidante (% de inibição) em pinhões irradiados a 1 kGy e não irradiados, armazenados em temperatura ambiente e refrigeração a 4 °C por 90 dias. As barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%. ITA: Pinhões irradiados armazenados em temperatura ambiente; NITA: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura ambiente; ITR: Pinhões irradiados armazenados em temperatura de refrigeração; NITR: Pinhões não irradiados armazenados em temperatura de refrigeração.



O pinhão após submetido a cocção apresenta maior atividade antioxidante, conforme estudo de Sant’anna et al. (2016), altos valores foram obtidos (87,93% de inibição).

Maraei e Elsayw (2017) observaram aumento na atividade antioxidante de morangos irradiados em diferentes doses, armazenados durante 9 dias a 10 °C. De acordo com os autores, houve redução no teor de vitamina C, porém incremento de compostos fenólicos e antocianinas. Entretanto, Ashtari et al. (2019) ao avaliarem sementes de romã irradiadas, observaram redução na atividade antioxidante, assim como, redução de compostos fenólicos, vitamina C e antocianinas.

## 4 CONCLUSÃO

O armazenamento dos pinhões, independente do tratamento, ocasionou escurecimento das sementes, intensificação da cor vermelha e amarela, assim como redução dos compostos fenólicos e aumento da atividade antioxidante. Dentre os tratamentos, o uso isolado de refrigeração propiciou a obtenção de maiores valores de atividade antioxidante.

## 5 AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## 6 REFERÊNCIAS

- ANTUNES, L.E.C.; GONÇALVES, E.D.; TREVISAN, R. Alterações de compostos fenólicos e pectina em pós-colheita de frutos de amora-preta. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.12, n.1, p.57-61, 2006.
- ASHTARI, M.; KHADEMI, O.; SOUFBAF, M.; AFSHARMANESH, H.; SARCHEHMEH, M.A.A. Effect of gamma irradiation on antioxidants, microbiological properties and shelf life pomegranate arils cv. ‘Malas Saveh’. **Scientia Horticulturae**, v.244, p.365-371, 2019.
- BALBINOT, R.; GARZEL, J. C. L.; WEBER, K. S.; RIBEIRO, A. B. Tendências de consumo e preço de comercialização do pinhão (semente da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze), no estado do Paraná. **Ambiência**, v. 4, n. 3, p. 463-472, 2009.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluated antioxidante activity. **LWT – Food Science and Technology**, v.28, n. 1, p.25-30, 1995.



- CORDENUNSI, B. R.; DE MENEZES, E. W.; GENOVESE, I. G.; COLLI, C.; DE SOUZA, A. G.; LAJOTO, F. M. Chemical composition and glycemic index of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3412-3416, 2004.
- DAVID, A. A. R.; SILOCHI, R. M. H. Q. Avaliação de métodos para conservação de pinhão. **Revista Faz Ciência**, v.12, n.15, p. 207-216, 2010.
- GAMA, T. M. M. T. B.; MASSON, M. L.; HARACEMIV, S.M. C.; ZANETTE, F.; CÓRDOVA, K. R. V. A influência de tratamentos térmicos no teor de amido, cor e aparência microscópica de pinhão nativo (*Araucaria angustifolia*) e pinhão proveniente de polinização controlada. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 4, n. 2, p. 161-178, 2010.
- HUSSAIN, P.R.; MEENA, R.S.; DAR, M.A.; WANI, A.M. Studies On enhancing the keeping quality of peach (*Prunus persica Bausch*) cv. Elberta by gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v.77, n.4, p-473-481, 2008.
- KHATTAK, K.F.; SIMPSON, T.J.; IHSANULLAH. Effect of gamma irradiation on the extraction yield, total phenolic content and free radical scavenging activity of *Nigella Staiva* seed. **Food Chemistry**, v.110, n.40, p.967-972, 2008.
- KOEHNLEIN, E.A.; CARJAVAL, A.E.S.; KOEHNLEIN, E.M.; COELHO-MOREIRA, J.S.; INACIO, F.D.; CASTOLDI, R. Antioxidant activities and phenolic compounds of raw and cooked Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. **African Journal of Food Science**, v.6, p.512-518, 2012.
- MARAEI, W.R.; ELSAWY, M. K. Chemical quality and nutrient composition of strawberry fruits treated by gamma irradiation. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v.10, p.80-87, 2017.
- MENEZES, J.B. Pós-colheita do pedúnculo do caju. **Informe Agropecuário**, v.17, n. 180, p. 13-17, 1994.
- OLIVEIRA, J.; CASTELUCCI, A.C.L.; SILVA, P.P.M.; SILVA, G.M.; SPOTO, M.H.F. Pulp of camu camu (*Myrciaria dubia*) subjected to gamma radiation. **ACTA: Agrônômica**, v.62, n.1, p.7-12, 2013.
- OLIVERA, F. C. **Estudos tecnológicos e de engenharia para o armazenamento e processamento do pinhão**. 2008. 197 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Escola de Engenharia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
- SANT'ANNA, V.; VOLTAIRE, N.M.; MERCALI, G.D.; CORRÊA, A.P.F.; BRANDELLI, A. Effect of cooking on polyphenols and antioxidant activity of *Araucaria angustifolia* seed coat evaluation of phytochemical and microbiological stability over storage. **International Journal of Food Science Technology**, v.51, p.1932-1936, 2016.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.
- STEFANOVA, R.; VASILEV, N. V.; SPASSOV, S. L. Irradiation of food, current legislation framework, and detection of irradiated foods. **Food Analytical Methods**, v. 3, p. 225-252, 2010.
- SONG, H.P.; KIM, D.H.; JO, C.; LEE, C.H.; KIM, K.S.; BYUM, M.W. Effect of gamma irradiation on the microbiological quality and antioxidant activity of fresh vegetable juice. **Food Microbiology**, v.23, p.372-378, 2006.