



Universidade Federal do Ceará  
Departamento de Tecnologia de Alimentos  
Curso de Mestrado em Tecnologia de Alimentos

**Gabriela Almeida de Paula**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESTUDO DO  
ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO EM PRODUTOS DERIVADOS DE  
AÇÁI (*Euterpe oleracea* Mart.)**

Fortaleza-Ceará  
2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
CURSO DE MESTRADO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**GABRIELA ALMEIDA DE PAULA**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESTUDO DO  
ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO EM PRODUTOS DERIVADOS DE  
AÇAI (*Euterpe oleracea* Mart.)**

**FORTALEZA  
2007**

**GABRIELA ALMEIDA DE PAULA**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESTUDO DO  
ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO EM PRODUTOS DERIVADOS DE  
AÇÁI (*Euterpe oleracea* Mart.)**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Profa. Dra. Isabella Montenegro Brasil.

**FORTALEZA  
2007**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

A citação de qualquer trecho desta Dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

---

Gabriela Almeida de Paula

Dissertação aprovada em 24 de agosto de 2007.

### **BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Isabella Montenegro Brasil  
(Orientadora)

---

Prof. Dr. José Maria Corrêa da Costa

---

Profa. Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda  
(Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular)

*Dedico este trabalho de pesquisa aos meus queridos pais **Vandick** e **Lucieuda**, que nunca mediram esforços para que eu sempre conseguisse alcançar meus objetivos. O amor e admiração que tenho por eles é infinita, pelos exemplos, educação, dedicação, carinho e apoio que recebi em todos os momentos da minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar saúde e força a cada novo dia, para que eu concluísse esta obra, estando sempre presente em todos os dias de minha vida.

Agradeço aos meus pais, a quem amo imensamente. Mãe, obrigada pelos seus valiosos conselhos e suas sábias palavras sempre na hora e momento certo. Pai, obrigada pela pessoa maravilhosa e íntegra que sempre foi tornando-se muitas vezes um exemplo pra mim, *meu ídolo*.

A minha irmã Luciana de Paula, muito obrigada por tudo que vocês fez por mim, não tenho palavras para agradecer a sua valiosa ajuda em todo período do mestrado, saiba que seu apoio e sua amizade, me fortaleceram muito, e tiveram grande participação nesse trabalho. As minhas amadas irmãs, Lucieuda de Paula e Vaneuda de Paula obrigada pelo amor, companheirismo, incentivo e apoio, que muito me ajudou para conclusão desse trabalho.

Minha irmã Danielle Netto e meu cunhado Robson Netto, que nunca deixaram de me apoiar e torce pelo meu sucesso profissional... Muito obrigada!!!

A uma pessoa muito especial na minha vida, *meu sobrinho Gabriel de Paula*, que desse do dia que chegou trouxe alegria e amor ao meu dia a dia. Basta vê seu sorriso ou recebe um abraço seu, e todos os problemas parecem sumi. Biel amo muito você!!

Agradeço minha orientadora, Profa. Dra. Isabella Montenegro Brasil, pelos ensinamentos e constante incentivo, além da confiança depositada neste trabalho de dissertação.

A Profa. Dra. Raquel Miranda, que contribuiu com importantes apontamentos, me acolhendo com grande carinho no Laboratório de Fisiologia de frutos, ao qual me proporcionou significativos conhecimentos na área de atividade enzimática.

Ao Prof. Dr. José Maria Correia da Costa, que gentilmente aceitou participar da banca examinadora.

As colegas de curso de mestrado, Ana Maria, Clarice, Gerusa, Ana Paula, Marcela, Deuzenir, Silvana, Anita, Vitória. Lílian, Telma, Nair e tantas outras que sempre guardavam palavras amigas nos momentos difíceis e proporcionaram momentos inesquecíveis durante o decorrer do curso. Em especial a Aline, Tatiana e Danielle. Meu muito obrigada!!!

As minhas amigas e companheiras Alaides Borba e Darlane Freitas, por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos, amigas vocês são muito importantes pra mim!!! As amigas Luana Melo e Rafaella Pinto - "presentes de DEUS na minha vida", obrigada pelos conselhos, amizade, confiança e ótimos momentos de descontração, principalmente quando eu estava estressada e cansada precisando de um ombro amigo.

A minha parceira Leiliane Teles. Que esteve presente desde o começo de tudo aqui... Muito obrigado pelos momentos que passamos juntas, pela sua amizade, confiança, companheirismo e apoio em todas as horas.

A Patricia Cavalcante, pelas horas de dedicação na realização desse trabalho, mas principalmente pela amizade, confiança e companheirismo que neste período de dois anos foi se fortalecendo a cada dia, saiba que se hoje estou concluindo esse valioso trabalho, devo muito a você, por isso este trabalho também é seu. Muito obrigada!!!

A Marília pela ajuda na fase final desse trabalho sendo de fundamental importância e estatisticamente confiável a 100%.

A família Fontenele, obrigada pelas orações, pelo carinho, pelas palavras de incentivo, pelo amor, pela confiança.

A todos os amigos do EJC e do Grupo ESPERANÇA, em especial ao Thiago Batista, Guilherme Henn, Fabrício Almeida, Samuel, pela amizade, o incentivo, o apoio recebido que sempre me encorajavam a seguir em frente.

Aos colegas e funcionários do Laboratório de Frutos, sempre presentes e disponíveis, pelas valiosas contribuições nas análises físico-químicas e químicas realizadas.

Aos colegas do Laboratório de fisiologia vegetal do departamento de bioquímica e biologia molecular, Luciana, Patrícia, Luana e em especial a Marcela, pela amizade e inestimável colaboração durante as análises das atividades enzimáticas. Ao Matheus foi quem primeiro me ajudou nas análises de atividade enzimática.

A Soraya Sancho pela minuciosa correção do “boneco” da dissertação, pelas sugestões e auxílios práticos oferecidos e por sempre estar disposta a ajudar, em busca de novas e melhores idéias.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos, em especial ao secretário Paulo Mendes, pelo carinho, colaboração e amizade durante o decorrer do mestrado.

Aquelas que foram as minhas primeiras orientadoras, Profa. Dra. Maria da Guia e Profa. Dra. Dirce Fernandes, obrigada pela confiança deposita em mim no início da minha vida acadêmica.

Aos meus amigos do lab. 2090 do Dep.de Bioq. e Biol. Molec., Edson, Henrique, Hélio, Alana, Malu, Camila, Neuza, Débora e Mirela pela troca de conhecimentos, pelo apoio e companheirismo. Em especial gostaria de agradecer a Érika e Ana Cláudia, que muito contribuíram para o início da minha vida de pesquisadora, com elas aprendi muito do que sei hoje, muito obrigada!

Aos Prof. Dr. Joaquim Enéas e Prof. Dr. Enéas Gomes, do departamento de bioquímica e biologia molecular da UFC, pela permissão do uso dos seus laboratórios para o desenvolvimento da parte bioquímica dos experimentos. E também a todos os bolsistas, mestrandos e doutorandos dos dois laboratórios.

À Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade de avançar mais um passo em busca de minha realização profissional.

A FUNCAP pela concessão da bolsa de estudos que muito contribuiu para a realização deste trabalho.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a concretização deste sonho.

***“A sabedoria consiste em compreender  
que o tempo dedicado ao trabalho  
nunca é perdido.”***

*(Ralph Emerson)*



## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo detectar atividade das enzimas oxidativas polifenoloxidase e peroxidase do guaiacol na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí, bem como efetuar uma caracterização físico-química nesses produtos. Como matéria-prima para esse estudo foi utilizado polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) tipo C (8% de sólidos totais) obtida no comércio local de Fortaleza-CE (Brasil). O suco tropical de açaí foi preparado utilizando-se 30% da polpa tratada com 0,1% de Cytozym-Ultra L (v/v), obtendo-se um suco com 1,26 °Brix. Do suco tropical obtido foi processado o suco clarificado (1,03 °Brix) adicionando-se solução de quitosana 4%, sendo em seguida filtrado. Na polpa, suco tropical e suco clarificado foi realizada uma caracterização físico-química e química e a determinação das atividades das enzimas PPO e G-POD. Ocorreu diferença estatística ao nível de 5% de significância entre os produtos elaborados com relação a todos os parâmetros físico-químicos e químicos estudados, com exceção da acidez. O suco tropical e clarificado não diferiram estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) com relação aos minerais analisados, com exceção do manganês. A análise dos valores médios das atividades da PPO não apresentou diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade com relação aos três produtos. Por outro lado, para a G-POD ocorreu diferença estatística ( $p \leq 0,05\%$ ) entre o suco clarificado e a polpa e o suco tropical. O suco clarificado de açaí apresentou uma baixa atividade da enzima PPO devido à aplicação do tratamento térmico bem como pela adição de ácido cítrico para manutenção da cor do produto. Adicionalmente, foi verificada uma alta atividade da G-POD em suco clarificado devido possivelmente à interferência de pigmentos escuros provenientes de reações de escurecimento não enzimático sensíveis ao comprimento de onda utilizado para detecção da presença do seu substrato tetraguaiacol.

**Palavras-chave:** *Euterpe oleraceae*, açaí, polifenoloxidase, peroxidase.

## ABSTRACT

The aim of this work was to detect oxidative enzyme activities (polyphenoloxidase and guaiacol peroxidase) in pulp, tropical juice and clarified juice of açai fruit as well as to make a physicochemical and chemical characterization in these products. It was used as a raw material for this study type C açai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) (8% of total solids) obtained from Fortaleza local market (Ceará-Brazil). The açai tropical juice was prepared using 30% of the treated pulp with 0.1% of Cytozym-Ultra L (v/v), obtained a juice with 1,26<sup>o</sup> Brix. The clarified juice was processed (1,03<sup>o</sup>Brix) using 4% chitosan solution as clarifying aid and after that it was filtered. It was carried out a physicochemical and chemical characterization of pulp, tropical juice and clarified juice and was detected PPO and G-POD activities. A Statistical difference was occurred at the level of 5% of significance between the elaborated products with regarding to all the physicochemical and chemical parameters studied, with exception to the acidity. The tropical and clarified juice had not differed statistically ( $p \leq 0,05$ ) with regarding to minerals analyzed, with exception manganese. The statistical analyses of the average values of the PPO activities did not find statistical differences to the level of 5% of probability among the three products. On the other hand, in relation to G-POD it was find a statistical difference ( $p \leq 0,05\%$ ) between the clarified juice and the pulp and tropical juice. The açai clarified juice presented a low PPO activity due to the application of thermal treatment as well as the citric acid addition for maintenance of the color juice. However, a high activity of G-POD was detected in clarified juice possibly due to the dark pigment interference from non enzymatic and enzymatic reactions in wave length used for detection of tetraguaiacol.

**Key- words:** *Euterpe oleraceae*, açai, polyphenoloxidase, peroxidase.

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
1	Composição química e valor energético da polpa e da bebida açai . . . . .	19
2	Médias dos resultados das análises químicas e físico-químicas da polpa e do suco de açai (tropical e clarificado)	50
3	Teores de minerais da polpa, do suco tropical e do suco clarificado de açai . . . . .	66
4	Médias dos resultados das determinações da atividade da polifenoloxidase e da peroxidase do guaiacol da polpa, suco tropical e suco clarificado de açai . . . . .	67

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Estrutura da ferriprotoporfirina . . . . .	32
2	Reação de peroxidação de hidrogênio . . . . .	32
3	Reação de monoxigenase . . . . .	37
4	Reação de oxidase . . . . .	37
5	Fluxograma de elaboração do suco tropical de açaí . . . . .	41
6	Processamento de clarificação do suco tropical de açaí. . .	42
7	Médias dos valores de acidez na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí . . . . .	51
8	Médias dos valores de pH na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí . . . . .	52
9	Médias dos valores de sólidos solúveis totais na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí. . . . .	53
10	Médias dos valores de açúcares redutores na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí. . . . .	54
11	Médias dos valores de açúcares não redutores na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí. . . . .	56
12	Médias dos valores de açúcares solúveis totais na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí. . . . .	57
13	Médias dos valores de vitamina C na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí. . . . .	58
14	Médias dos valores de antocianinas totais na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí. . . . .	60
15	Médias dos valores de luminosidade na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí. . . . .	62
16	Médias dos valores de proteínas na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí. . . . .	63
17	Médias dos valores de lipídios totais na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí. . . . .	65
18	Médias dos valores da atividade da polifenoloxidase na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí. . . . .	68
19	Médias dos valores de peroxidase do guaiacol na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí. . . . .	71

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	15
2.1	Açaí .....	15
2.1.1	Características gerais .....	15
2.1.2	Mercado e comercialização .....	16
2.1.3	Aspectos nutricionais: os benefícios do açaí .....	17
2.1.4	Composição química do fruto açaí .....	18
2.1.5	A bebida açaí .....	25
2.1.6	Suco tropical de açaí .....	27
2.1.7	Processamento do suco clarificado .....	28
2.1.8	Escurecimento enzimático .....	30
2.1.8.1	Peroxidade .....	31
2.1.8.1.1	Características gerais .....	31
2.1.8.2	Polifenoloxidase .....	36
2.1.8.2.1	Características gerais .....	36
3	Material e métodos .....	40
3.1	Material .....	40
3.1.1	Matéria-prima .....	40
3.1.2	Agentes clarificantes .....	40
3.2	Metodologia .....	40
3.2.1	Processamento do suco tropical de açaí .....	41
3.2.2	Processamento do suco clarificado de açaí a partir do suco tropical de açaí .....	41
3.2.2.1	Tratamento enzimático .....	41
3.2.2.2	Processamento de clarificação .....	42
3.2.3	Análises físico-químicas e químicas .....	43
3.2.3.1	pH .....	43
3.2.3.2	Acidez total titulável .....	43
3.2.3.3	Sólidos solúveis totais .....	43
3.2.3.4	Açúcares redutores .....	43
3.2.3.5	Açúcares não-redutores .....	44
3.2.3.6	Açúcares totais .....	44
3.2.3.7	Vitamina C .....	44
3.2.3.8	Antocianinas totais .....	44
3.2.3.9	Determinação de proteínas .....	45
3.2.3.10	Lipídios totais .....	45
3.2.4	Análise instrumental .....	45
3.2.4.1	Luminosidade .....	45
3.2.5	Determinação de minerais para polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí .....	46
3.2.6	Determinação da atividade da polifenoloxidase (PPO) e da peroxidase do guaiacol (G-POD) em polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí .....	47
3.2.6.1	Extração enzimática .....	47
3.2.6.2	Determinação de atividade da Polifenoloxidase (PPO) .....	48

3.2.6.3	Determinação de atividade da Peroxidase do guaiacol (G-POD) .....	48
3.2.7	Estatística .....	49
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	50
4.1	Determinações químicas e físico-químicas na polpa e nos sucos de açaí tropical e clarificado .....	50
4.1.1	Acidez total titulável .....	50
4.1.2	pH .....	51
4.1.3	Sólidos solúveis totais .....	53
4.1.4	Açúcares redutores .....	54
4.1.5	Açúcares não-redutores .....	55
4.1.6	Açúcares totais .....	56
4.1.7	Vitamina C .....	58
4.1.8	Antocianinas totais .....	59
4.1.9	Luminosidade .....	62
4.1.10	Proteínas .....	63
4.1.11	Lipídios totais .....	64
4.2	Determinação de minerais .....	66
4.3	Determinação das atividades enzimáticas da peroxidase do guaiacol e polifenoloxidase .....	67
4.3.1	Atividade enzimática Polifenoloxidase (PPO) .....	68
4.3.2	Atividade enzimática da peroxidase do guaiacol (G-POD) ...	70
5	<b>CONCLUSÃO</b> .....	73
6	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	74
	<b>ANEXOS</b> .....	86

## 1 INTRODUÇÃO

O açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma palmeira tropical nativa da Amazônia. Seus frutos são utilizados na produção da polpa de açaí, um alimento muito consumido pelas populações regionais (SOUSA, 1999).

Um crescimento de demanda no mercado nacional foi observado nos últimos anos, despertando grande interesse em investimentos e pesquisas sobre o açaí. Este aumento pode ser atribuído às propriedades nutricionais e alto teor calórico do açaí, pois este é um alimento rico em proteínas, fibras, lipídios, vitamina E e minerais como manganês, cobre, boro, e cromo. Além de disso, este fruto possui um elevado teor de pigmentos antocianinas, que são benéficos à saúde, pois favorecem a circulação sanguínea e protegem contra a arteriosclerose (ROGEZ, 2000).

Dos frutos do açazeiro é produzido um extrato aquoso conhecido na região Norte do país como o “vinho”, polpa ou simplesmente açaí. Na região Norte principalmente no estado do Pará, o açaí é habitualmente consumido com farinha de mandioca, associado ao peixe, camarão ou carne, sendo o alimento básico para as populações de origem ribeirinha. Nas demais regiões do Brasil, o açaí é consumido como bebida energética, geralmente acompanhada com xarope de guaraná e outras frutas. É também consumido por atletas devido às suas propriedades nutricionais e valor calórico incontestáveis.

O aumento da demanda deste fruto levou a agroindústria a produzir e exportar a polpa nas formas congelada, pasteurizada e misturada com guaraná. Há ainda as variações em pó, suco *in natura*, suco concentrado, vinho, néctar de açaí, licor caseiro, sorvete, geléia e bebidas energéticas, podendo ser aproveitado, também, para a extração de corantes e antocianina (TINOCO, 2005).

O Brasil é o único produtor de açaí do mundo e, em 2002, exportou 12.291 toneladas de polpa de congelada e pasteurizada, segundo dados da pesquisa “Mercado e comercialização de produtos do açaí”. Atualmente o estado do Pará é o principal produtor do País (MOURÃO, *et al.*, 2000).

O suco extraído a partir da polpa do fruto de açaí não resiste à conservação e apresenta um tempo de conservação máxima de 24 horas mesmo sob refrigeração. O açaí sofre vários fenômenos de oxidação como mudança de cor e de *flavour* que podem ser atribuídos principalmente à presença de enzimas oxidativas presentes no fruto, ou produzidas pelos microorganismos contaminantes (QUEIROZ *et al.*, 1996).

Atualmente, a indústria processadora de sucos enfrenta sérios problemas referentes à atividade das enzimas oxidativas, como a polifenoloxidase (PPO - EC 1.14.18.1) e a peroxidase (POD - E.C. 1.11.1.7). Esse problema é de considerável importância para a indústria de alimentos porque afeta a qualidade nutricional e aparência, reduz a aceitabilidade do consumidor causando significativo impacto econômico para os produtores primários e para a indústria processadora de alimentos (ZANATTA *et al.*, 2006).

Um entendimento dos detalhes do processo de escurecimento enzimático é necessário para controlá-lo e para se obter um produto final que seja aceitável pelo consumidor. Alguns produtos tropicais são difíceis de serem transportados para outros mercados sem que sofram nenhum tipo de dano físico. Desta, novos avanços tecnológicos precisam ser obtidos de modo que esses produtos estejam disponíveis para mercados mais distantes.

Diante do exposto este trabalho teve como objetivos: Detectar atividade das enzimas oxidativas (Polifenoloxidase e Peroxidase do Guaiacol) na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí bem como efetuar uma caracterização físico-química e química desses produtos.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Açaí

#### 2.1.1 Características gerais

Dentre as inúmeras palmeiras que habitam o solo amazônico, o açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma das fruteiras típicas da Amazônia Oriental Brasileira que cresce nas várzeas do Rio Amazonas, o açaí é uma frutinha arredondada e de cor escura, de onde se extrai uma bebida tradicionalmente conhecida como “vinho” de açaí.

A palmeira do açaí nasce em touceiras com cerca de seis troncos, que são ligeiramente curvos. Cada tronco dá até quatro cachos com frutos. É uma planta que prefere os terrenos alagados e áreas úmidas. Por isso, sua ocorrência é mais freqüente nas margens dos rios, como o Amazonas. Como floresce e frutifica o ano todo, é possível encontrar na mesma árvore, desde flores até frutos maduros. Dessa árvore, que chega a 30 m. de altura e tem nome e sobrenome (*Euterpe oleracea* Mart.) aproveita-se tudo. As folhas são usadas para cobertura de casas; a madeira é usada em construções rústicas; as fibras das folhas para tecer chapéus, esteiras e "rasas", cestas utilizadas como medida-padrão no transporte e comércio da fruta; os cachos secos são aproveitados como vassouras. (PIMENTEL, 2006).

Apesar de ter uso integral, seus frutos destacam-se como a parte mais importante economicamente, sendo utilizados pela população amazônica, desde a época pré-colombiana, para a obtenção da bebida denominada de “açaí”. Por apresentar caules múltiplos, o açazeiro também passou a ser utilizado na indústria de processamento de palmito, que, desde a década de 70, responde por grande parte da produção nacional, em substituição ao palmito (*E. edulis* Mart.), espécie de caule solitário e sob risco de extinção, enquanto a bebida obtida de seus frutos era comercializada apenas no Estado do Pará e em alguns Estados da Amazônia.

O reconhecimento como fruteira de expressão econômica é fato recente, porém já ultrapassou as fronteiras da Amazônia, sendo comercializado nas grandes capitais brasileiras, nas mais diferentes formas (sorvetes, picolés, alimento energético, acompanhado de outras frutas e cereais, bebida energética, geléias, etc.). Em virtude da expansão comercial dessa bebida, muitos produtores brasileiros vêm mostrando interesse no seu cultivo em escala comercial, especialmente os das Regiões Norte e Nordeste.

### **2.1.2 Mercado e comercialização**

A região Norte é o principal mercado do “açai”, especialmente o Estado do Pará, onde o consumo ultrapassa a barreira de 180.000t por ano, constituindo-se no maior produtor e maior consumidor, respondendo por cerca de 93% da produção nacional. Estima-se que na cidade de Belém o consumo diário da bebida “açai” é de 360.000 litros, onde o maior volume é comercializado imediatamente após o seu processamento, sem resfriamento ou congelamento (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

As demais regiões do Brasil, a polpa congelada de açai começou a ser comercializada a partir da década de 1990, mas não há estimativas da quantidade consumida, alguns relatos mostram consumo de 200 t/mês somente da cidade do Rio de Janeiro (COHEN, 2006).

Os produtos oriundos do açai têm sido apresentados em feiras internacionais na Europa e na América do Norte, despertando o interesse do público, em geral amostras da polpa e de seus derivados têm sido remetidas para outros países, especialmente para a Áustria, Alemanha, Estados Unidos e Japão.

Um dos aspectos que vem tendo grande destaque no modo de utilização do açai na indústria de alimentos é como fonte natural de corante, haja vista a tendência mundial de proibição de muitos corantes sintéticos, particularmente os que apresentam efeitos cancerígenos. Os corantes extraídos do açai têm sido utilizados, experimentalmente, no preparo de bombons tipo “hard candies” e de gelatina, com excelentes resultados. (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

Outro segmento que podemos destacar é o de bebidas isotônicas, o produto com sabor artificial de açaí já pode ser encontrado nas prateleiras das grandes redes de supermercados que atuam no Brasil, sendo um bom indicativo de aceitação do açaí pelo público.

Uma prova da expansão do mercado de açaí é o investimento no plantio em escala comercial que vem sendo feito por empresários e produtores de outras regiões brasileiras, principalmente, dos Estados da Bahia, Ceará, Pernambuco, Rio de Janeiro, Goiás, São Paulo e Mato Grosso do Sul. Há também registros de grandes plantios de açazeiro nos Estados de Rondônia e Acre (COHEN, 2006)

### **2.1.3 Aspectos nutricionais: os benefícios do açaí**

O Açaí além de ter um sabor delicioso e refrescante, é rico em lipídios e vitamina E, que ajuda a combater os radicais livres. A alta concentração de fibras melhora as funções intestinais, percebidas em duas semanas de consumo. A presença de vitamina B1 e o teor elevado de pigmentos anticianianos que são antioxidantes, favorece a circulação sanguínea. Mas, seu componente mais importante é o ferro, indicado no tratamento de anemias e fortalecimento muscular. Por causa de seus valores nutricionais, o açaí vem despertando o interesse de pesquisadores de todo o mundo.

Uma pesquisa realizada pela Universidade Federal do Pará e coordenada pelo químico belga, Herve Rogez (2000), levantou a tabela nutricional do açaí, permitindo concluir que este é o ingrediente perfeito para um café da manhã reforçado e para praticantes de atividades esportivas, crianças e executivos. Por ser rico em ferro, fibras, fósforo, minerais, gordura vegetal, cálcio, potássio e vitaminas, a fruta parece ter saído do laboratório dos nutricionistas de encomenda para geração saúde. As qualidades protéicas do Açaí começaram a ser disseminadas por praticantes de Jiu-jitsu, e hoje, a fruta é recomendada para praticamente todos, sobretudo para os idosos e para os que têm problemas digestivos.

Segundo ROGEZ (2000) "uma tigela da fruta contém o total de fibras diárias necessárias para o homem." Por suas características o açaí é considerado uma das mais nutritivas frutas da Amazônia, perdendo apenas para a castanha-do-pará.

#### **2.1.4 Composição química do fruto açaí**

A proporção comestível dos frutos do açaizeiro é relativamente pequena, pois ela representa apenas 6,7% (Aguiar *et al.*, 1980), 17% (CHAVES & PECHNICK, 1948; ALLTMAN, 1956), 19,7% ( BENTES & SERRUYA, 1992) ou 12% do peso dos frutos (7,5% de polpa realmente aproveitada e 4,5% de borra).

Estudos demonstram que o açaí é essencialmente energético (IBGE, 1982, CAVALCANTE, 1996) com elevada concentração de fibra alimentar (AGUIAR, 1996). Entretanto, há muito que se estudar em relação aos constituintes químicos no que se refere a ácidos graxos, corantes e elementos minerais, particularmente o ferro, uma vez que a literatura é escassa e os dados são em função da compilação, quantidade de amostras utilizadas, metodologias e variação em função do solo.

A Tabela 1 apresenta a composição química da porção industrializável do fruto (epicarpo e mesocarpo) de acordo com ROGEZ (2000).

Tabela 1 - Composição química e valor energético da polpa e da bebida açaí

Variável	Valores médios
pH	5,23
Matéria graxa (%)	52,64
Mat. Nitrog. Total (%)	10,05
Glicose (%)	1,55
Frutose(%)	1,36
Sacarose (%)	0,05
Fibras (%)	25,22
Antocianinas (mg/kg frutos)	440
Cinzas totais (%)	3,09
Ca (g/kg M.S.)	3,09
P (g/kg M.S.)	1,47
Mg (g/kg M.S.)	1,78
K (g/kg M.S.)	9,90
Na (g/kg M.S.)	0,76
Zn (g/kg M.S.)	17,30
Cd (g/kg M.S.)	0,46
B (g/kg M.S.)	15,84
Fe (g/kg M.S.)	20,59
Mn (g/kg M.S.)	323
Cu (g/kg M.S.)	13,76
Ni (g/kg M.S.)	2,03
Cr (g/kg M.S.)	5,31
Vitamina C (mg/100g M.S.)	17
Vitamina B <sub>1</sub> (mg/100g M.S.)	0,67
Vitamina B <sub>2</sub> (mg/100g M.S.)	0,02
Vitamina B <sub>3</sub> (mg/100g M.S.)	0,7
α -tocoferol (mg/100g M.S.)	45

Fonte: Rogez (2000).

O açaí apresenta propriedades nutricionais importantes, pois é um fruto com alto teor energético e valores calóricos, cerca de 247 kcal/100g de polpa, provenientes da grande quantidade de lipídios e amido que o fruto contém (FREIRE *et al.*, 2000; ROGEZ, 2000). Também é rico em fibras, tocoferol (vitamina E), minerais tais como: manganês, cobre, boro, magnésio, cálcio, cromo e potássio (OLIVEIRA *et al.*, 2000).

A polpa de açaí apresenta em sua composição química conteúdo protéico elevado, com quantidade semelhante ao leite (VILLACHICA, 1996), podendo prover entre 25 a 30% das quantidades recomendadas (ROGEZ, 2000), o que a torna como fonte de proteína, diferindo das demais frutas, pois, geralmente, não apresentam conteúdo de proteína significativo. Franco (2003) relata que o teor de proteína em açaí é cerca de 3,8g por 100g de polpa.

Rogez (2000) obteve em suas pesquisas pH médio de 5,23, relatando que o açaí é uma bebida pouco ácida. Segundo este mesmo autor, as variações de pH são devidas aos ácidos orgânicos do solo, condições edafoclimáticas diferentes e aumentam de maneira significativa no decorrer do tempo da safra, devido a uma leve alcalinização. Já Silva *et al.* (2004) referenciaram, em sua pesquisa sobre caracterização química da polpa dos frutos de açaí oriundos da região sul da Bahia, valor médio de pH equivalente a 4,8.

O açaí é um alimento altamente calórico devido ao seu alto percentual em matéria graxa, o principal componente do açaí em termos quantitativo (45,85% a 50,67% da matéria seca) (CAVALCANTE, 1996, IBGE, 1982). O consumo diário de um litro de açaí médio (mistura de água e polpa de açaí com teor de sólidos totais entre 11% e 14%) com 12,5% de matéria seca contém 65,8 g de lipídios, que correspondem a 66% na ingestão diária de lipídios requerida (100 g) (CNNB,1996).

Essa quantidade fornece 592 kcal das 657 kcal totais contidas em um litro de açaí médio, quer dizer, mais de 20% da contribuição energética cotidiana para um homem adulto. Isso lhe confere um valor energético comparável ao do leite integral de vaca (614 kcal/L) (USDA,1998). Esse valor energético é parcialmente responsável pelo êxito do açaí no meio dos desportistas. Os lipídios representam cerca de 90% das calorias contidas dentro dessa bebida. Devido ao bom perfil lipídico desse fruto, o consumo de açaí permite assegurar um melhor aproveitamento em ácidos graxos mono e poli insaturados.

Segundo Rogez (2000) a polpa de açaí destaca-se, dentre as frutas, quanto ao teor de lipídios, apresentando como uma boa fonte de lipídios, capaz de suprir cerca de 65% das necessidades teóricas recomendadas para um homem adulto. Para Pereira *et al.* (2002), em seus estudos com polpa de açaí, obtiveram valor de 42,72g/100g de matéria seca, enquanto que Rogez *et al.* (1996) obtiveram conteúdo de 48,00g/100g. Em estudo posterior com 124 amostras, Rogez (2000) encontrou teor médio um pouco mais elevado com equivalente a 52,64 g/100g de matéria seca, destacando-o elevado teor de  $\alpha$ -tocoferol, em torno de 45 mg/100g de matéria seca. De acordo com Yuyama *et al.* (2006) uma característica relevante do açaí é a concentração elevada de ácidos graxos, particularmente o oléico, palmítico e linoléico. Segundo Rogez (2000) esse perfil lipídico que o açaí apresenta é muito interessante e é bastante semelhante ao encontrado em oliva.

A polpa de açaí apresenta em sua composição química conteúdo protéico elevado, com quantidade semelhante ao leite (VILLACHICA, 1996), Um litro de açaí *médio* contém 12,6g de proteína, o que representa 25-30% da quantidade nutricional diária necessária. Quando comparado com outras frutas, o açaí apresenta um teor elevado em proteína: o teor médio em matéria nitrogenada total é de 10,05% em relação à matéria seca. Franco (2003) relata que o teor de proteína em açaí é cerca de 3,8 g por 100 g de polpa.

Segundo MOURÃO (2000) o açaí natural não pode ser considerado como uma bebida energética de rápida assimilação. Um litro de açaí *médio* contém em média 3,7g de açúcares fornecendo apenas 11kcal. Por isso esse alimento pode ser recomendado para as pessoas diabéticas.

O açaí apresenta o teor em glicídios assimiláveis (glicose, frutose e sacarose) relativamente baixo quando comparados com os demais frutos tais como abacaxi, pera, cítrico e banana. (ROGEZ, 2000).

Análise dos açúcares do açaí por cromatografia líquida mostra a presença de glicose e de frutose (1,55% e 1,36% respectivamente em relação à matéria seca). A sacarose é quase ausente no produto (0,05% da massa seca) (ROGEZ, 2000).

Um dos componentes mais abundantes no fruto de açaí são os carboidratos, representado, principalmente pelo amido como fonte energética e pelas fibras dietéticas. O conteúdo em fibras varia fortemente de uma espécie frutífera a outra. A ingestão diária aconselhada de fibras alimentares totais é de 35 g por adulto, os consumidores de açaí atingem facilmente esta quantidade, pois um litro de açaí médio contém 31,5g de fibras alimentares totais, o que corresponde a 90% da recomendação diária (ROGEZ, 2000). A polpa de açaí caracteriza-se por conter quantidades consideráveis de fibra alimentar, particularmente a insolúvel. Os teores encontrados por Yuyama *et al.* (2006) foram entre 5,9 a 7,7%, diferenciando de Rogez (2000) que encontrou valor mais elevado 25,22% m.s, afirmando ser o segundo composto de maior quantidade no açaí.

De acordo com os dados da Tabela 1 podemos considerar o fruto rico em vitamina E (45 mg/ 100 g de matéria seca). A vitamina B1 (0,25 mg/ 100 g de matéria seca) está muitas vezes presente em quantidades significativas nas plantas oleaginosas. Todavia, sendo de 1,3-1,5 mg as necessidades diárias para o adulto, o açaí não pode ser considerado como uma fonte suficiente.

As frutas são as principais fontes de vitamina C, destacando-se entre as frutas: camu-camu (1950mg/100g), acerola (1374mg/100g), caju (270mg/100g), goiaba (218mg/100g). (BUENO *et al.*, 2002; SILVA e NAVES, 2001; YUYAMA *et al.*, 2002).

O valor encontrado por Franco (2003) para vitamina C na polpa de açaí foi de 9,0 mg/100g e ENDEF (1977) citado por Rogez (2000) encontrou valor de 17 mg/100 g de matéria seca. Há pouco estudo sobre essa vitamina em açaí, necessitando de mais pesquisas.

As cinzas totais, que contém os elementos minerais, apresentam uma concentração média de 3,09% (Tabela 1). Segundo ROGEZ (2000) os teores de cinzas totais variam de acordo com a variedade, origem da planta e a época de colheita. O potássio é o mineral mais abundante do açaí (990 mg/ 100 g de matéria seca). O cálcio é o segundo mineral mais abundante (133 a 309 mg/ 100 g de matéria seca). Em média o teor de magnésio é de 178 mg/ 100 g de matéria seca.



Quanto ao fósforo, as quantidades médias desse mineral são de 147 mg/ 100 g de matéria seca, mas não são relevantes se comparado com outras frutas.

Segundo Rogez (2000) o açaí fornece quantidade notáveis (entre 25% a 65% do valor recomendado) de cálcio, magnésio, potássio e níquel, sendo também boa fonte de manganês, cobre, boro e cromo. Em se tratando de ferro em açaí, há grande divergência na literatura em relação ao seu teor. Yuyama *et al.* (2006), em seu estudo com diferentes ecossistemas amazônicos, obteve valores entre 460,3 a 1093,5 µg%, valores estes bem abaixo do citado por Franco (2003) que, em seus estudos de composição química, compara o teor de ferro em açaí com outras frutas tropicais obtendo um valor de 11,8 mg/100g, bastante superiores as demais. Rogez (2000) encontrou para açaí valor de 2,6 mg/100g de matéria seca. Outro valor diferente foi obtido por Silva *et al.* (2004) com teor de 32,8 mg/100g M.S de açaí.

As propriedades antioxidante e anti-radical e sua caracterização química de seus compostos fenólicos bem como seu potencial como ingrediente funcional de alimentos e pigmento natural tem sido recentemente estudada. Cianidina 3-O-glicosídeo e vários ácidos hidroxibenzoico e hidróxido cinâmico foram detectados em suco de açaí.(COISSON *et al.*, 2005).

Além de serem responsáveis pela coloração de certos vegetais, as antocianinas possuem propriedades antioxidantes (FRANCIS, 2000). Sem dúvida, as atividades antioxidantes das antocianinas podem responder por alguns dos efeitos benéficos derivados do consumo de frutas e hortaliças ricas em antocianinas contra doenças cardiovasculares e outras doenças (OLUKEMI e OLUKEMI, 2005). Segundo Chitarra e Chitarra (2005) as antocianinas são consideradas como excelentes antioxidantes por doarem hidrogênio aos radicais livres altamente reativos, prevenindo a formação de novos radicais. Também possuem eficácia antiinflamatória e o seu consumo tem demonstrado ação farmacológica em artrites e gotas (WANG *et al.*, 1999).

Wang *et al.* (1997) mostraram que o poder antioxidante varia significativamente segundo o tipo de antocianina. Diversos estudos foram realizados sobre os tipos de antocianinas presentes em açaí. Segundo os pesquisadores laderoza *et al.* (1992); Constant (2003); Gallori (2004) o açaí é formado por uma mistura simples de antocianinas, predominando dois tipos de antocianinas que foram identificadas por métodos químicos e físicos como cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo. Já Bobbio *et al.* (2000) identificou cianidina-3-arabinosídeo e cianidina-3-arabinosil-arabinosídeo como as duas principais antocianinas dos frutos do açaí.

Rogez (2000) cita em seu livro que as antocianinas apresentam inúmeras propriedades vantajosas para a saúde e que o seu teor no açaí é muito importante e constitui um critério de qualidade dos frutos de açaí e da bebida.

O fato de o açaí conter altas concentrações de antocianina que combate a arteriosclerose, o caracteriza como um alimento funcional, muito apreciado no mundo todo e especialmente na Europa (TATENO, 2001). Rogez (2000) afirma que cada litro de açaí médio contém aproximadamente 1 g de antocianinas, quantidade muito elevada. Isso faz do açaí uma fonte de corante vermelho muito interessante para as indústrias alimentar e farmacêutica.

Em relação a outras frutas, o açaí tem mostrado ser uma excelente fonte de antocianinas por apresentar maior concentração deste pigmento na sua polpa (TJIN AKWIE, 2000). O teor de antocianinas encontradas por Bobbio *et al.* (2000) foi de  $50,00 \pm 5$  mg por 100,00g de frutos. Constant (2003), em seu estudo com extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí, encontrou teor de antocianinas para o fruto fresco de 127 mg/100 g de frutos (base úmida). Rogez (2000) encontrou um valor de 44,00 mg/100g de frutos

### 2.1.5 A bebida açai

O fruto do açazeiro geralmente não é consumido “in natura”, pois apresenta escasso rendimento de parte comestível e sabor relativamente insípido, quando comparado com a maioria das frutas tropicais. (ROGEZ,2000).

Seus frutos são utilizados na obtenção da bebida denominada de “açai”, um refresco de consistência pastosa, obtido por extração mecânica (em máquinas despulpadoras) ou manual. Essa bebida é obtida com a adição de água durante o processamento dos frutos, o que facilita, sobremaneira, as operações de despulpamento e filtração.

A etapa de amolecimento dos frutos, facultativa ou não, segundo os fabricantes, consiste em deixar os frutos em água morna a fim de amolecer o mesocarpo antes do despulpamento propriamente dito. O tempo de amolecimento flutua entre zero minuto quando os frutos despelam naturalmente e 12 h (a noite completa). Em termos médios a duração é de 10 a 60 min. A temperatura da água de amolecimento varia de 25-a 60 °C.

Depois do amolecimento existem três formas de preparar o açai: despulpamento manual, despulpamento com uma máquina manual e despulpamento com uma máquina a motor elétrico. Uma batelada de 5 kg de frutos tem um rendimento variável de açai: 4,5-7 L de açai fino, 3-4, 5 L de açai médio e 1,5-2,5 L de açai grosso. Em termos absolutos, o tempo de batida é um fator que age de forma altamente significativa sobre a massa de açai recolhida (perda de 18g /min de batida), sobre o teor em matéria seca (ganho de 1,03% min de batida) e sobre a matéria seca total coletada (ganho total de 2,37 g/ min de batida).

Os Padrões de Identidade e Qualidade para a polpa de açai no Brasil, estabelecidos pela Instrução Normativa n. 12 de 10 de setembro de 1999 (BRASIL, 2000), define polpa de açai e o açai como produtos extraídos da parte comestível do fruto do açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) após amolecimento através de processos tecnológicos adequados.

Dependendo da quantidade de água utilizada no processo de extração, a bebida é classificada, segundo as normas do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento como:

- Polpa de açaí é a polpa extraída do açaí, sem adição de água, por meios mecânicos e sem filtração, podendo ser submetido a processo físico de conservação;
- Açaí grosso ou especial (Tipo A) é a polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando acima de 14% de sólidos totais e uma aparência muito densa;
- Açaí médio ou regular (Tipo B) é a polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando acima de 11 à 14% de sólidos totais e uma aparência densa;
- Açaí fino ou popular (Tipo C) é a polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando de 8 à 11% de sólidos totais e uma aparência pouco densa.

Quando o despulpamento é efetuado sem a adição de água, obtém-se a polpa integral de açaí, que deve conter, no mínimo, 40% de sólidos totais. Essa forma de obtenção do produto tem sido usada apenas experimentalmente e visa ao atendimento de mercados distantes dos centros de produção. No entanto, nenhuma das despulpadoras disponíveis no mercado processa com eficiência o fruto sem adição de água.

A polpa de açaí e o açaí deverão ter composições de acordo com as características do fruto que lhe deu origem, não devendo apresentar alterações, mistura com outros frutos de espécie diferente e Boas Práticas de Fabricação (BPF) e obedecer às seguintes características físico-químicas e químicas mínimas: 40° Brix em sólidos totais (20°C), 5 g/ 100 mg de proteína, 20 g/ 100 mg de lipídios totais e 51 g/mg de carboidratos totais. No caso do açaí pasteurizado e mantido à temperatura ambiente, será permitida a adição de ácido cítrico, de acordo com as BPF.

### 2.1.6 Suco tropical de açaí

Seguindo os passos da indústria de alimentos mundial, a indústria processadora de sucos no Brasil está passando por um processo de concentração produtiva e de propriedade com crescente inserção internacional, até como exportadora de capital. Nesse sentido, há uma mudança na visão de agroindústria processadora de sucos identificada especificamente com algumas regiões produtoras, principalmente São Paulo. Os desafios competitivos são enormes e vão além do rompimento das barreiras protecionistas impostas por alguns competidores, como os EUA (RIGON, 2005).

O açaí, pelo seu inegável potencial como fonte natural de fitoquímicos antioxidantes e sua grande capacidade de aproveitamento industrial, tem atraído o interesse do setor industrial e passou a ter importância econômica em várias regiões do Brasil, além da região Amazônica. A maior parte da produção de açaí encontra-se vinculada ao setor de pequenas indústrias, pois não se acredita no potencial de comercialização da fruta fresca, devido sua alta perecibilidade (ROGEZ, 2000).

Segundo Vaillant *et al.* (2005) em torno de 20% da produção de frutos tropicais frescos é prejudicada pelas exigências do mercado internacional com relação à questão da qualidade. Todavia tais frutos rejeitados apresentam excelentes características internas e poderiam ser utilizados para a indústria de processamento de frutos pelos seus agradáveis aromas e riqueza em antioxidantes.

De acordo com Kashyap *et al.* (2001) o suco integral dos frutos tropicais em geral é muito viscoso sendo os sólidos em suspensão muito difíceis de se remover do corpo do suco. A presença das substâncias pécticas que são suspensas como partículas insolúveis no suco é responsável por uma série de problemas durante o processamento de sucos de frutas tropicais, pois quando a fruta é macerada, a pectina e outros polissacarídeos insolúveis como celulose e hemicelulose, são dispersados em solução, promovendo um aumento de viscosidade do suco impedindo uma boa filtração, podendo provocar entupimento de filtros e redução da velocidade do processo de filtração, além disso, torna a

concentração de sucos extremamente difícil, até impossível, devido a inconveniência de sua presença dificultando a retirada do suco celular.

A aceitação de sucos tropicais no mercado internacional requer melhoria nas técnicas de processamento, como inclusão da etapa de clarificação, pois uma vez límpido esse suco poderá ser matéria-prima de alta qualidade para processos de concentração e fabricação de novos produtos derivados de fruto (CHATTERJEE *et al.*, 2004).

### **2.1.7 Processamento de suco clarificado**

A tecnologia de clarificação do suco tropical de açaí através da remoção de lipídios e sólidos insolúveis é um dos métodos de otimização das propriedades sensoriais e de aceitabilidade mercadológica (PACHECO-PALENCIA *et al.*, 2006).

Conforme HEATHERBELL os agregados moleculares e resíduos celulares dispersos no corpo do suco podem alcançar um tamanho de aproximadamente  $0,001 \mu$  ( $0,1 \text{ m}\mu$ ) a  $1000 \mu$  ( $1,0 \text{ mm}$ ) de diâmetro. Tais partículas permanecem sólidas em suspensão através de cargas de repulsão e por polissacarídeos coloidais estabilizantes tais como pectina, amido e gomas. Partículas menores de aproximadamente  $100\text{-}500 \mu$  podem se sedimentar rapidamente enquanto as menores podem ser removidas por centrifugação ou filtração. Convém ressaltar que é difícil ou até impossível remover material “coloidal” disperso de tamanho variando de  $0,001\text{-}0,1 \mu$  por tais processos, contudo, a aplicação de agentes clarificantes em conjunção com um tratamento enzimático é essencial para mover esse diminuto material coloidal.

De acordo com VAILLANT *et al.* (2005) os processos empregados na clarificação dos sucos de fruta são dos tipos físicos como precipitação através de ultracentrifugação, bioquímicos através da ação de uma mistura de enzimas pectinolíticas e químicos com o uso de agentes clarificantes tais como gelatina, sílica sol, betonita e outros. Vale destacar um método ultra moderno de clarificação de

sucos termosensíveis, a microfiltração através de fluxo cruzado (“crossflow microfiltration”). Esse processo trabalha a frio, sendo uma excelente alternativa para a substituição do tratamento térmico resultando em sucos clarificados de boa estabilidade microbiológica além de preservar a maior parte do aroma original do fruto através de uma tecnologia de membrana.

Segundo TRIFIRÓ *et al.* (1987), citados por QUEIROZ (1998), sucos e purês são considerados, sob o ponto de vista reológico, como fluidos pseudoplásticos, e o afastamento do comportamento newtoniano é determinado pelo conteúdo de polpa do produto, acrescentando que sucos despulpados, ou com pouca polpa, se comportam como newtonianos. Aumentado-se o conteúdo de polpa, aumenta-se o caráter pseudoplástico. Uma ação enzimática ou mecânica, que modifique a estrutura da polpa, terá repercussão no seu comportamento reológico.

Segundo BARROS (2002), o tratamento enzimático aumenta o tamanho das partículas de sólidos suspensos, devido à redução da repulsão eletrostática entre as nuvens de partículas, fazendo-as se agruparem.

De acordo com LANG & DORNENBURG (2000) as numerosas aplicações das enzimas pectolíticas na tecnologia moderna dos sucos de frutas podem ser resumidas em dois problemas básicos: a dissolução da protopectina e a degradação da pectina dissolvida. Ainda acrescentam que, mediante a dissolução da protopectina nas frutas maceradas se obtém a liberação do suco e em consequência, um rendimento mais elevado com a saída mais fácil do suco livre da fruta macerada no extrator de suco e na prensa, onde se reduz o tempo de extração, aumenta-se a superfície de extração e acelera-se a extração da cor, aroma e outros componentes. Já nos sucos de frutas, a dissolução da protopectina vem acompanhada da desestabilização da turbidez permitindo uma clarificação mais rápida com um mínimo de clarificante e de filtração.

A degradação da pectina dissolvida no suco de fruta produz uma redução da viscosidade, alcançando um rápido fluxo de suco da polpa no extrator e na prensa, uma elevação da velocidade de sedimentação das partículas floculadas, uma filtração rápida com um mínimo de coadjuvante, prevenção da geleificação dos

concentrados e dos semi-concentrados, uma viscosidade reduzida do concentrado final e uma estabilidade dos concentrados e dos produtos rediluídos.

A quitosana (CS) é um polissacarídeo natural que é composto de resíduos lineares de (1-4) N-acetil glicosamina e resíduos de glicosamina. Sendo de natureza policatiônica, tem sido usada como um agente quelante eficaz em auxiliar a separação de partículas suspensas em bebidas (KOFUJI *et al.*, 2005). Tal propriedade é devido ao comportamento dessa fibra solúvel como polieletrólito em pH ácido, apresentando alta densidade de carga (uma carga positiva por cada unidade de glicosamina) associada ao grande número de grupos  $\text{NH}_3^+$ , que podem interagir com colóides carregados negativamente tais como polissacarídeos aniônicos, proteínas, ácidos nucleicos, ácidos graxos e outros.

### **2.1.8 Escurecimento enzimático**

O escurecimento dos alimentos durante o processamento e armazenagem provoca uma diminuição dos atributos de qualidade devido a mudanças na cor, *flavor*, além de alterações nas propriedades nutricionais (MARTÍNEZ e WHITAKER, 1995).

O grau de escurecimento depende da presença de oxigênio, substâncias redutoras, íons metálicos, pH, temperatura e atividade de diferentes enzimas oxidativas, especialmente a polifenoloxidase (PPO) (monofenol dihidroxifenilalanina: oxigênio oxidoredutases, EC 1.14.18.1) e a peroxidase (POD) (hidrogênio-peróxido oxidoredutase, E.C. 1.11.1.7 ) (LÓPEZ-NICOLÁS *et al.*, 2007).

A oxidação dos substratos fenólicos pela PPO é pensada ser a principal causa da descoloração de muitos frutos e hortaliças durante o processo de amadurecimento, manuseio, estocagem e processamento. O escurecimento enzimático é causado pela produção de polifenólicos complexos, uma reação catalizada primariamente pela PPO, que pode oxidar uma ampla faixa de substratos fenólicos para produzir quinonas reativas. Essas o-quinonas podem polimerizar-se e



ligar-se covalentemente a aminoácidos nucleofílicos para produzir pigmentos escuros ou negros durante o processo de senescência, na pós-colheita e no processamento de frutos e hortaliças (SELLE'S-MARCHART *et al.*, 2006)

Segundo ZHANG *et al* (2001), a POD tem um aumento em sua solubilidade durante o período de maturação e pode estar envolvida com escurecimento enzimático desde que os difenóis funcionem como substratos reduzidos. Um aumento de sua atividade ocasiona conseqüências importantes do ponto de vista nutricional e sensoriais tais como destruição da vitamina C e alterações de cor, *flavor* e textura de frutos frescos e processados, pois pode levar à descoloração de carotenóides e antocianinas além de catalisar a degradação de ácidos graxos insaturados, com a conseqüente formação de compostos voláteis.

Desse modo o controle da atividade da PPO e POD é de grande importância para a tecnologia de alimentos, uma vez que estas enzimas são responsáveis pelo escurecimento em frutos e vegetais e seus produtos processados.

#### **2.1.8.1 Peroxidase (hidrogênio-peróxido oxidoreductase, E.C. 1.11.1.7 )**

##### **2.1.8.1.1 Características gerais**

A peroxidase (POD) (hidrogênio-peróxido oxidoreductase, EC 1.11.1.7) é uma enzima amplamente distribuída no reino vegetal e sua presença foi descrita num grande número de espécies e partes de plantas, incluindo frutos climatéricos e não-climatéricos (CIVELLO *et al.*, 1995).

A peroxidase encontrada em plantas superiores contém ferro em sua estrutura, na forma de um grupo prostético ferriprotoporfirina III (ONSA *et al.*, 2004) (Figura 1). Muitas peroxidases são glicoproteínas e contém cálcio como parte de sua estrutura (MARANGONI *et al.*, 1989).

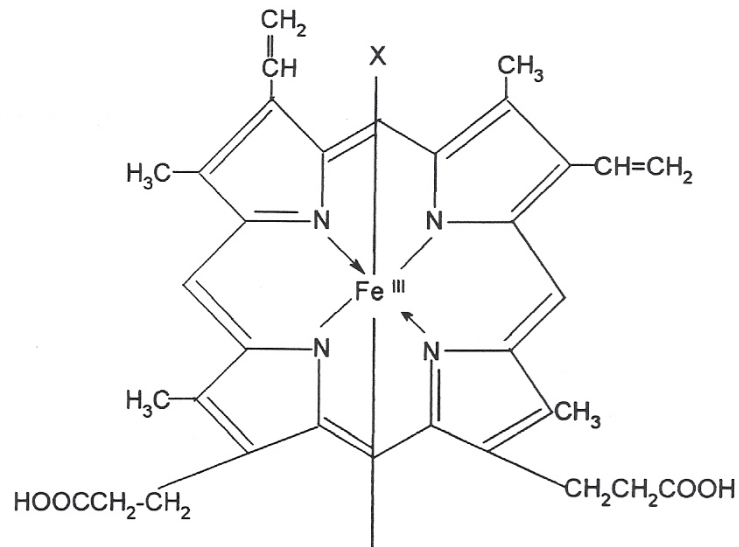


Figura 1 - Estrutura da ferritroporfirina  
Fonte: ONSA *et al.* (2004).

A peroxidase catalisa a oxidação de fenóis (guaiacol, p-cresol), aminas aromáticas (anilina, O-dianisidina) e alguns outros compostos orgânicos na presença do peróxido de hidrogênio ( Dogan *et al.*, 2007).

Essa enzima é importante do ponto de vista nutricional, de coloração e "flavor", pois a atividade da peroxidase pode levar à destruição da vitamina C e descoloração de carotenóides e antocianinas, além de catalisar (grupo heme) a degradação não-enzimática de ácidos graxos insaturados, com a conseqüente formação de compostos voláteis. É capaz de oxidar compostos fenólicos somente na presença de peróxido de hidrogênio (ARAÚJO, 1999) (Figura 2).

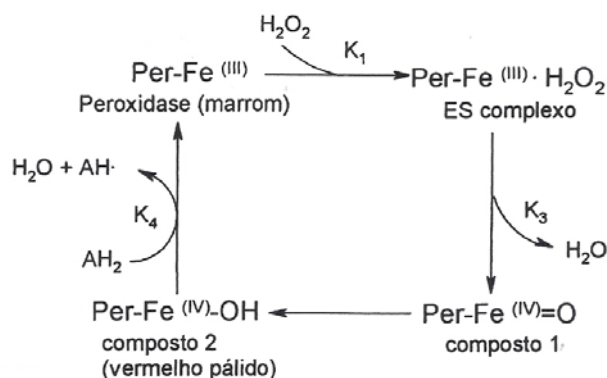


Figura 2 – Reação de peroxidação de hidrogênio  
Fonte: ARAÚJO (1999).

A atividade da peroxidase está relacionada à presença de isoenzimas catiônicas e/ou aniônicas e uma mesma fruta pode conter ambos os tipos de isoenzimas (HAARD e TOBIN, 1971; LEE *et al.*, 1984). Avaliações quantitativas de extratos de tecidos de plantas mostraram que a enzima ocorre na forma solúvel e também na forma ionicamente ligada à parede celular (CIVELLO *et al.*, 1995; VALDERRAMA & CLEMENTE, 2004).

De acordo com LEE *et al.* (1984) uma peroxidase de raiz por exemplo, apresenta 15 isoenzimas identificadas (CARVALHO *et al.*, 2003). Um mesmo vegetal muitas vezes contém isoenzimas de peroxidase termolábeis e termoresistentes.

De acordo MDLULI (2005), a peroxidase pode estar envolvida com escurecimento enzimático desde que os difenóis funcionem como substratos reduzidos. Entretanto, o envolvimento dessa enzima nas reações de escurecimento pode ser limitado pela avaliabilidade da concentração de peróxido de hidrogênio.

Alguns autores (BURNETTE, 1977) sugerem que o papel metabólico das peroxidases é a oxidação de componentes potencialmente tóxicos, transformando-os em produtos menos prejudiciais à célula. No entanto, vários outros papéis fisiológicos têm sido atribuídos às peroxidases de plantas, como por exemplo a síntese de lignina, biossíntese de etileno, degradação da clorofila, eliminação do peróxido de hidrogênio, proteção contra microrganismos fitopatogênicos e metabolismo do ácido indol-3-acético (CHAMARRO & MOLINA, 1989; KASPERA *et al.*, 2001). A enzima também foi associada ao balanceamento hormonal, integridade das membranas e controle dos processos de respiração celular, senescência e degradação fisiológica de frutas e vegetais (HAARD & TOBIN, 1971).

Uma característica marcante da peroxidase é sua grande termoestabilidade. A peroxidase é considerada por alguns autores a enzima mais termorresistente dentre as presentes em frutas e vegetais (MÜTFÜGIL, 1985; RODRIGO *et al.*, 1996; LEE *et al.*, 1984). Por esta razão, e também devido à sua facilidade de detecção, esta enzima é freqüentemente utilizada como índice de efetividade do branqueamento de frutas e vegetais, para prevenir a perda de qualidade na estocagem (RODRIGO *et al.*, 1996). Assim, a inativação completa da

peroxidase é a medida utilizada para determinar o tempo de branqueamento de vegetais, ao invés de se utilizar um tempo de branqueamento fixo (GANTHAVORN & POWERS, 1988). No entanto, para alguns vegetais como ervilhas e aspargos, enzimas como a lipoxigenase podem ser mais termorresistentes que a peroxidase (GANTHAVORN *et al.*, 1991).

A regeneração da atividade enzimática após desnaturação térmica é incomum para as enzimas em geral, embora esta propriedade seja bem identificada para a peroxidase. A habilidade da peroxidase para regenerar-se após desnaturação térmica varia não só entre diferentes espécies vegetais, mas também entre as isoenzimas que ocorrem dentro de uma única variedade. A restauração da atividade da peroxidase é geralmente observada depois de um período de poucas horas após o tratamento térmico de soluções teste de enzimas ou vegetais inteiros (ROBINSON, 1991).

Os inibidores químicos mais freqüentemente utilizados no controle da peroxidase, na indústria, são o dióxido de enxofre e sulfitos. A utilização de 0,1 a 0,15% de metabissulfito de sódio previne a formação de "flavour" desagradável durante o armazenamento de vegetais processados. A ação do sulfito se verifica na destruição do  $H_2O_2$  ( $SO_2 + H_2O_2 \rightarrow SO_3 + H_2O$ ), bloqueando a atividade da enzima, pela manutenção do substrato (doador de hidrogênio) na sua forma reduzida (ARAÚJO, 1999).

Muitas alterações de sabor em frutas e vegetais crus ou não branqueados podem ser relacionadas à atividade de peroxidase (LAMIKANRA e WATSON, 2000). Existem dados empíricos relacionando a existência de atividade residual de peroxidase à ocorrência de *off-flavor* em alimentos processados (BURNETTE, 1977; CANO *et al.*, 1998; KHAN & ROBINSON, 1993; MÜTFÜGIL, 1985; LAMIKANRA & WATSON, 2000; VALDERRAMA & CLEMENTE, 2004).

Além dos efeitos no sabor, foi proposto que a peroxidase também pode afetar a textura de alguns tipos de frutas, através da síntese de lignina e da capacidade de catalisar a ligação entre as moléculas de ácido ferrúlico (substituintes na cadeia da pectina) (ADAMS, 1997). Foi relatado que o efeito de lignificação pela

ação da peroxidase causa defeitos de textura (endurecimento) em aspargos (FORSYTH *et al.*, 1999).

A sua capacidade de oxidar uma grande quantidade de compostos fenólicos distintos, inclusive a clorofila, sugere que a peroxidase também está associada à descoloração dos tecidos de frutas e vegetais (ONSA *et al.*, 2004).

O escurecimento enzimático de frutas e vegetais se devem à oxidação de compostos fenólicos naturalmente presentes, que resulta na formação de pigmentos marrons, vermelhos ou negros (VALDERRAMA & CLEMENTE, 2004). O desenvolvimento de cor marrom em morangos processados por apertização foi correlacionado com a atividade residual de peroxidase (LOPEZ-SERRANO & BARCELÓ, 1996). A ocorrência de sabores estranhos em frutas e vegetais enlatados foi atribuída a atividade residual de peroxidase remanescente após o processo térmico (LU & WHITAKER, 1974). A alta resistência a tratamentos térmicos, característica das peroxidases torna o seu controle mais crítico no processamento de alimentos.

Os tratamentos tipo HTST (High Temperature Short Time), que se tornaram freqüentes na indústria de processamento de sucos, mostram-se menos eficientes no controle e inativação da peroxidase que os métodos tradicionais, que utilizam exposição mais prolongada à temperatura-alvo (CLEMENTE 1998; VALDERRAMA & CLEMENTE, 2004).

De acordo com MANZOCCO *et al* (1999) as peroxidases são capazes de agir em temperaturas abaixo de zero, e em baixa atividade de água. Os mesmos autores trabalhando com sistemas modelos a temperatura de  $-30^{\circ}\text{C}$ , estocados durante 100 dias detectaram atividade residual de peroxidase. Do mesmo modo, LEE *et al.*, (1984) identificou 35% de atividade residual de peroxidase de couve-flor na temperatura de  $0^{\circ}\text{C}$ . Boonsiri *et al* (2007) encontraram atividade residual de peroxidase de pimentas frescas na temperatura de 5 a  $10^{\circ}\text{C}$  e associaram a um efeito fisiológico protetor contra a injúria pelo frio (*chilling injury*).

### 2.1.8.2 Polifenoloxidase (monofenol dihidroxifenilalanina: oxigênio oxidoreduases, EC 1.14.18.1)

#### 2.1.8.2.1 Características gerais

A polifenoloxidase (monofenol, dihidroxifenilalanina: oxigênio oxidoreduase; EC: 1.14.18.1; 1,2 - benzodiol: oxigênio oxidoreduase, EC 1.10.31) é encontrada em grande parte nos tecidos vegetais e em concentrações especialmente altas em cogumelos, tomates, pêssegos, maçãs, bananas, manga, folhas de chá, abacates e café. A atividade pode variar em diferentes variedades da mesma planta, diferentes estádios de maturidade, condições de cultivo, etc. (WHITAKER, 1985).

A polifenoloxidase (PPO) é responsável pelo escurecimento enzimático ocorrido durante o manuseio, estocagem e processamento de frutas e vegetais (DINCER *et al.*, 2002). Devido a sua ampla especificidade de substrato a polifenoloxidase é também denominada catecol-oxidase, difenoloxidase, o-difenolase, fenolase e causam o escurecimento, catalisando a oxidação de monofenóis a difenóis e compostos o-dihidroxi a o-quinonas que são subsequentemente polimerizadas a pigmentos escuros (Içier *et al.*, 2007).

A PPO é uma proteína multifuncional com cobre ( $\text{Cu}^{++}$ ) no seu centro ativo que funciona como oxidase de função mista, catalisando duas reações diferentes envolvendo o oxigênio molecular. O primeiro tipo de reação (Figura 3) é a hidroxilação de monofenóis, levando a formação de compostos o-dihidroxi (atividade cresolásica). O segundo tipo de reação (Figura 4) é a oxidação de compostos o-dihidroxi à benzoquinonas (atividade catecolásica) (BUSCH, 1999; VALERO *et al.*, 1992).

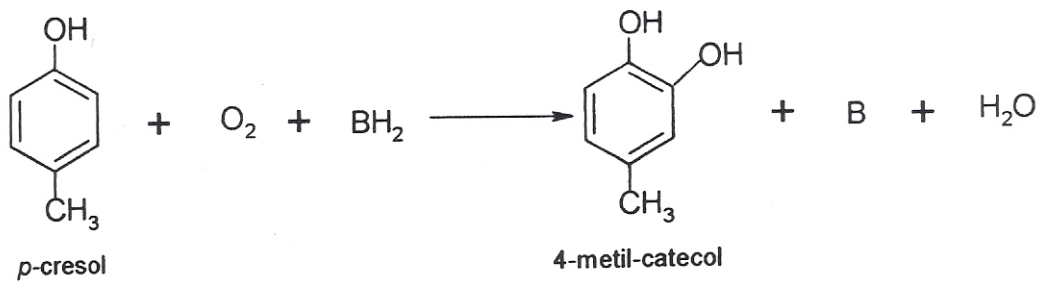


Figura 3 – Reação de Monoxigenase

Fonte: ARAÚJO (1999).

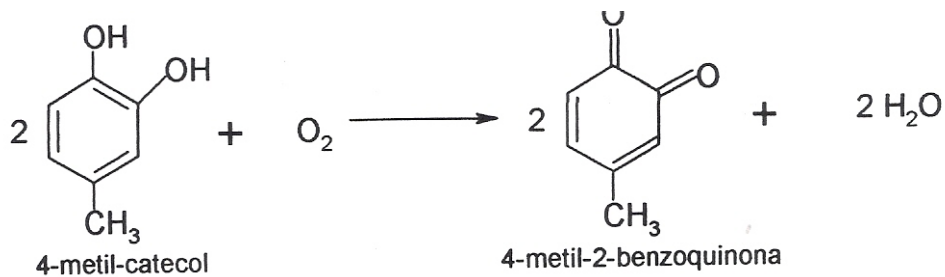


Figura 4 - Reação de oxidase

Fonte: ARAÚJO (1999).

Em vegetais, foi relatada a existência de polifenoloxidase tanto na forma solúvel quanto na forma ionicamente ligada (MARTINÉZ & WHITAKER, 1995). Em plantas, a polifenoloxidase localiza-se principalmente nos plastídeos e cloroplastos das células intactas (CONCELLÓN *et al.*, 2004). É amplamente aceito o fato de que a atividade da enzima é maior em frutos verdes, diminuindo ao longo do período de maturação da fruta (SERRADELL *et al.*, 2000). Acredita-se que este fato seja causado pela solubilização e proteólise da enzima nos plastídeos durante o amadurecimento e estocagem, razão pela qual a fração solúvel aumenta à medida que os frutos amadurecem (CONCELLÓN *et al.*, 2004).

As quinonas formadas pela polifenoloxidase em plantas constituem o primeiro sinal de resposta fisiológica quando ocorrem danos aos tecidos ou ataque de patógenos, e possuem propriedades antimicrobianas efetivas (SERRADELL *et al.*, 2000).

Nos tecidos vegetais, o escurecimento dos pigmentos leva à modificações organolépticas e nutricionais, que depreciam o produto (DINCER *et al.*, 2002; VALERO *et al.*, 1992), sendo responsável por sérias perdas econômicas na indústria de alimentos (FRAIGNIER *et al.*, 1995).

O escurecimento de frutas causado pela polifenoloxidase pode ser prevenido pela exclusão do oxigênio molecular (limitação do substrato), por adição de agentes redutores que previnem a acumulação e polimerização de *o*-benzoquinonas, por complexação de metais como o fluoreto de sódio que inativa a enzima por agir com o cobre, ou por tratamento térmico (destruição térmica da enzima). A adição do agente redutor ácido L-ascórbico para prevenir o escurecimento enzimático tem sido estudada extensivamente. O ácido ascórbico previne o escurecimento por reduzir a *o*-benzoquinona a *o*-difenoil (Figuras 3 e 4).

Enzimas indicadoras podem ser utilizadas para determinar a eficiência do branqueamento de frutos e vegetais, uma dessas enzimas é a PPO ( Içier *et al.*, 2007).

A inativação térmica da PPO no processamento de frutos e vegetais segue uma reação de cinética de primeira ordem com o tempo requerido variando com o tipo de produto. Dos estudos efetuados com inativação da PPO somente alguns tem incluído os cálculos de Arrhenius e os parâmetros cinéticos da inativação térmica da PPO em frutos e vegetais (CHUTINTRASRIA & NOOMHORM, 2005).

A polifenoloxidase é responsável pelo escurecimento enzimático indesejável durante a manipulação, estocagem e processamento de tecidos danificados de frutas e vegetais, e até mesmo de alguns produtos de origem animal (KAVRAYAN & AYDEMIR, 2001). As *o*-quinonas formadas pela ação da enzima são instáveis (CONCELLÓN *et al.*, 2004) e rapidamente polimerizam-se dando origem a



pigmentos escuros (melaninas) (SERRADELL *et al.*, 2000). A tonalidade de cor dos compostos formados pode variar dependendo dos compostos fenólicos presentes num dado tecido, resultando em pigmentos marrons, avermelhados ou negros (DINCER *et al.*, 2002). O escurecimento afeta a aceitação do consumidor e é uma das principais causas de rejeição de frutas e vegetais por problemas de qualidade (SERRADELL *et al.*, 2000). Além da formação de compostos escuros, as o-quinonas formadas também reagem com aminoácidos, peptídeos e proteínas, causando alterações estruturais e funcionais, e conseqüente diminuição do valor nutritivo dos alimentos (ESCRIBANO *et al.*, 1997).

Em tecidos vivos, o substrato e a enzima encontram-se separados dentro das células. Qualquer tratamento que danifique a estrutura celular colocará a enzima em contato com seu substrato, permitindo que a reação ocorra. Isto inclui danos mecânicos e fisiológicos. Alguns vegetais íntegros sofrem danos pelo frio, com rompimento das paredes celulares no interior do vegetal, quando estocados para preservação em temperaturas inferiores a 10°C, porém acima da temperatura de congelamento (CONCELLÓN *et al.*, 2004).

Em frutas vermelhas, como morango, framboesa e amora, a atividade de polifenoloxidase também pode ser responsável pela degradação das antocianinas, causando perda da cor vermelha (SERRADELL *et al.*, 2000).

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Material**

#### **3.1.1 Matéria - prima**

Para a realização dos experimentos foram utilizadas como matéria-prima polpa congelada de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) tipo C (8% de sólidos totais), adquiridas no comércio local de Fortaleza, para obtenção do suco tropical e suco clarificado de açaí.

#### **3.1.2 Agentes clarificantes**

Como agente clarificante para obtenção do suco clarificado de açaí, empregou-se a quitosana fornecida pela empresa Polymar Ciência e Nutrição S/A (Fortaleza-CE), obtida de crustáceos com grau de desacetilação de 85% e massa molar 290.000 Da e como coadjuvante para o processo de clarificação do suco tropical de açaí empregou-se uma pectina do tipo poligalacturonase com o nome comercial de Citrozym-Ultra L fornecida pela Novozymes Latin America Ltda. (Araucária-Paraná-Brasil), para a despectização da polpa.

### **3.2 Metodologia**

Foram realizados processamentos no suco tropical e no suco clarificado de açaí, para realização das análises. As determinações físico-químicas, químicas e bioquímicas foram feitas em triplicata.

### 3.2.1 Processamento de obtenção do suco tropical de açaí

Descongelou-se a polpa de açaí até atingir a temperatura ambiente (28°C). Procedeu-se a homogeneização do suco, sendo em seguida filtrado em tela de nylon de diâmetro de 0,177 mm. Foram preparados processamentos de 1000 mL de suco tropical de açaí, sendo 30% de polpa descongelada e 70% de água destilada. A Figura 5 descreve o fluxograma de processamento do suco tropical de açaí.

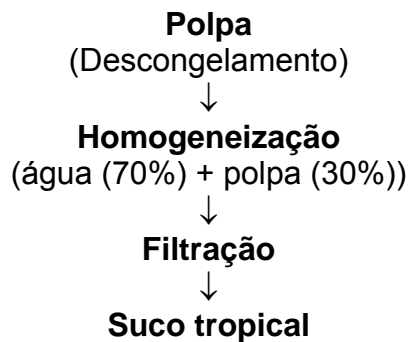


Figura 5 - Fluxograma de elaboração do suco tropical de açaí.

### 3.2.2 Processamento do suco clarificado de açaí a partir do suco tropical de açaí.

Para o processamento do suco clarificado de açaí foi utilizada a metodologia descrita em CÉSAR (2007), descrita abaixo:

#### 3.2.2.1 Tratamento enzimático

A polpa de açaí (300 mL) foi descongelada até atingir a temperatura ambiente (28°C). Em seguida, foi adicionado 0,1% (v/v) de Cytozym-Ultra L. Para o processo de despectinização a polpa tratada com enzima foi transferida para um banho-Maria  $45 \pm 5^\circ\text{C}$ , conservando o pH da polpa 4,0 por 1h. Logo em seguida, foi efetuado a inativação enzimática a temperatura de  $90^\circ\text{C}$  por 10 min, sendo a mistura posteriormente resfriada em banho de gelo.

### 3.2.2.2 Processo de clarificação

A partir da polpa tratada enzimaticamente foi preparado um suco despectinizado com 30% de polpa e 70% de água destilada (v/v), sendo em seguida filtrado em tela de nylon de diâmetro de 0,177 mm.

Ao suco despectinizado, adicionou-se a solução de quitosana 4%, na concentração de 700 mg. Após 90 min foi realizada uma filtração em papel de filtro hatman n°1, obtendo-se, dessa forma, o suco clarificado de açaí. Foi adicionado 0,5 mL de ácido cítrico 0,01 M para manter a estabilidade da cor do suco clarificado.

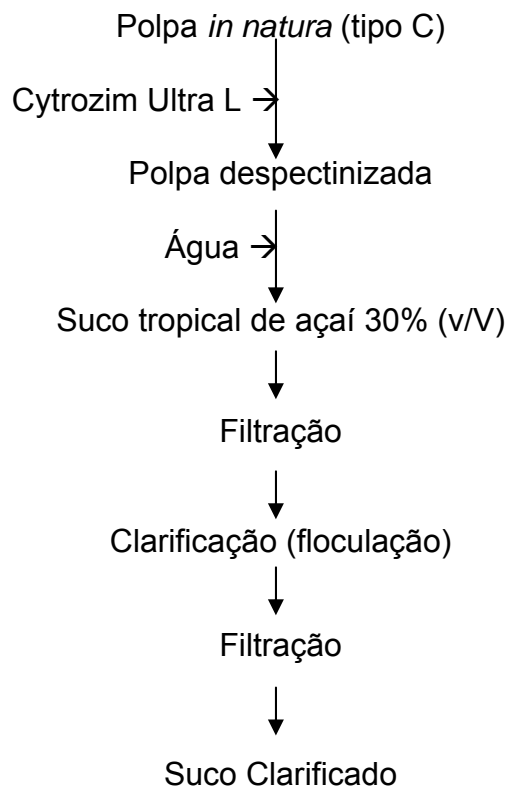


Figura 6 – Processamento de clarificação do suco tropical de açaí.

### **3.2.3 Análises físico-químicas e químicas**

As análises físico-químicas e químicas foram realizadas em triplicata para os processamentos dos produtos: polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí, no laboratório de frutos tropicais, do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFC.

#### **3.2.3.1 pH**

As medidas de pH foram feitas em potenciômetro, da marca Quimis, previamente aferido com água destilada, segundo as normas analíticas da AOAC (1995).

#### **3.2.3.2 Acidez total titulável**

A análise foi realizada titulando-se a amostra com solução de NaOH 0,1 N utilizando-se fenolftaleína como indicador, conforme descrito pelas normas do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005). Os resultados foram expressos em percentagem de ácido cítrico.

#### **3.2.3.3. Sólidos solúveis totais**

Os sólidos solúveis (°Brix) foram determinados em refratômetro marca ATAGO modelo POCKET PAL-1 e seus resultados corrigidos para 20 °C segundo as normas analíticas do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005).

#### **3.2.3.4 Açúcares redutores**

Os açúcares redutores foram obtidos por espectrofotometria, utilizando-se ácido 3,5-dinitro-salicílico (DNS), de acordo com a metodologia descrita por MILLER (1959) e expressos em gramas de glucose por 100 mL de suco.

### **3.2.3.5 Açúcares não-redutores**

Determinados pela diferença entre os açúcares totais e açúcares redutores. Os resultados foram expressos em percentual de sacarose.

### **3.2.3.6 Açúcares totais**

Para a determinação dos açúcares totais foi realizada uma inversão ácida com ácido clorídrico P.A., em seguida foram determinados os açúcares totais, segundo MILLER (1959). Os resultados expressos em gramas de glucose por 100 mL de suco.

### **3.2.3.7 Vitamina C**

O teor de vitamina C foi determinado por titulação com 2,6 diclorofenolindofenol sódio segundo metodologia descrita por PEARSON (1976). Como a polpa e o suco de açaí são de cor arroxeada, a visualização da reação tornou-se difícil, sendo necessário a adição de 10 mL de éter etílico P. A., para que houvesse a separação de fases. Os resultados foram expressos em mg de vitamina C por 100 mL de suco.

### **3.2.3.8 Antocianinas totais**

A determinação de antocianinas totais foi realizada homogeneizando 1 g de amostra com solução de HCl (1,5 N) e etanol 85% para sua extração.

Após uma noite de descanso na geladeira no escuro os extratos foram filtrados e foi feita a leitura no espectrofotômetro a 535 nm (FRANCIS, 1982). Os resultados foram expressos em mg de antocianinas totais/100 mL.

### **3.2.3.9 Determinação de proteínas**

As proteínas foram determinadas utilizando a metodologia de BRADFORD (1976). O princípio desse método é a fixação do corante Coomassie Brilliant Blue G-250 à proteínas. Foram adicionados 100 µL de amostra a tubos de ensaio contendo 1 mL de reagente de Bradford e agitou-se em agitador. Após 15 min foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 595 nm em cubetas de plástico. O resultado foi expresso em µg de proteínas por mL da amostra.

### **3.2.3.10 Lipídios totais**

Para a determinação de lipídios totais, pesou-se 50 g de amostra. As amostras foram submetidas a banho-maria até uma leve evaporação, depois foram colocadas em estufa por 24 horas, até uma completa secagem. Foram feitos os cartuchos em papel de filtro e estes foram acoplados ao aparelho de Soxhelt. Procedeu-se a extração no referido aparelho (cujo balão foi previamente aquecido em estufa a 105°C, resfriado até a temperatura ambiente, em dessecador, e pesado) com a utilização de hexano por 6 horas. Após este período o balão contendo o resíduo foi colocado em estufa a 105°C para a evaporação, depois este foi deixado esfriar em dessecador até atingir a temperatura ambiente e pesado. Conforme as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985). O resultado foi expresso em percentual de gordura.

## **3.2.4 Análise instrumental**

### **3.2.4.1 Luminosidade**

Foi utilizado um colorímetro da marca Minolta, modelo CR 10, sendo os resultados expressos no sistema CIELAB onde as medidas do valor L\* indicam luminosidade ou percentual de reflectância, variando de 0 (branco) para 100 (preto) (BUSCH *et al.*, 2004).

### 3.2.5 Determinação de minerais para polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí

Foi realizada uma mineralização por via úmida. Para a extração dos minerais preparou-se uma mistura ácido nítrico – perclórico (2:1), com volume total de 100 mL.

A digestão nítro-perclórica foi baseada em três etapas:

#### 1ª ETAPA – Amostra + Solução ácida

Transferiu-se 2,5 mL de polpa e 5,0 mL de suco tropical e suco clarificado para um becker de 50 mL. Adicionou-se 6,0 mL da solução ácida, homogeneizou-se com bastão de vidro e transferiu-se para o tubo de digestão. O branco foi preparado da mesma forma, transferiu-se 6,0 mL de solução ácida para os tubos de digestão. Todas as amostras foram deixadas na capela por 24 h à temperatura ambiente ( $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

#### 2ª ETAPA – Placa digestora

Todas as amostras foram colocadas em placa digestora por 4 h com temperatura controlada em capela. Quatro estágios de temperatura foram aplicados para a digestão:  $50^{\circ}\text{C}$  (30 min),  $100^{\circ}\text{C}$  (30 min),  $150^{\circ}\text{C}$  (2 h) e  $200^{\circ}\text{C}$  (1 h). Após o término da digestão as amostras foram deixadas em repouso durante 30 min.

#### 3ª ETAPA – Filtração

As amostras foram transferidas para balões volumétricos de 50 mL acoplado de funil com papel de filtro completando-se o volume com três lavagens com água destilada para que houvesse a filtração da amostra dentro do balão. O extrato obtido foi transferido para recipientes plásticos com tampa, e armazenados a temperatura ambiente para posteriores leituras.

Para determinação de sódio e potássio foi utilizada uma fotometria de emissão de chama. Uma curva analítica foi preparada usando as soluções-padrão de potássio e sódio. O fotômetro foi calibrado com os padrões 0 e 50 ppm K, respectivamente para as leituras 0 e 100.



Para determinação de Mn, Zn, Cu, Fe, Mg e Ca foi utilizada espectrofotometria por absorção atômica. Foi preparada uma curva-padrão no espectrofotômetro para cada elementos com suas respectivas soluções padrões.

Utilizou-se lâmpadas de cátodo oco para as leituras de Mn, Zn, Cu e Fe. E para as leituras de Ca e Mg utilizou-se lâmpadas de cátodo oco de cálcio-magnésio, sendo os extratos diluídos. Estrôncio foi adicionado para prevenir interferências ocasionadas pela presença de fosfato e de alumínio.

### **3.2.6 Determinação da atividade da polifenoloxidase (PPO) e da peroxidase do guaiacol (G-POD) em polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí**

As determinações das atividades da PPO e da G-POD foram realizadas após o descongelamento da polpa e processamento dos sucos tropical e clarificado, no laboratório de fisiologia dos frutos, do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFC.

#### **3.2.6.1 Extração enzimática**

A polpa, o suco tropical e o suco clarificado de açaí foram inicialmente dialisados contra água por 72 h, na temperatura de 8 °C sendo em seguida liofilizados.

Pesou-se 0,2 g da amostra liofilizada e foi efetuada uma homogeneização com 2,5 mL de tampão fosfato 100 mM com EDTA 0,1 mM pH 7,0 em almofariz por 5 min, em banho de gelo. Foi posteriormente adicionado 2,5 mL de tampão fosfato 100 mM com EDTA 0,1 mM pH 7,0 e homogeneizados por mais 5 min.

Após a homogeneização, foi realizada uma centrifugação 12.000 rpm a 4 °C por 15 min. O sobrenadante que constitui a fonte enzimática foi removido e conservado em eppendorfs em temperatura de 4 °C. As alíquotas (extrato enzimático) foram utilizadas nas determinações das atividades enzimáticas.

Todo o procedimento de extração enzimática foi realizado mantendo-se a temperatura de 4 °C.

### **3.2.6.2 Determinação de atividade da Polifenoloxidase (PPO)**

A determinação da atividade da PPO foi efetuada seguindo a metodologia descrita em MATSUNO & URITANI (1972). Preparou-se os tubos com a mistura de 2,25 mL de tampão fostato de sódio 0,1 M (pH 6,0) e 0,05 mL de catecol 10 mM, incubou-se por 30 mim a 30 °C. Em seguida foram adicionado 0,05 mL para polpa e suco tropical de açaí e 0,003 mL para suco clarificado de açaí. Após 20 segundos, o aumento da absorbância a 395 nm foi monitorado por até 10 min, em espectrofotômetro. Uma unidade de atividade foi definida como o aumento de 0,001 na absorbância por minuto por mL de amostra. O resultado é expresso em unidade de absorbância por minuto por grama de amostra (UAE/min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>).

### **3.2.6.3 Determinação de atividade da Peroxidase do guaiacol (G-POD)**

Para a detecção da atividade da G-POD foi utilizada como referência a metodologia descrita em MATSUNO & URITANI (1972). Para determinar a atividade da G-POD, foram preparados os tubos com a mistura de reação contendo 0,95 mL do tampão fosfato de potássio 0,1 M com EDTA 0,1 mM (pH 7,0), 0,5 mL de Peróxido de hidrogênio 3% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e 0,5 mL de Guaiacol. Em seguida, os tubos foram incubados a 30 °C por 5 min. Foram adicionados 0,05 mL para polpa e suco tropical de açaí e 0,003 mL para suco clarificado de açaí. Após 20 segundos, o aumento da absorbância a 470 nm foi monitorado por até 10 min, em espectrofotômetro. A atividade enzimática será quantificada utilizando-se o coeficiente de extinção molar do guaiacol (26,6 mMol) e os resultados expressos em µmol.mim<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>m.s., considerando-se que são necessários 4 moles de guaiacol para reduzir 1 mol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### 3.2.7 Estatística

O experimento foi conduzido a partir de delineamento inteiramente casualizado em três processamentos, sendo as análises efetuadas em triplicada.

Os dados das análises químicas, físico-químicas, instrumentais, bioquímicas e determinações de minerais obtidos foram tratados estatisticamente através de análise de variância ( $\alpha=5\%$ ), para testar diferença entre os valores da polpa e dos sucos. Para a comparação das médias foi aplicado o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ).

Todos os testes foram realizados através do programa estatístico SISVAR, versão 5.0, licenciado pela Universidade Federal de Lavras (SISVAR, 2003).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Determinações químicas e físico-químicas na polpa e nos sucos de açaí tropical e clarificado

Na Tabela 2 e Figuras de 7 a 17 apresentam as médias dos resultados dos parâmetros químicos e físico-químicos da polpa, do suco tropical de açaí e suco clarificado.

Tabela 2 - Médias dos resultados das análises químicas e físico-químicas na polpa e suco tropical e suco clarificado de açaí

Análises	Polpa	S. Tropical	S. clarificado
Acidez (% ácido cítrico)	0,27 <sup>a</sup>	0,15 <sup>a</sup>	0,16 <sup>a</sup>
pH	4,64 <sup>b</sup>	4,58 <sup>b</sup>	3,38 <sup>a</sup>
Sólidos solúveis (°Brix)	3,57 <sup>b</sup>	1,37 <sup>a</sup>	1,30 <sup>a</sup>
Ac. Redutor (% glicose)	1,43 <sup>c</sup>	0,40 <sup>b</sup>	0,16 <sup>a</sup>
Ac. Não Redutor (% sacarose)	0,37 <sup>b</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>
Ac. Total (%)	1,80 <sup>b</sup>	0,49 <sup>a</sup>	0,21 <sup>a</sup>
Vitamina C (mg/ 100 g)	13,81 <sup>b</sup>	8,91 <sup>a</sup>	8,17 <sup>a</sup>
Antocianinas (mg.100 mL <sup>-1</sup> )	57,41 <sup>c</sup>	7,52 <sup>b</sup>	3,24 <sup>a</sup>
Luminosidade (valor L*)	17,54 <sup>a</sup>	16,94 <sup>a</sup>	38,25 <sup>b</sup>
Proteínas (µg/mL)	408,67 <sup>a</sup>	194,83 <sup>b</sup>	17,83 <sup>c</sup>
Lipídios (%)	6,71 <sup>a</sup>	0,52 <sup>b</sup>	0,02 <sup>c</sup>

\* Média dos três processamentos

Médias seguidas da mesma letra nas linhas são iguais estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Tukey

#### 4.1.1 Acidez total titulável

Como pode ser observado na Figura 7, os valores médios encontrados com relação à acidez para polpa, suco tropical e suco clarificado foram de 0,27%, 0,15% e 0,16%, respectivamente. Conforme se pode observar na Tabela 3 não houve diferença ao nível de 5% de significância entre as amostras analisadas.

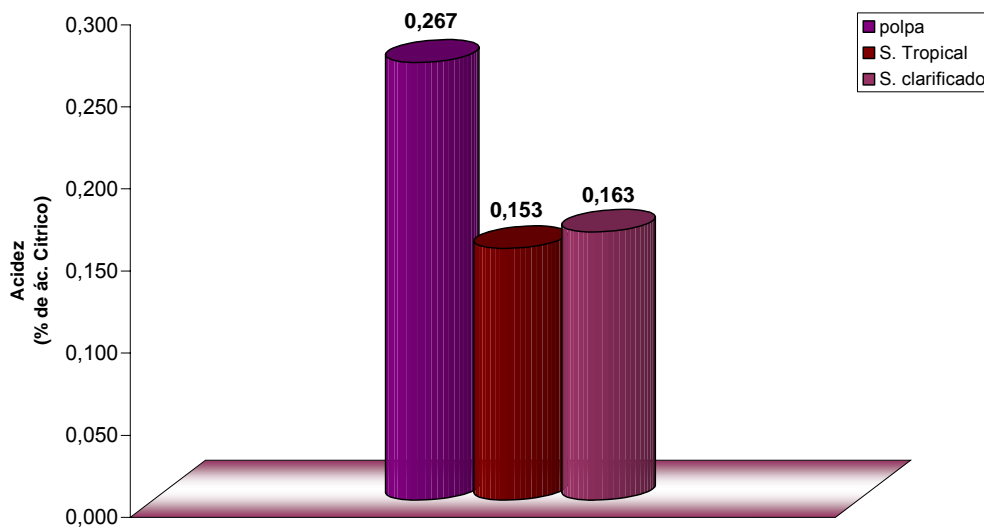


Figura 7 - Médias dos valores de acidez na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí.

A polpa de açaí, cujo valor para acidez foi de 0,27%, situa-se dentro do limite preconizado pelo Padrão de Identidade e Qualidade para polpa de açaí (BRASIL, 2000), que é de 0,27 % para açaí do tipo C (fino).

O valor encontrado para a acidez do suco clarificado (0,16%) está de acordo com o obtido por CÉSAR (2007) em suco clarificado de açaí.

#### 4.1.2 pH

Na Figura 8, verifica-se os valores encontrados para a polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí. Comparando os valores observados na Tabela 3, verifica-se que a polpa e o suco tropical diferiram estatisticamente ao nível de 5% de significância do suco clarificado, pelo teste de Tukey.

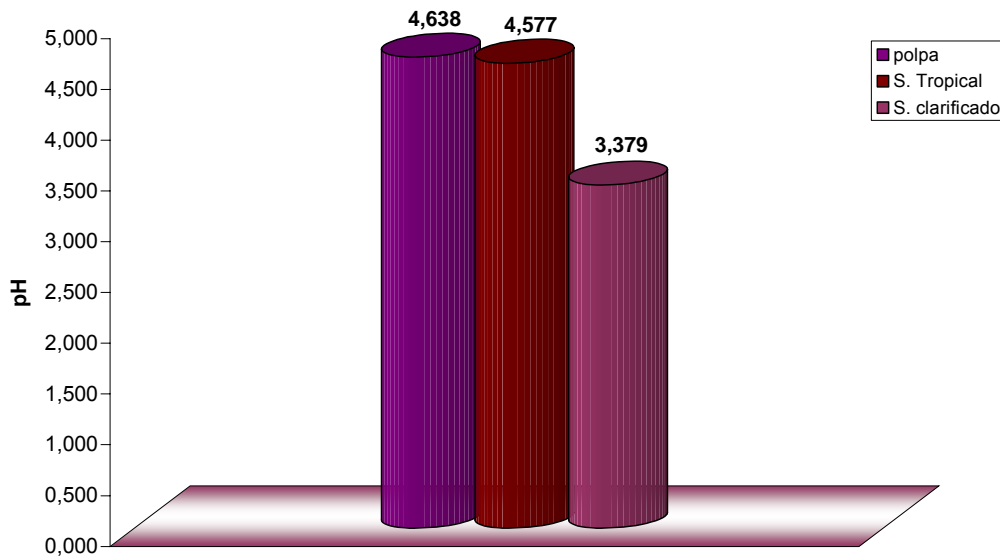


Figura 8 - Médias dos valores de pH na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí.

Em relação ao valor de pH, para polpa de açaí a Legislação Brasileira estabelece um valor mínimo de 4,00 e máximo 6,20 para a polpa de açaí tipo C (BRASIL, 2000). Desta forma, o valor de pH encontrado para a polpa no presente estudo encontra-se dentro dos Padrões de Identidade e Qualidade para a polpa de açaí.

COISSON *et al.* (2005) e CÉSAR (2007) encontraram valores de pH de 4,9 e 4,57 respectivamente, para o suco tropical de açaí, desta forma de acordo com os aqui encontrados para o suco tropical de açaí. ROGEZ (2000) e SOUSA *et al.* (2006) constataram em seus estudos, que o suco de açaí valores médios para pH de 5,23 e 5,37, respectivamente. Por outro lado, o suco clarificado de açaí apresentou pH de 3,4 inferior quando comparado à polpa e o suco tropical. Possivelmente deve-se à adição do ácido cítrico 0,01M bem como a participação da hidrólise enzimática.

#### 4.1.3 Sólidos solúveis totais

Os valores encontrados para o teor de sólidos solúveis totais (°Brix), podem ser observados na Figura 9. Constatase que há diferença significativa ao nível de 5% entre a polpa e os dois tipos de suco, no entanto, os sucos tropical e clarificado não diferem entre si (Tabela 3).

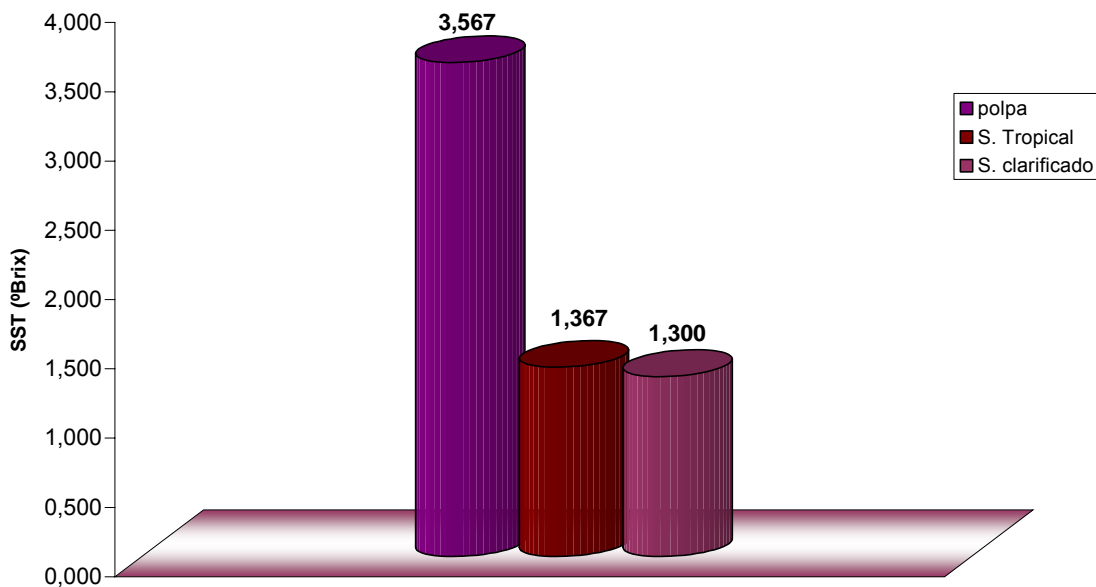


Figura 9 - Médias dos valores de sólidos solúveis totais na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí.

O conteúdo de sólidos solúveis na polpa de açaí foi de 3,57 ° Brix, sendo inferior aos valores obtidos por MOURA *et al.* (2000) e SOUSA *et al.* (2002) que encontraram teores de sólidos solúveis totais em polpa de açaí na ordem de 7,55° e 6,00 ° Brix, respectivamente.

SOUSA *et al.* (2002) encontraram valores de sólidos solúveis totais para o suco tropical de açaí de 3,2 ° Brix, sendo superior ao teor obtido para o suco tropical deste estudo (1,37 ° Brix).

TELES (1997) em estudo com suco clarificado de acerola encontrou valor de 6 °Brix. BRASIL *et al.* (1995) em estudo com suco clarificado de goiaba encontrou 14,71 °Brix. GRANADA *et al.* (2001) obteve média geral de 7,8 °Brix para estudos realizados com suco clarificado de amora-preta. Estes valores quando comparados ao valor de sólidos solúveis totais obtidos nos presente estudo para suco clarificado de açaí (1,3 °Brix), demonstram ser superiores. Possivelmente a adição da quitosana, considerada um forte quelante policatiônico, bem como a diluição (30 % de polpa) durante o processamento contribuíram para a redução do °Brix .

#### 4.1.4 Açúcares redutores

De acordo com os dados apresentados na Tabela 3, ocorreu diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre todas as amostras. A Figura 10 apresenta os valores médios encontrados açúcar redutor em glicose para polpa (1,43%), suco tropical (0,41%) e suco clarificado (0,14%). Entretanto, CÉSAR (2007) obteve diferentes valores para polpa (1,36%), suco tropical (0,32%) e para suco clarificado (0,30%), mostrando que ocorreu um decréscimo de cerca de 50% com relação ao suco clarificado.

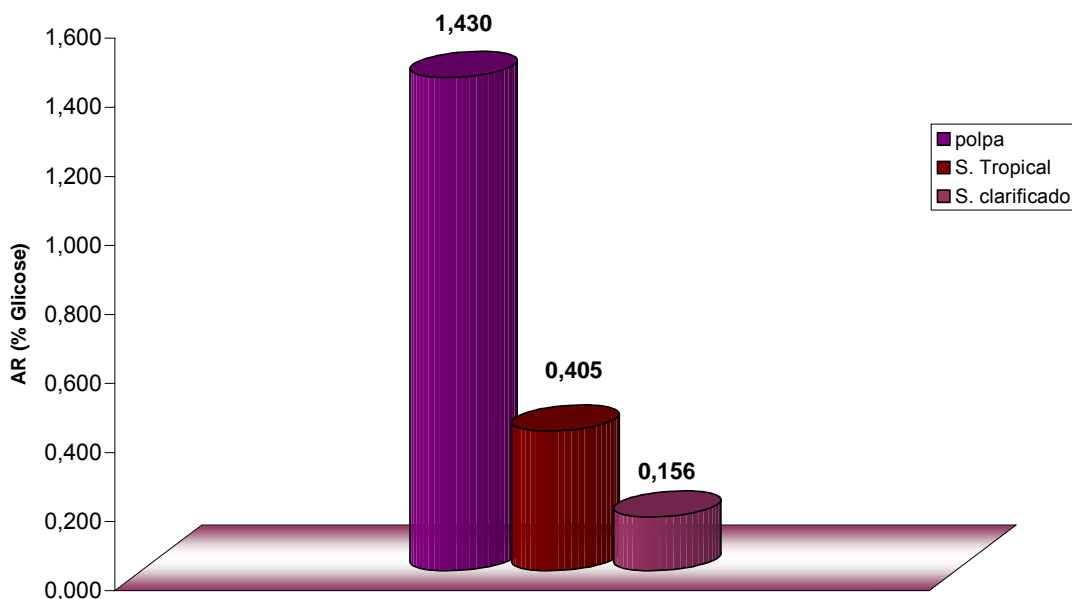


Figura 10 - Médias dos valores de açúcares redutores na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí.



O percentual de glicose para polpa de açaí (1,52%) encontra-se em concordância ao valor obtido por ROGÉZ (2000).

Em estudo realizado com suco clarificado de amora-preta, GRANADA *et al.* (2001) encontraram valores médios para teor de açúcares redutores de 5,40%, superior aos obtidos no presente trabalho.

PAULA *et al.* (2004) em estudos sobre a melhoria na eficiência da clarificação de suco de maracujá pela combinação dos processos de microfiltração e enzimático encontraram valores de glicose na ordem de 2,55% no suco clarificado.

Os açúcares solúveis presentes nas frutas na forma livre ou combinada são responsáveis pela doçura, pelo *flavor*, por meio do balanço com os ácidos, pela cor atrativa, como derivados de antocianinas (glicosídeos), e pela textura, quando combinados adequadamente compondo os polissacarídeos estruturais (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

#### **4.1.5 Açúcares não-redutores**

Conforme observado na Tabela 3, a polpa difere estatisticamente do suco tropical e do clarificado, mas ambos não diferiram estatisticamente entre si ( $p > 0,05$ ). Na Figura 11, observa-se os teores de açúcares não-redutores na polpa (0,36%), suco tropical (0,10%) e suco clarificado (0,06%), sendo concordantes com os obtidos por CÉSAR (2007).

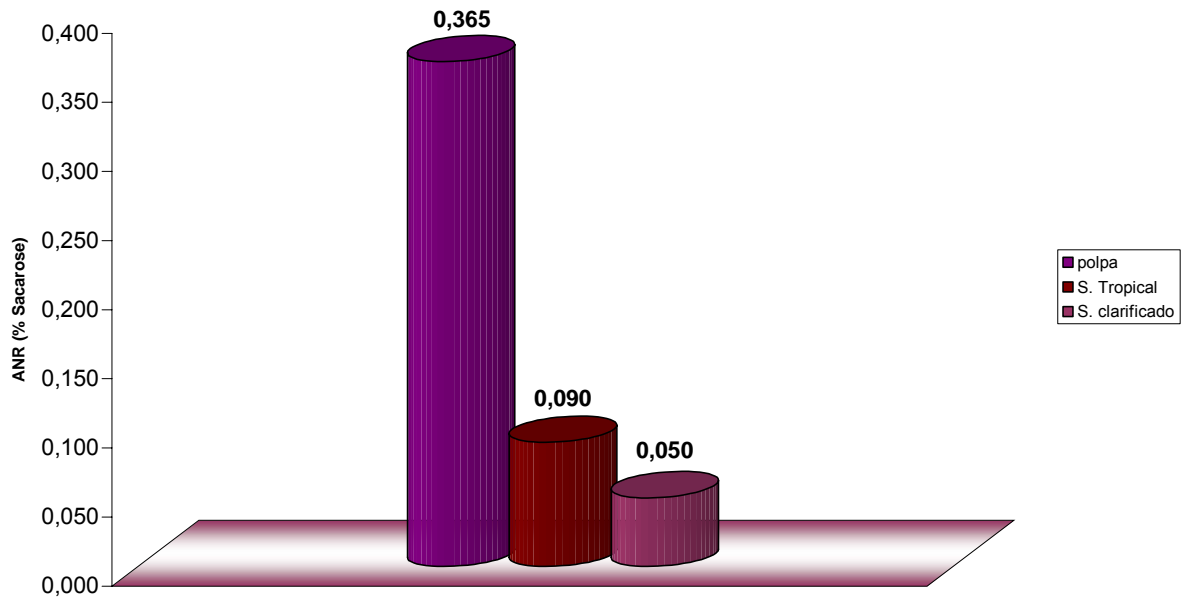


Figura 11 - Médias dos valores de açúcares não redutores na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí.

Segundo ROGEZ (2000) o teor de sacarose para a polpa de açaí é da ordem de 0,05%. Desta forma, os resultados obtidos neste trabalho encontram-se aproximadamente dez vezes mais altos que os descritos pelo referido autor.

#### 4.1.6 Açúcares totais

De acordo com os resultados da Tabela 3 não foi observado diferença estatística entre si ao nível de 5% no suco tropical e o suco clarificado, diferindo da polpa de açaí. Os valores de açúcares totais variaram de 1,80% (polpa), 0,50% (suco tropical) e 0,20% (suco clarificado) (Figura 12).

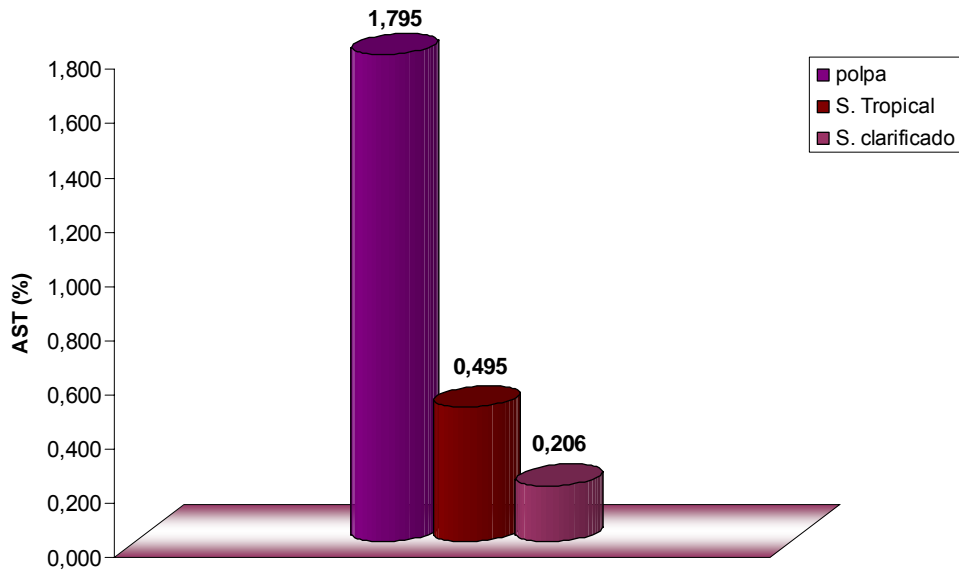


Figura 12 - Médias dos valores de açúcares solúveis totais na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí.

O açaí apresenta um teor de açúcares solúveis totais relativamente baixo, quando comparado com os demais frutos como acerola (4,0%) (TELES, 1997), melão (4,5%) (MELO, 2005) e goiaba (7,52%) (FERNANDES, 2007).

De acordo com os Padrões de identidade e qualidade estabelecidos na legislação (BRASIL, 2000), o teor de açúcares totais para polpa de açaí tipo C deve ser no máximo 40%.

O teor de açúcares individuais (glicose, frutose e sacarose) é importante quando se deseja quantificar o grau de doçura do produto, uma vez que o poder adoçante desses açúcares é variável. Juntamente com acidez, o teor de açúcares totais é uma medida mais direta do “flavor” que a relação, sólidos solúveis/acidez. O teor de açúcares normalmente constitui 65 a 85% do teor de sólidos solúveis (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

#### 4.1.7 Vitamina C

A análise estatística revelou, mediante o teste de Tukey, com relação ao teor de vitamina C que houve diferença significativa ao nível de 5% na polpa quando comparada aos dois tipos de suco de açaí (tropical e clarificado), os quais são estatisticamente iguais (Figura 13).

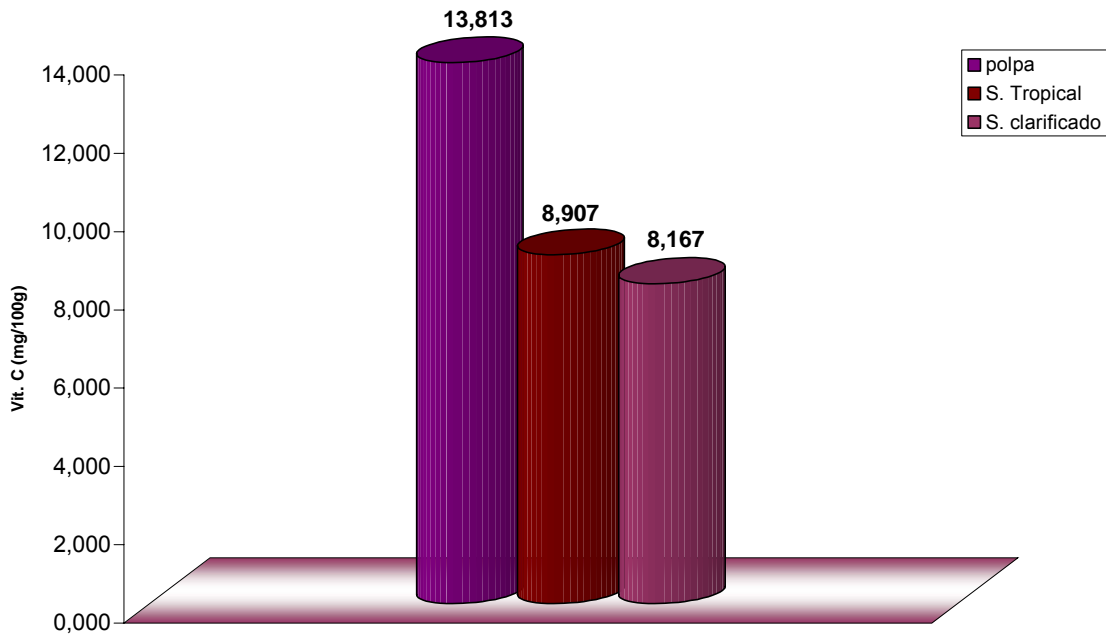


Figura 13 - Médias dos valores de vitamina C na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí.

Como pode ser observado na Figura 13, o teor de vitamina C na polpa de açaí (13,30 mg/100 g) mostrou-se inferior quando comparado com ROGEZ (2000) e CÉSAR (2007), onde foram encontrados valores de vitamina C de 17,00 mg/100g e 15,31 mg/100g, respectivamente (. Com relação ao suco tropical (8,91 mg/100g) e suco clarificado (8,17 mg/100g), os valores apresentaram-se superiores aos encontrados por CÉSAR (2007) que obteve 4,74 mg/100g para suco tropical e 4,36 mg/100g para suco clarificado de açaí.

Quando se compara o teor de vitamina C para polpa de açaí (13,81 mg/100g) com diferentes tipos de polpas frutos tropicais descritos por BUENO *et al.* (2002), tais como Cupuaçu (25,8 mg/100g), acerola (1374,2 mg/100g), goiaba (62,1

mg/100g), caju (270,0 mg/100g) verifica-se que o açaí tem menor teor de vitamina C que os frutos citados. No entanto, quando comparamos com outras polpas de frutos como sirigüela (11,7 mg/100g) e morango (12,8 mg/100g)

A vitamina C é uma das mais facilmente degradável de todas as vitaminas. É estável apenas em meio ácido e na ausência de luz, de oxigênio e de calor. Os principais fatores capazes de degradar o ácido ascórbico são: meio alcalino, oxigênio, calor, ação da luz, metais (Fe, Cu, Zn) e enzima oxidase do ácido ascórbico (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

O teor de vitamina C tende a diminuir com a maturação e com o armazenamento de muitos frutos, devido à atuação da enzima ácido ascórbico oxidase, ou pela ação de enzimas oxidantes como a peroxidase (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

#### **4.1.8 Antocianinas totais**

Ocorreu diferença significativa ao nível de 5% entre as amostras de polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí conforme os valores apresentados na Tabela 3.

O valor de antocianinas totais encontrados foram 57,41 mg/100 mL (polpa), 7,52 mg/100 mL (suco tropical) e 3,24 mg/100 mL (suco clarificado) (Figura 14).

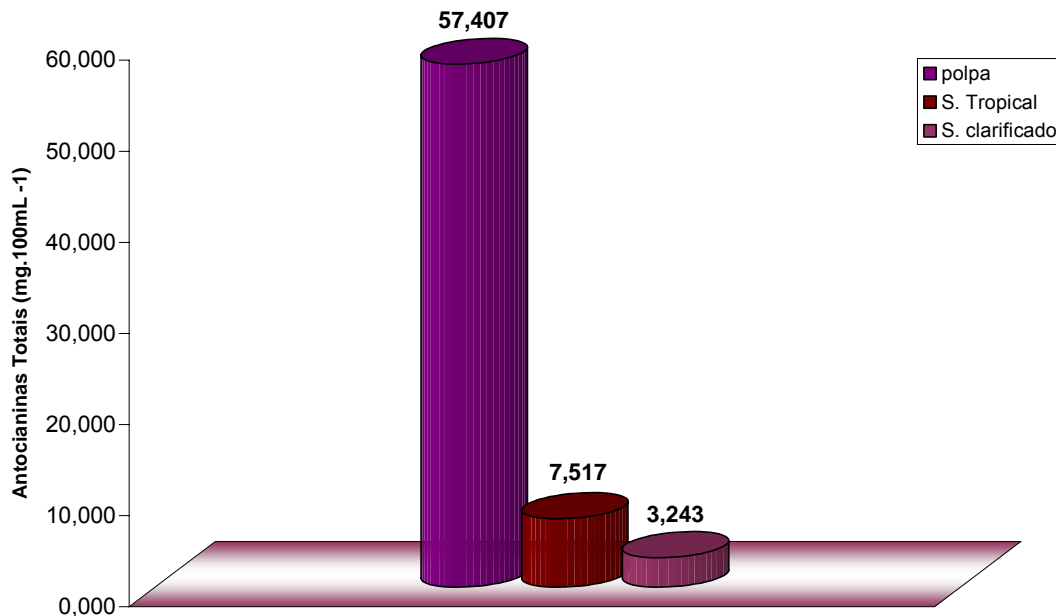


Figura 14 - Médias dos valores de antocianinas totais na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí.

Pode-se observar conforme os valores encontrados na Tabela 3 e Figura 14 que o valor da polpa é superior aos demais valores encontrados para os sucos (tropical e clarificado).

ROGEZ (2000) encontrou valor de 44 mg de antocianinas totais por 100 mL de polpa de açaí médio (Tipo B: 11 a 14% de sólidos solúveis totais). BOBBIO *et al.* (2001) detectaram teores de antocianinas totais para o fruto do açaizeiro de 50 mg/100g.

O suco clarificado de açaí apresentou um decréscimo de cerca de 50%, em relação à concentração apresentada para suco tropical de açaí. Os valores encontrados para antocianinas totais nos sucos clarificado e tropical encontram-se de acordo com os obtidos por CÉSAR (2007), em estudo com suco clarificado de açaí, utilizando pectinase e quitosana como agentes clarificantes. Este decréscimo deve-se a ação quelante da quitosana bem como a instabilidade das antocianinas durante o processamento, pois as antocianinas são corantes facilmente degradáveis

por vários fatores externos como luz, temperaturas elevadas, oxigênio e outros (COISSON *et al.*, 2005).

PACHECO-PALENCIA *et al.* (2006) em trabalho sobre a estabilidade das antocianinas do açaí quando submetido a processamento do suco clarificado com terra de diatomácea e processo de semi-centrifugação, detectaram uma redução de 20% e atribuíram em grande parte a ação ligante das antocianinas aos sólidos insolúveis da parede celular.

No presente trabalho foi necessária à adição de ácido cítrico 0,01 M para preservar a cor do suco clarificado (KIRKA *et al.*, 2006) desta forma foi possível manter uma estabilidade física das antocianinas do suco tropical e do suco clarificado. De acordo com DEL POZO *et al.* (2004) na presença de ácidos orgânicos as fontes de antocianinas aciladas favorecem o aumento da estabilidade da cor.

As perdas das antocianinas podem ser prevenidas através do controle restrito de oxigênio durante o processamento ou através da estabilização física das antocianinas por adição de cofatores antociânicos exógenos, formando co-pigmentos mais estáveis ao processamento, melhorando atributos de cor, estabilidade e até mesmo incremento das propriedades antioxidantes. Esses complexos de co-pigmentos são formados preferencialmente sob condições ácidas (FERNANDES, 2007).

Os teores de antocianinas encontrados no estudo para polpa de açaí podem ser considerados elevados e suficientes para considerar o açaí uma fonte economicamente viável de antocianinas com a vantagem de não apresentar efeitos tóxicos para o consumidor.

#### 4.1.9 Luminosidade

Com relação à luminosidade a polpa e o suco tropical não apresentaram diferença entre si ao nível de 5% de significância, mas ambos diferiram estatisticamente do suco clarificado (Tabela 3).

Na Figura 15 e Tabela 3 observamos os valores de  $L^*$  para a polpa, suco tropical e suco clarificado que foram de 17,542, 16,937 e 38,251, respectivamente, estando de acordo com os resultados encontrados por CÉSAR (2007) para polpa (18,44), suco tropical (17,57) e suco clarificado (34,52). O valor mais elevado da luminosidade para o suco clarificado deve-se a adição da quitosana, como agente *fining*, complexando os sólidos em suspensão do suco.

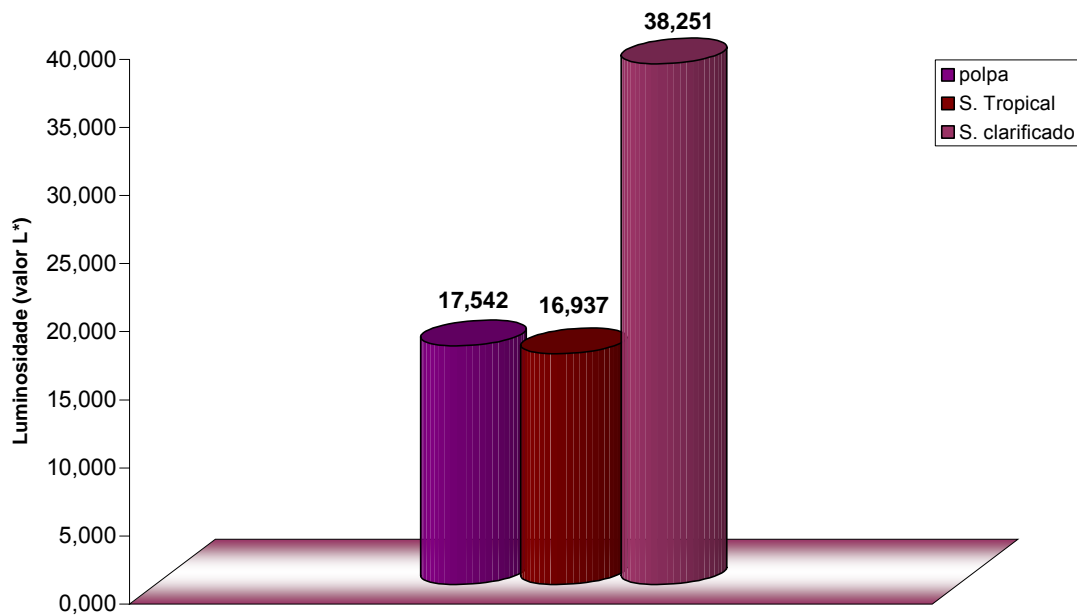


Figura 15 - Médias dos valores de luminosidade na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí

HUBINGER *et al.* (2004), em estudo da conservação de açaí pela tecnologia de obstáculos encontraram o valor de  $L^*$  de 23,59 para polpa de açaí, sendo superior aos obtidos no presente estudo.



SÁ *et al.* (2003) em trabalho com concentração de suco de abacaxi com utilização de tratamento enzimático e micromembranas obtiveram valores de luminosidade de 16,8 e 17,2 para suco tropical e clarificado concentrado, respectivamente.

CASTRO *et al.* (2007) encontraram valores de L\* de 70 em suco clarificado de caju (*Anacardium occidentale*, L.) utilizando processos de separação por membranas.

#### 4.1.10 Proteínas

De acordo como os dados observados na Tabela 3 todas as amostras apresentaram diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre si com relação ao teor médio de proteína.

A Figura 16 mostra as médias dos valores do teor de proteínas na polpa (408,67  $\mu\text{g/mL}$ ), suco tropical (194,83  $\mu\text{g/mL}$ ) e suco clarificado de açaí (17,83  $\mu\text{g/mL}$ ).

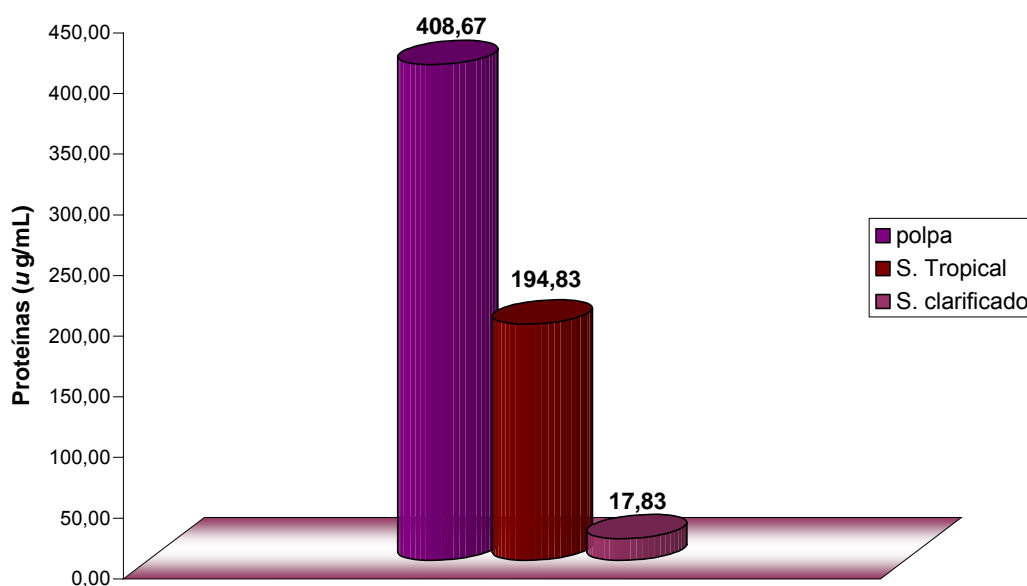


Figura 16 - Médias dos valores de proteínas na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí

O teor de proteínas após o processo de clarificação sofreu um decréscimo de cerca de 110% com relação ao suco tropical, possivelmente deve-se à atuação da quitosana como um polieletrólito de carga positiva em complexar às proteínas em suspensão. CÉSAR (2007) detectou um decréscimo de cerca de 90% no teor de proteínas do suco clarificado de açaí quando comparado ao suco tropical.

Os Padrões de Identidade e Qualidade estabelece o valor mínimo de 6,0% (g/100 g MS) para teor de proteínas (BRASIL, 2000), desta forma o suco clarificado de açaí encontra-se abaixo do mínimo recomendado e a polpa e o suco tropical acima do valor recomendado.

De acordo com os resultados do valor médio de proteína nas diferentes amostras, comprova-se o elevado teor nutricional do açaí, constituindo-se uma excelente fonte de proteína. Em comparação com outras frutas, o açaí apresenta um teor elevado em proteínas.

#### **4.1.11 Lipídios totais**

Conforme os dados observados na Tabela 3 para o teor de lipídios totais houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras.

Verifica-se na Figura 17 que houve um decréscimo de aproximadamente 97% no teor de lipídios do suco clarificado de açaí com relação ao suco tropical. Os valores observados na Figura 17 estão aproximados aos encontrados por CÉSAR (2007) para polpa (6,71%), suco tropical (0,52%) e suco clarificado (0,02%). Esse decréscimo é associado a ação da quitosana em complexar esses compostos.

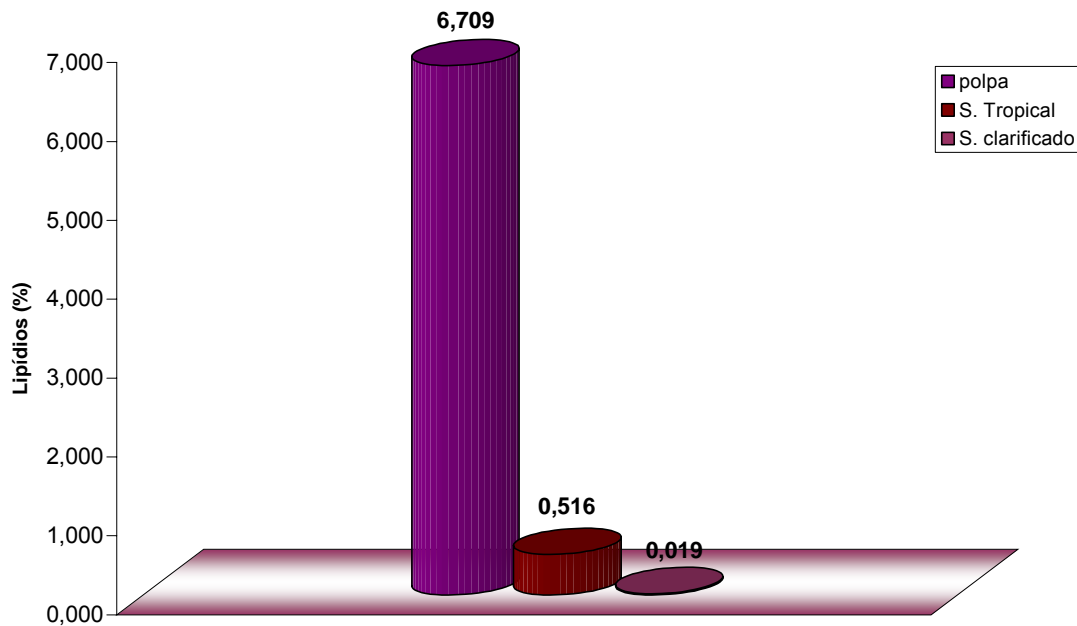


Figura 17 - Médias dos valores de lipídios totais na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí.

Segundo CRAVEIRO *et al.* (2004), o processo pelo qual a quitosana atua para absorver a gordura envolve a atração de cargas opostas que podem ser comparadas à atração de pólos magnéticos inversos, onde as cargas positivas da quitosana atraem os ânions dos ácidos graxos

Os resultados encontrados para teor de lipídios da polpa de açaí no presente estudo (6,7%) mostram-se bem próximos dos valores obtidos por YUYAMA *et al.* (2002) em estudos com polpa de açaí de diferentes Ecossistemas da Amazônia, onde o referido autor mostra teores de lipídios totais de acordo com a origem da polpa, variando de 1,5% (origem Parintins) e 6,9% (origem Benjamin Constant).

De acordo com os Padrões de identidade e qualidade estabelecidos na legislação (BRASIL, 2000), o teor de lipídios para polpa de açaí tipo C deve estar entre 20 e 60%. Por outro lado, os valores encontrados no presente trabalho encontram-se abaixo dos citados na referência.

## 4.2 Determinação de minerais

Conforme se observa na Tabela 3, os teores de minerais foram significativamente maiores na polpa de açaí apresentando diferença estatística ao nível de 5% quando comparados aos encontrados nos suco tropical e suco clarificado de açaí. Para preparação dos sucos é realizada uma diluição, e esse fato pode ser a explicação para a diminuição nos teores de minerais dos sucos.

Os valores dos elementos minerais encontrados na polpa estão de acordo com os citados por COHEN (2006)

Tabela 3 - Teores de minerais da polpa, do suco tropical e do suco clarificado de açaí

<b>Determinações*</b>	<b>Polpa</b>	<b>Suco Tropical</b>	<b>Suco Clarificado</b>
Cálcio ( $\mu\text{g/mL}$ )	381,83 <sup>a</sup>	87,90 <sup>b</sup>	84,41 <sup>b</sup>
Magnésio ( $\mu\text{g/mL}$ )	219,66 <sup>a</sup>	50,27 <sup>b</sup>	47,32 <sup>b</sup>
Zinco ( $\mu\text{g/mL}$ )	4,57 <sup>a</sup>	1,16 <sup>b</sup>	0,72 <sup>b</sup>
Manganês ( $\mu\text{g/mL}$ )	87,64 <sup>a</sup>	17,99 <sup>b</sup>	13,50 <sup>c</sup>
Ferro ( $\mu\text{g/mL}$ )	7,58 <sup>a</sup>	1,77 <sup>b</sup>	1,48 <sup>b</sup>
Cobre ( $\mu\text{g/mL}$ )	1,08 <sup>a</sup>	0,18 <sup>b</sup>	0,15 <sup>b</sup>
Sódio ( $\mu\text{g/mL}$ )	116,00 <sup>a</sup>	44,67 <sup>b</sup>	36,00 <sup>b</sup>
Potássio ( $\mu\text{g/mL}$ )	1664,00 <sup>a</sup>	320,00 <sup>b</sup>	316,00 <sup>b</sup>

\*Média de três amostras. Médias seguidas da mesma letra nas linhas são iguais estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Com relação aos teores de minerais dos sucos (tropical e clarificado), não ocorreram diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, com exceção ao manganês. Possivelmente a ação da quitosana, sendo um polieletrólito catiônico, não foi efetiva em complexa a maioria dos elementos minerais encontrados no suco tropical. Os valores de manganês encontrados na polpa foram maiores que os encontrados na literatura.

As fontes consultadas de composição química da polpa de açaí apresentam divergências nos resultados, às vezes bastante acentuadas, que podem mascarar algumas conclusões, além de suscitarem dúvidas ao se utilizar unidades que confundem à compreensão. É necessário padronizar os métodos de análises e a apresentação dos resultados em unidades padrões (SILVA *et al.*, 2004).

O teor de ferro no açaí ainda é um assunto de bastante discussão, em virtude da polêmica da definição dele ser, ou não, considerado uma fonte deste elemento. Os valores de ferro encontrados nos três produtos foram considerados relevantes quando comparado a outros alimentos considerados fontes de Ferro, a exemplo do jenipapo (3,4 mg/100g), beterraba (2,5 mg/100g), brócolis (2,6 mg/100g), entre outros. Portanto, pela quantidade, o açaí poderia ser considerado fonte de Ferro, porém, a sua absorção só seria facilitada se fosse na forma solúvel, ionizável e ultrafiltrável (FRANCO ,1998).

Os teores de potássio e cálcio encontrados no presente trabalho, também foram considerados elevados nos três produtos sendo muito superiores quando comparados a outros frutos tropicais, tornando o açaí e seus derivados um alimento bastante completo.

#### 4.3 Determinação das atividades enzimáticas da peroxidase do guaiacol e polifenoloxidase

A Tabela 4 e Figuras 18 e 19 apresentam as médias dos resultados das atividades enzimáticas da PPO e G-POD da polpa, do suco tropical e suco clarificado açaí.

Tabela 4 - Médias dos resultados das determinações da atividade da polifenoloxidase e da peroxidase do guaiacol da polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí

Determinações	Polpa	Suco tropical de açaí	Suco clarificado de açaí
Polifenoloxidase (PPO) (UAE/mim.g)	14850 <sup>a</sup>	11625 <sup>a</sup>	9400 <sup>a</sup>
Peroxidase do guaiacol (G-POD) (umols.H2O2.g)	136,69 <sup>a</sup>	108,57 <sup>a</sup>	4042,60 <sup>b</sup>

\*Média de três amostras. Médias seguidas da mesma letra nas linhas são iguais estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

### 4.3.1 Atividade enzimática Polifenoloxidase (PPO)

Conforme observamos na Tabela 4 as amostras não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre si com relação a atividade enzimática da PPO.

Os valores da atividade enzimática da PPO para polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí encontram-se representados na Figura 18.

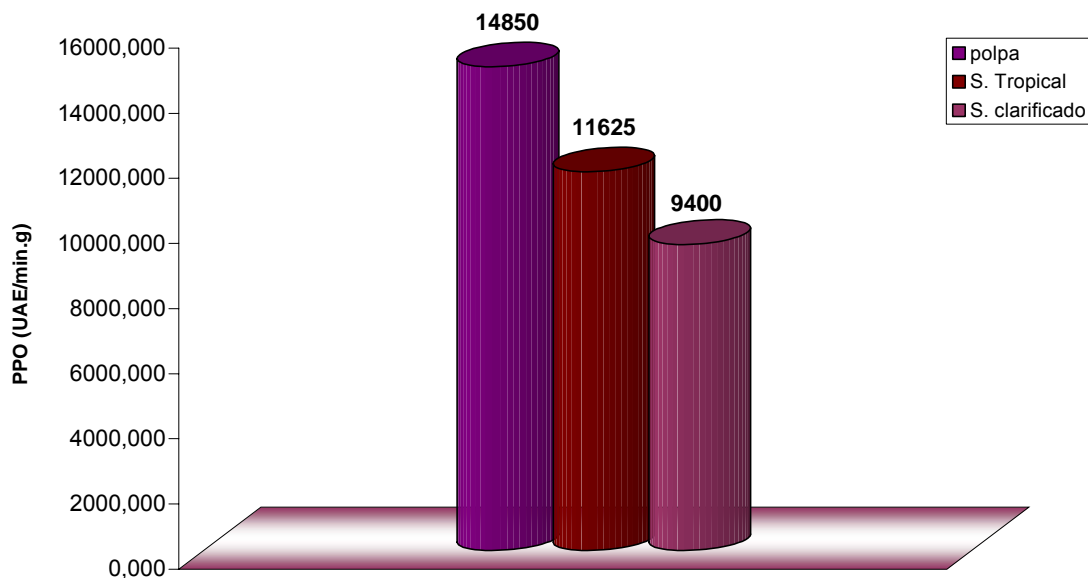


Figura 18 - Médias dos valores da atividade da polifenoloxidase na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí.

SANTOS (2001) encontrou valores de atividade de 3.200 UPPO/100 g em polpa de açaí, utilizando o catecol como substrato. Os valores médios encontrados para esse estudo, apresentaram atividade de cerca de 80% maior.

FLUERKEY & JEN (1978) estudaram a PPO de pêsego. Esses autores utilizaram catecol como substrato e definiram uma unidade de atividade de PPO como sendo o aumento de 0,1 unidade de absorbância por minuto a 420nm. Eles encontraram valores de atividade de 900 unidades de PPO/g de extrato bruto.

CARNEIRO *et al.* (2003), no estudo das atividades de POD e PPO de guariroba (*Syagrus oleracea* Becc) sob a ação de diferentes inibidores, obteve valor na amostra controle de 122,7UPPO/g.

GUERRERO-BELTRAN *et al* (2005) em trabalho de avaliação de diferentes agentes anti-escurecimento em purê de manga verificaram que a atividade da PPO na amostra controle foi de 11.700, 23.100 e 259.200UE/g em pH de 3.5, 4.0 e 4.4, respectivamente. A atividade residual da PPO decrescia com a diminuição do pH.

TROIANI, TROPIANI & CLEMENTE (2003) estudaram a atividade enzimática da PPO para amostras controles de uva do tipo 'Rubi' (60.40 UA/100g), Borbon (100.18 UA/100g) e Benitaka (48.62 UA/100g) submetidas a diferentes tratamentos térmicos (60° C, 65° C, 70° C e 75° C).

De acordo com os dados da TABELA 6, observa-se que ocorreu um decréscimo na atividade da PPO após o processamento dos sucos tropical (22%) e suco clarificado de açaí (37%). Esses decréscimos devem-se ao uso de tratamento térmico utilizado para o processamento dos sucos bem como pela adição de ácido cítrico para manutenção da cor do produto. Por outro lado, Oliveira (2005) detectou um aumento nas atividades das enzimas PPO e POD durante o processamento do suco tropical de manga, sendo a atividade da PPO superior a da POD, porém o incremento de atividade da POD foi maior (78%), em relação à PPO (66%).

VALDERRAMA, MARANGONI & CLEMENTE (2001), observaram em estudo do tratamento térmico utilizando diferentes temperaturas, um decréscimo quase contínuo de atividade da PPO em extratos de polpa e casca de maçã, sendo tal decréscimo diretamente relacionado ao incremento de temperatura.

SANTOS (2001) detectou o efeito da temperatura na atividade da PPO do extrato bruto da polpa de açaí. A enzima apresentou maior atividade na faixa de temperatura de 40-45° C, utilizando-se catecol como substrato em tampão fosfato pH 6.0.

FUJITA *et al.* (1995), num estudo com repolho, verificaram que a PPO apresentou temperatura ótima de atividade entre 40 e 45° C, esse resultado encontra-se semelhante os resultados obtidos por SANTOS (2001) para atividade de PPO em polpa de açaí.

MURATA *et al.* 1992 constataram que a PPO purificada de maçã mostrou-se termosensível quando submetida a um tratamento térmico brando de 30° C/5 min. A sua atividade foi reduzida para 75%, sendo a perda total da atividade verificada a 50° C. A enzima bruta também se mostrou sensível ao tratamento térmico (30° C/30 min), diminuindo a atividade para 60% da atividade inicial.

SANTOS (2001), verificou que a PPO da polpa de açaí mostrou maior estabilidade na faixa de pH 5,0 a 7,0, encontrado-se os resultados dentro da faixa de valores encontrados para pH ótimo de atividade de diversas frutas citadas na literatura.

ARSLAN *et al.* (1998), estudando a PPO de damasco, e utilizando catecol como substrato, encontraram um máximo de atividade em pH 8,5, que é acima da média de valores de pH ótimo de atividade para a PPO da maior parte das frutas e vegetais.

A PPO em frutos ricos em antocianinas desempenha um importante papel na qualidade da cor e propriedades comerciais dos frutos e seus produtos derivados. A PPO e a D-catequina causam a perda de 50-60% das antocianinas do morango após 24hs em temperatura ambiente com formação de precipitados (Fang *et al.*, 2007).

#### **4.3.2 Atividade enzimática da peroxidase do guaiacol (G-POD)**

Conforme resultados apresentados na Tabela 4, a polpa e o suco tropical de açaí não diferem entre si ao nível de 5% de significância com relação a atividade da G-POD, porém ambos diferem estatisticamente ( $p \leq 0.05$ ) do suco clarificado de açaí.



Os valores da atividade da G-POD para polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí encontram-se apresentados na Figura 19.

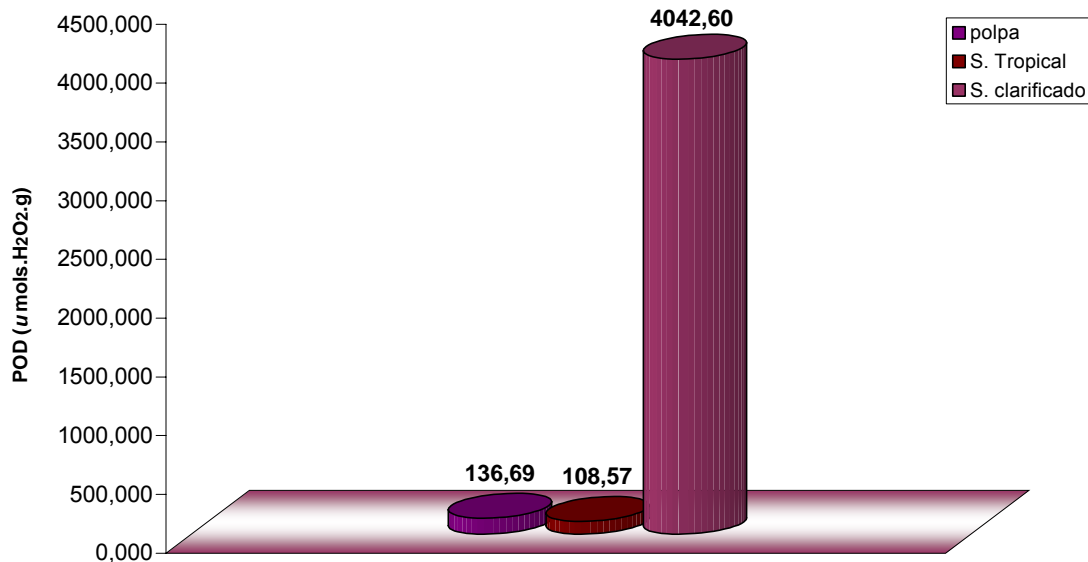


Figura 19 - Médias dos valores da peroxidase do guaiacol (G-POD) na polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí.

Os valores médios da atividade da G-POD encontrados nesse estudo para polpa estão de acordo com os apresentados por SANTOS (2001) trabalhando com extrato de polpa bruta de açaí, utilizando o guaiacol como substrato, encontrou valores de atividade de 153.800 UPOD/100g de polpa.

VALDERRAMA *et al.* (2001), em seu estudo sobre o efeito do tratamento térmico sobre a atividade da POD e PPO em polpa de maçã, encontraram valores de 31,10 UPOD/100g para maçã do tipo gala e 127,9 para maçã do tipo Fuji.

HOLSCHUH (2000) relatou que a carambola (*Averrhoa carambola* L.) apresentou 36.000 unidades de POD/100g de polpa madura. Comparando-se a carambola e os valores encontrados para polpa nesse estudo, este último apresentou atividade de G-POD cerca de 5 vezes maior do que a carambola.

O aumento da atividade da G-POD no suco clarificado de açaí deve-se possivelmente à adição do agente clarificante (quitosana), um carboidrato complexo, que em pH ácido (3.38) se hidrolisa resultando na formação de açúcares redutores com grupamento aldeídos e cetônicos, altamente reativos, que podem se complexar com radicais aminos provenientes de traços de aminoácidos ou proteínas no corpo do suco, resultando em reação de Maillard. Esses açúcares redutores também podem se polimerizar em reação de caramelização. Ambas as reações, de escurecimento não enzimático, formam polímeros escuros que são detectados em comprimento de onda na faixa de 420nm, muito próximo ao que é utilizado para detecção do tetraguaiacol, produto da reação catalisada pela G-POD (470nm). Lee et al (2007) detectaram reações de escurecimento enzimático e não enzimático em suco clarificado de banana em faixa de comprimento de onda de 420nm.

Por sua alta resistência à temperatura, a peroxidase pode ser usada como indicador a nível tecnológico para a avaliação de tratamentos térmicos e o estudo de conservação do suco de açaí. (ROGEZ, 2000).

A reativação da POD já foi observada em muitos sistemas modelos. SCHWEIGGERT *et al.* (2005) encontraram 3,5% de atividade residual da POD em pimentões utilizando rigorosos regimes de tempo/temperatura. Khan e Robinson (1993) também observaram este tipo de comportamento em seu estudo de termoestabilidade de isoperoxidasas catiônicas e aniônicas purificadas de polpa de manga. Os referidos autores atribuem esse tipo de comportamento a microheterogeneidade dos resíduos de oligossacarídeos ligados covalentemente a nível molecular.

Os tratamentos térmicos comercialmente usados no processo de extração de frutas e vegetais, como por exemplo, o HTST (*high temperature short time*), são pouco efetivos para uma inativação irreversível principalmente da POD (VALDERRAMA *et al.*, 2001).

## 5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados da composição química e físico-química da polpa de açaí, comprova-se o seu elevado teor nutricional, constituindo-se em excelente fonte principalmente de lipídios e antocianinas. No entanto, quando a polpa é processada em suco tropical e suco clarificado, ocorre uma redução significativa de nutrientes.

Os valores de ferro encontrados nos três produtos foram considerados relevantes quando comparado a outros alimentos considerados fontes de Ferro.

O tratamento térmico foi efetivo uma vez que reduziu a atividade da PPO nos sucos tropical e clarificado de açaí.

A alta atividade da G-POD em suco clarificado deve-se possivelmente à presença à interferência de pigmentos escuros provenientes de reações de escurecimento não enzimático sensíveis ao comprimento de onda utilizado para detecção da presença do tetraguaiacol.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, J.B. Regeneration and the kinetics of peroxidase inactivation, **Food Chemistry** v. 60, nº 2, p.201-206, 1997.

AGUIAR, J.P.L.; MARINHO, H.A.; REBÊLO, Y.S.; SHRIMPTON, R. Aspectos nutritivos de alguns frutos da Amazônia. **Acta Amazônica**, Manaus, v.10, n.4, p.755-758. 1980.

AGUIAR, J.P.L. Tabela de composição de alimentos da Amazônia. **Acta Amazônica**, v.26, n.1/2, p.121-26, 1996

ALTMAN, R.F.A., O caroço do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), **Boletim Técnico do Instituto Agrônomo do Norte**, Belém-PA, Brasil, n. 31, p. 109-111, 1956.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists - **Official Methods of Analysis**. Artlinton, 1995

AOAC - **Association of Official Analytical Chemists** - Official Methods of Analysis. Artlinton, 1995. by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses Food Chemistry ,2005.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 2ª ed. - Viçosa: UFV, 1999. 416p

ARSLAN, O. *et al.* Polyphenol-Oxidase from *Allium* sp. *J.Agric. Food Chem.*, Washington, DC, v. 45, n. 8, p. 2861-2863, 1997.

ARSLAN, O. *et al.* Polyphenol-Oxidase from Malatya Apricot (*Prunus armeniaca* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 46, p. 1239-1241, 1998.

BAHÇEÇI, K. S. *et al.* Study of lipoxygenase and peroxidase as indicator enzymes in green beans: change of enzyme activity, ascorbic acid and chlorophylls during frozen storage. **Journal of Food Engineering** , v. 66 , p. 187–192, 2005.

BARROS, S.T.D. Clarificação dos sucos de acerola e abacaxi por ultrafiltração: modelagem e simulação do fluxo de permeado e determinação de mecanismos de fouling. 2002. **Tese de Doutorado** – DTP/ Unicamp, Campinas, 2002.

BOBBIO, F. O. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, 2000.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A.; OLIVEIRA, P.; FADELLI, S. Stability and stabilization of the anthocyanins from *Euterpe oleracea* Mart. **Acta Alimentaria**, n. 31, p. 371–377, 2002.

BRADFORD, M.M.A. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, 72, pag. 248-254, 1976.

BRASIL, I. M. Utilização de pectinases e agentes “fining” no processamento de suco integral e clarificado de goiaba (*Psidium guajava*, L. var. pomífera), **Dissertação de Mestrado**. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria n. 78 de 17 de mar. 1998. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 mar.1998. p.39-40

BRASIL, I. M.; MAIA, G. A.; FIGUEIREDO, R. W.; Produção de suco clarificado de goiaba com uso de enzima pectinolítica e agentes fining, *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, v.30, n.6, p.855-866, jun. 1995.

BRASIL. Instrução normativa nº 1, de 7 de janeiro de 2000. Estabelece o regulamento técnico para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para a polpa de fruta. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 jan. 2000, Seção 1, n.6, p.54-58.

BUENO, S. M. *et al.*. Avaliação da qualidade de polpas de frutas congeladas. *Ver. Inst. Adolfo Lutz*, 62(2): 121-126, 2002

BURNETTE, F.S. Peroxidase and its relationship to food flavor and quality: a review. **Journal of Food Science** v. 42, p1-6, 1977

BUSCH, J. M. Enzymic browning in potatoes: A simple assay for a polyphenol oxidase catalysed reaction. **Biochemical Education**, v. 27, p. 171-173, 1999.

BUSCH K., K., Zentek, J., Wortmann, F. J., & Biourge, V. UV light, temperature, and humidity effects on white hair color in dogs. **Journal of Nutrition** 134, 2053S–2055S, 2004

CANO, M.P.; HERNANDEZ, A.; DE ANCOS, B. High pressures and temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products, **Journal of Food Science** v. 62, nº 1, p. 85-88, 1997

CARNEIRO, C. E. A.; ROLIM, H. M.; FERNANDES, K. F. Estudo das atividades de peroxidases e polifenoloxidase de guariroba (*Syagrus oleracea* Becc) sob a ação de diferentes inibidores. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**. Maringá, v. 25, n. 1, p. 189-193, 2003.

CARVALHO, A. S. L.; MELO, E. P.; FERREIRA, B. S.; PETERSEN, M. T. N.; PETERSEN, S. B.; BARROS, M. R. A. Heme and pH-dependent stability of an anionic horseradish peroxidase, **Arquivos of Biochemistry and Biophysics** v. 415, p. 257-267, 2003

CASTRO T. R.; ABREU, F. A. P. ; CARIOCA, J. O. B. , Obtenção de suco clarificado de caju (*Anacardium occidentale*, L)utilizando processos de separação por membranas, **Revista Ciência Agrônômica**, v.38, n.2, p.164-168, 2007

CAVALCANTE, P. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: CEJUP, 1996.271 p.

CESAR, L. T. **Obtenção de suco clarificado de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) com utilização de pectinase e quitosana**. 2007. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

CHAMARRO, J.; MOLINA, I. Oxidation of indoleacetic acid by an apparently homogeneous peroxidase from the flavedo of Washington Navel oranges (*Citrus sinensis*), **Journal of Food Biochemistry** v. 13, p. 361-375, 1989

CHATTERJEE, S.; CHATTERJEE, B. P.; GUHA, A. K. Clarification of fruit juice with chitosan. **Process Biochemistry**, n. 93, p. 2229-2232, 2004.

CHAVES, J. M.; PECHNIK, E., o açaí, um dos alimentos básicos da Amazônia, **Anais do 4º Congresso da Associação de Química do Brasil**, p. 169-172, 1948

CHEN, J.K.; NOBE, K. Oxidation of dimethylaniline by horseradish peroxidase and electrogenerated peroxide. *J. Electrochem. Soc.*, Chicago, v. 140, p. 299-303, 1993.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ª edição revisada e ampliada. Lavras: UFLA, 2005.

CHUTINTRASRI B., NOOMHORM A. Thermal inactivation of polyphenoloxidase in pineapple puree. **Food Science and Technology**, *In Press, Corrected Proof*, Available online 24 May 2005

CLEMENTE, E. Purification and thermo stability of isoperoxidase from oranges, **Phytochemistry** v. 49, nº 1, p. 29-36, 1998

C.N.N.B. – Conseil National de Nutrition de Belgique, **Recommandations nutritionnelles pour la Belgique**, De Backer, Sint- Martens-Latem, Belgique, 76 p, 1996.

CIVELLO, P.M.; MARTÍNEZ, G. A.; CHAVES, A. R.; AFIÓN, M. C. Peroxidase from strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.): partial purification and determination of some properties, **Journal of Agriculture and Food Chemistry** v. 43, p. 2596-2601, 1995

COHEN, K. O. - **Composição química do açaí Embrapa Amazônia Oriental** Sistemas de Produção, 4 - 2ª Edição ISSN 1809-4325 Versão Eletrônica. 2006.

CONCELLÓN, A.; AÑÓN, M. C.; CHAVES, A. R. Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature, **Food Chemistry** v. 88, p.17-24, 2004

COISSON J.D.; TRAVAGLIA, F.; PIANA, G.; CAPASSO, M.; ARLORIO, M. Euterpe oleracea juice as a functional pigment for yogurt. **Food Research International**, v. 38 n. 8-9, p. 893-897, 2005.

CRAVEIRO A. A.; CARAVEIRO, A. C.; QUEIROZ, D. C. **Quitosana – A Fibra do Futuro**, 2ª Edição, PADETEC – Parque de Desenvolvimento Tecnológico, Fortaleza, 2004.

DEL POZO I. D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) , **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 52, 1539 -1545, 2004.

DEL POZO, D.; PERCIVAL, S. S.; TALCOTT, S. T. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 54, p. 1222–1229, 2006.

DOGAN, S.; TURAN, P.; DOGAN, M.; ARSLAN, O.; ALKAN, M. Variations of peroxidase activity among *Salvia* species. **Journal of Food Engineering**, v. 79, p. 375–382, 2007.

DINCER, B.; COLAK, A.; AYDIN, N.; KADIOGLU, A.; GÜNER, S. Characterization of polyphenoloxidase from Medlar fruits (*Mespilus germanica* L., Rosaceae), **Food Chemistry** v. 77, p.1-7, 2002

ESCRIBANO, J.; CABANES, J.; CHAZARRA, S.; GARCIA-CARMONA, F.; Characterization of monophenolase activity of table beet polyphenol oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 45, p. 4209-4214, 1997

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 2001.

FANG, Z.; ZHANG, M. SUN, Y.; SUN J., **Polyphenol oxidase from bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) and its role in anthocyanin degradation**, *Food Chemistry* 103, 268–273, 2007

FERNANDES, A. G. **Alterações das características químicas e físico-químicas do suco de goiaba (*Psidium Guajava* L.) durante o processamento**. Dissertação de Mestrado. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2007

FLUERKEY, W. H.; JEN, J. J. Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, p. 1826-1828, 1978.

FORSYTH, J. L.; OWUSU APENTEN, R. K.; ROBINSON, D.S. The thermo stability of purified isoperoxidases from *Brassica oleracea* VAR. *gemmifera*, **Food Chemistry** v. 65, p. 99-109, 1999

FRAIGNIER, M. P.; MARQUÈS, L.; FLEURIET, A.; MACHEIX, J. J. Biochemical and immunochemical characteristics of polyphenol oxidases from different fruits of *Prunus*. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 2375-2380, 1995



FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. Anthocyanins as food color. **New York: Academic Press**, p. 181-207, 1982.

FRANCO, B. D. G. M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2003. 182 p.

FRANCO, F. **Tabela de Composição Química de Alimentos**. 9ª ed., São Paulo: Ed. Atheneu, 1999. 307 p.

FRANCO, G. **Tabela de Composição Química dos Alimentos**. Ed. Atheneu, 9ª edição, 307p, 2004.

FUJITA, S.; SAARI, N.; MAEGAWA, M. TETSUDA, T.; HAYASHI, N.; TONO, T. Purification and properties of polyphenol oxidase from cabbage (*Brassica oleracea* L.). **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 43, p. 1138-1142, 1995.

GANTHAVORN, C.; POWERS, J. R. Changes in peroxidase activity, hexanal, ascorbic acid and free sulphhydryl in blanched asparagus during frozen storage, **Journal of Food Science** v. 53, n° 5, p. 1403-1405, 1988

GANTHAVORN, C.; NAGEL, C. W.; POWERS, J. R. Thermal inactivation of asparagus lipoxygenase and peroxidase, **Journal of Food Science** v. 56, n° 1, p. 47-49, 1991

GOY, P. A. *et al.* Resistance to disease in the hybrid *Nicotina glutinosa* x *Nicotina debneyi* is associated with high constitutive levels of  $\beta$ -1,3-glucanase, chitinase, peroxidase and polyphenoloxidase. **Physiol. Mol. Plant Path.**, v. 41, p. 11-21, 1992.

GRANADA, G. L.; VENDRUSCOLO, J. L.; TREPTOW, R. O. Caracterização química e sensorial de sucos clarificados de amora-preta (*Rubus* spp. L.). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.7 n. 2, p. 143-147, mai-ago, 2001

HAARD, N. F.; TOBIN, L. Patterns of soluble peroxidase in ripening banana fruit, **Journal of Food Science** v. 36, p. 854-857, 1971

HEATHRBELL, D.A. Fruit juice clarification and fining. **Confruta**, V. 28, n. 3, p. 192-197, 1984.

HOLSCHUH, H. J. Isolamento, purificação e caracterização bioquímica de peroxidase de carambola (*Averrhoa carambola*, L.). Campinas, 2000. 159p. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2000.

HUBINGER, M. D.; CUNHA, R. L.; ALEXANDRE, D. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. **Ciências e tecnologia de alimentos**, Campinas, 24(1): 114-119, jan-mar. 2004.

İÇIER, F., YILDIZ, H., BAYSAL, T., Polyphenoloxidase deactivation kinetics during ohmic heating of grape juice. **Journal of Food Engineering** (2006), doi: 10.1016/j.jfoodeng.2007.08.002.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). Censo Agropecuário: banco de dados. **Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>**. Acesso em: 20 de agosto de 2001

IBRAF, 2006 Instituto Brasileiro de Fruticultura IBRAF (2006). **Lugar de fruta é na indústria do suco**, internet: <http://www.anba.com.br/noticia.php?id=11353>. 2006. Acesso: 12/07/06

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. v. 1, 3<sup>a</sup>. Ed. 533p. São Paulo, 1985.

JAYANI R. S.; SHIVALIKA S.; REENA G. Microbial pectinolytic enzymes: A review. **Bioresource Technology**, n. 77, p. 215-227, 2005.

KASPERA, R.; McCUE, P.; SHETTY, K. Partial purification of a basic guaiacol peroxidase from fava bean (*Vicia faba* L.): characterization of enzyme stability following elicitor treatment, **Food Biotechnology** v. 15, nº 2, p. 99-111, 2001

KASHYAP, D. R.; VOHRA, P. K.; CHOPRA, S.; TEWARI, R. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. **Bioresource Technology**, n. 77, p.215 - 227, 2001

KAVRAYAN, D.; AYDEMIR, T. Partial purification of polyphenoloxidase from peppermint (*Mentha piperita*), **Food Chemistry** v 74, p. 147-154, 2001

KHAN, A. A.; ROBINSON, D.S. The thermo stability of purified mango isoperoxidases. **Food Chemistry** v. 47, p. 53-59, 1993

KOFUJI, K.; QIAN, C.; NISHIMURA, M.; SUGIYAMA, I.; MURATA, Y.; KAWASHIMA, S. Relationship between physicochemical characteristics and functional properties of chitosan. **European Polymer Journal**, v. 41, n. 11, páginas 2784-2791, 2005

LAMIKANRA, O.; WATSON, M. A. Cantaloupe melon peroxidase: characterization and effects of additives on activity, **Nahrung** v. 44, p. 168-172, 2000

LANG, C; DORNENBURG, H. Perspectives in the biological function and the technological application of polygalacturonases **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 53 (4), p. 366-375, 2000

LEE, C. H.; PENNESI, A. P.; DICKSON, M. H. Characterization of the cauliflower peroxidase isoenzyme, **Journal of Agriculture and Food Chemistry** v. 32, p. 16-21, 1984

LEE, W.C.; YUSOF, S.; HAMID, N.S.A.; BAHARIN, L.W.T. Effects of fining treatment and storage temperature on the quality of clarified banana juice. **Food Science and Technology**, v. 40, n. 10, p. 1671-1854, 2007.

LIMA, E. D. P. A. Purificação e caracterização bioquímica da polifenoloxidase (PPO) em fruto da família anonácea-pinha (*Annona squamosa* L.). Campinas, 1999. 131 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 1999.

LOPEZ-SERRANO, M.; BARCELÓ, A. R. Purification and characterization of a basic peroxidase isoenzyme from strawberries, **Food Chemistry** v. 55, nº 2, p. 133-137, 1996

LU, T.; WHITAKER, J.R. Some factors affecting rates of heat inactivation and reactivation of horseradish peroxidase. **Journal of Food Science** v. 39, p. 1173-1178, 1974

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997.

MANZOCCO, L.; NICOLI, M. C.; ANESE, M.; PITOTTI, A.; MALTINI, E. Polyphenoloxidase and peroxidase activity in partially frozen systems with different physical properties, **Food Research International** v. 31, nº 5, p. 363-370, 1999

MARANGONI, A. G.; BROWN, A. D.; STANLEY, D. W.; YADA, R. Y. Tomato peroxidase: rapid isolation and partial characterization, **Journal of Food Science** v. 54, nº 5, p. 1269-1271, 1989

MARTINÉZ, M.V.; WHITAKER, J.R. The biochemistry and control of enzymatic browning, **Trends in Food Science and Technology** v. 6, p. 195-200, 1995

MATSUNO, H.; URITANI, I. **Physiological behavior of peroxidase isoenzymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot.** Plant and Cell Physiology, Tokio, v. 13. P. 1091-1101, 1972.

MELO, R. B. Conservação de melão orange flesh submetido à aplicação pós-colheita de 1-MCP (1-Metilciclopropeno). **Dissertação de Mestrado.** Departamento de Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2005. 69 p.

MDLULI, K. **Partial purification and characterisation of polyphenol oxidase and peroxidase from marula fruit (*Sclerocarya birrea* subsp. *Ca.ra*)** Food Chemist., vol 92, p.311–323,2005.

MILLER, G. L. **Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugar.** Analytical Biochemistry, New York, v. 31, p. 426-428, 1959.

MORGANO, M. A., QUEIROZ, S. C.N., FERREIRA, M. M. C. **Determinação dos teores de minerais em sucos de frutas por espectrometria de emissão óptica em plasma indutivamente acoplado (ICP-OES).** Ciênc. Tecnol. Aliment., vol. 19, nº 3, p. 344-348, 1999.

MOURA, C. F. H.; CANO, C. I. M.; FREIRE, S. E.; TEIXEIRA, G. H. A. *et al.* **Caracterização de frutas nativas da América Latina.** Jaboticabal: Funep, 2000. 66 p.

MÜFTÜGİL, N. The peroxidase enzyme activity of some vegetables and its resistance to heat, **Journal of the Science of Food and Agriculture** v. 36, p. 877-880, 1985

MURATA, M. KUROKAMI, C.; HOMMA, S. Purification and some properties of chlorogenic acid oxidase from apple (*Malus pumila*). **Bioscience, Biotechnology e Biochemistry**, Tokyo, v. 56, n. 11, p. 1705-1710, 1992.

OKTAY, M. KÜFREDİDİGLU, I.; KOCACALISKAN, L.; SAKIROGLU, H. Polyphenoloxidase from Amasya Apple. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, n. 3, p. 494-496, 1995.

OLIVEIRA, M. S. P.; CARVALHO, J. E. U.; NASCIMENTO, W. E. O.; MULLER, C.H, **Cultivo do Açaizeiro para Produção de Fruto – Circula Técnica Nº 26**, EMBRAPA, 2002, 18p.

ONSA, G. H.; SAARI, N.; SELAMAT, J.; BAKAR, J. Purification and characterization of membrane-bound peroxidases from *Metroxylon sagu*, **Food Chemistry** v. 85, p. 365-376, 2004

PACHECO-PALENCIA L.; HAWKEN, P.; TALCOTT, S.T. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. **Food Research International**. *IN PRESS*, 2006.

PAULA, B.; MORAES, I. V. M.; CASTILHO, C. C.; GOMES, F. S.; MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C. Melhoria na eficiência da clarificação de suco de maracujá pela combinação dos processos de microfiltração e enzimático. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 22, n. 2, jul./dez. 2004.

PEARSON, D. **Técnicas de laboratório para el analisis de alimentos**. Zaragoza, Editora Acribia, 331 p. 1976.

PIMENTEL, L.M. **Influência do Processamento sobre a vitamina C do suco de acerola (M. glabra L.)**. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1996. (Tese de Mestrado).

QUEIROZ, M.; ROGEZ, H.; BUXANT, R.; Presença de uma atividade de peroxidase no suco de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **XXXVI Congresso Brasileiro de Química, Livro de Resumos**, São Paulo-Sp, Brasil, 1996.

ROBINSON, D. S. **Peroxidases and their significance in fruits and vegetables**. In: FOX, P. F. Food Enzymology. Elsevier Applied Science London and new York. vol. 1, 636p. 1991.

RODRIGO, C.; RODRIGO, M.; ALVARRUIZ, A.; FRÍGOLA, A. Thermal inactivation at high temperatures and regeneration of green asparagus peroxidase, **Journal of Food Protection** v. 59, nº 10, p. 1065-1071, 1996

RIGON, L. et. al. **Anuário brasileiro de fruticultura**. Santa Cruz: editora Gazeta, 2005. 135p.

ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e melhoramentoda conservação**. Belém: EDUFA, 2000. 313 p.

SANTOS, H. R. **Caracterização bioquímica da peroxidase e polifenoloxidase de açaí (*Euterpe oleracea*)**, Campinas, 109 p, Tese (Mestre em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2001.

SERRADELL, M. A.; ROZENFELD, P. A.; MARTINÉZ, G. A.; CIVELLO, P. M.; CHAVES, A. R.; AÑON, M. C. Polyphenoloxidase activity from strawberry fruit (*Fragaria ananassa*, Duch., cv Selva): characterization and partial purification, **Journal of the Science of Food and Agriculture** v. 80, p.1421-1427, 2000.

SÁ, I. S.; CABRAL, L. M. C.; MATTA, V. M. Concentração de Suco de Abacaxi Através dos Processos com Membranas. **Braz. J. Food Technol.**, v. 6, n. 1, p. 53-62, jan./jun., 2003.

SISVAR, **Programa Sisvar**. Sistema de Análises de variância. Versão 4.6, UFPA, 2003.

SOUSA, M. A. C.; YUYAMA, L. K. O., AGUIAR, J. P. L. **Suco de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.): avaliação microbiológica, tratamento térmico e vida de prateleira**, Acta Amazonica, vol. 36(4), 2006, 483-496.  
USDA, Nutrient Database for Standard Reference, **United States Department of Agriculture**, Maryland, United States, 1998.

TELES, K. H. Obtenção do suco clarificado e concentrado de acerola (*Malpighia glabra* L.). **Dissertação de Mestrado**. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 1997. 89 p.

TINOCO, A. C. **Açaí amazônico: novas perspectivas de negócio**. Belém, PA: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2005. 1 CD-ROM. Trabalho apresentado no Workshop Regional do Açaizeiro: pesquisa, produção e comercialização, Belém, PA, 2005.

VAILLANT, F.; CISSEA, M.; CHAVERRIB, M.; PEREZ, A.; DORNIER, M.; VIQUEZ, F.; DHUIQUE-MAYERA, C. Clarification and concentration of melon juice using membrane processes Innovative. **Food Science and Emerging Technologies**, n. 6 p. 213– 220, 2005

VALDERRAMA, P. MARANGONI, E. CLEMENTE, E. **Efeito do tratamento térmico sobre a atividade de peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em maçã (*Mallus comunis*)"**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 21, n. 3, p. 321-325, 2001.

VALDERRAMA, P.; CLEMENTE, E. **Isolation and thermostability of peroxidase isoenzymes from apple cultivars Gala and Fuji**. *Food Chemistry*. v. 87, pp. 601-606. 2004

VALERO, E.; VARÒN, R.; GARCIA-CARMONA, F. **Kinetic study of the effect of metabissulfite on polyphenol oxidase**. *J. Agric. Food Chem.* v. 40, pp. 904-908, 1992.

VIGYÁZO-VÁMOS, L. **Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables**. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, Boca Raton, v. 20, p. 49-127, 1981.

WHITAKER, J. R. **Mechanisms of Oxidoreductases important in food component modification**. In: Richardson, T.; Finley, J. W. *Chemical changes in food during processing*. Institute of Food Technologists. Basic Symposium Series. 514p, New York, 1985.

YUYAMA L. K.; AGUIAR J. P. L.; MELO T.; BARROS, S. E.; YUYAMA, K.; FÁVARO D. I.T.; VASCONCELLOS, M.; PIMENTEL, S. A.; BADOLATO E. S. G. **Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.): Qual o seu Potencial Nutricional?** In: **XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura**, 2002, Belém. *Anais do Congresso Brasileiro de Fruticultura*, 2002

ANEXOS



ANEXO A – Análise de variância (ANOVA) – Acidez titulável, pH, teor de sólidos solúveis totais (SST), vitamina C, antocianinas totais, luminosidade, açúcares redutores (AR), açúcares não-redutores (ANR), açúcares totais (AT), lipídios totais e proteínas da polpa e suco tropical e suco clarificado de açaí

Quadrados Médios (QM)												
FV	GL	Acidez	pH	SST	Vit.C	Antoc.	L*	AR	ANR	AT	Lipídios	Proteínas
<b>Tratamento</b>	2	0,011811*	1,512761*	4,9911*	28,253911*	2720,4701*	441,736337*	1,565243*	0,104380*	2,494276*	41,682*	114902,194444*
<b>Resíduo</b>	6	0,007267	0,007434	0,003345	1,315567	0,021867	4,374678	0,012932	0,005432	0,033314	0,0010	38,895833
<b>CV(%)</b>		43,84	2,05	2,78	11,14	0,65	8,63	16,11	37,46	5,188438	1,3174	3,01

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

ANEXO B – Análise de variância (ANOVA) – Cálcio, ferro, manganês, sódio, magnésio, cobre, zinco, potássio, da polpa, do suco tropical e do suco clarificado de açaí

FV	GL	Quadrados Médios (QM)							
		Cálcio	Ferro	Manganês	Sódio	Magnésio.	Cobre	Zinco	Potássio
<b>Tratamento</b>	2	87432,759*	35,5259*	5184,2930*	5781,777*	29201,309*	0,833280*	13,3494*	1811728,00*
<b>Resíduo</b>	6	31,3162	0,1439	2,4662	32,4444	22,6385	0,004828	0,06895	3504,000
<b>CV(%)</b>		3,03	10,50	3,95	8,69	4,50	14,68	12,20	7,72

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

ANEXO C - Análise de variância (ANOVA) – Atividade enzimática da polifenoloxidase e da peroxidase do guaiacol em polpa, suco tropical e suco clarificado de açaí

<b>Quadrados Médios (QM)</b>			
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>Polifenoloxidase(PPO)</b>	<b>Peroxidase do guaiacol (G-POD)</b>
<b>Tratamento</b>	2	15017916,666667*	10244514,653645*
<b>Resíduo</b>	3	1787083,333333	1090,370416
<b>CV(%)</b>		11,18	2,05

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade