



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA EXTRAÇÃO E DA MICROFILTRAÇÃO  
DO AÇAÍ SOBRE SUA COMPOSIÇÃO E ATIVIDADE  
ANTIOXIDANTE

Ana Paula Gil Cruz

2008



**UFRJ**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA EXTRAÇÃO E DA MICROFILTRAÇÃO  
DO AÇAÍ SOBRE SUA COMPOSIÇÃO E ATIVIDADE  
ANTIOXIDANTE**

Ana Paula Gil Cruz

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Instituto de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadoras: Carmen Marino Donangelo  
Virgínia Martins da Matta

Rio de Janeiro,  
Agosto, 2008

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA EXTRAÇÃO E DA MICROFILTRAÇÃO  
DO AÇAÍ SOBRE SUA COMPOSIÇÃO E ATIVIDADE  
ANTIOXIDANTE

Ana Paula Gil Cruz

Aprovada por:

---

Profª Drª Carmen Marino Donangelo Presidente  
Instituto de Química – UFRJ

---

Drª Virgínia Martins da Matta  
Embrapa Agroindústria de Alimentos

---

Drª. Sonia Couri  
Embrapa Agroindústria de Alimentos

---

Profª. Dr. Joab Trajano Silva  
Instituto de Química – UFRJ

---

Profª Drª Adriana Farah  
Instituto de Química – UFRJ

Rio de Janeiro  
Agosto, 2008

Cruz, Ana Paula Gil.

Avaliação da influência da extração e microfiltração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante/ Ana Paula Gil Cruz. Rio de Janeiro: UFRJ/ IQ, 2008.

xvii; 88 f.: il, 31cm.

Orientadores: Carmen Marino Donangelo e Virgínia Martins da Matta

Dissertação (Mestrado) – UFRJ/ IQ/ Programa de Pós-graduação em Bioquímica, 2008.

Referências bibliográficas: 81- 92.

1. Açaí. 2. Extração. 3. Microfiltração. 4. Compostos Bioativos. 5. Atividade Antioxidante. 6. Estágios de maturação. I. Donangelo, Carmen Marino; Matta, Virgínia Martins da. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro/ Instituto de Química/ Programa de Pós-graduação em Bioquímica. III. Avaliação da influência da extração e microfiltração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esta importante conquista aos meus pais, José Luiz e Inês, pelo amor, carinho, dedicação e sabedoria com que me educaram sem os quais nada seria possível. Dedico igualmente ao meu esposo, Esteban, por seu imenso amor, apoio, companheirismo, conselhos e desprendimento, que me permitiram a realização de mais um sonho e às minhas filhas, Pâmela e Manuela, por todo amor e cumplicidade que por muitas vezes não me deixaram fraquejar e sem os quais as renúncias de alguns momentos não seriam possíveis.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as bênçãos que tenho recebido e que permitiram todo meu crescimento até então e continuarão a iluminar os caminhos a serem trilhados por mim na busca do aperfeiçoamento constante tanto profissional como espiritual.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos, pela oportunidade e cessão de suas instalações que permitiram a realização deste trabalho.

Às minhas orientadoras, Carmen e Virgínia, pelo carinho, confiança no meu potencial, ensinamentos e conselhos que me permitiram um crescimento ímpar e a conquista de mais uma etapa.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica do Instituto de Química, pelo apoio.

Aos meus amigos da Embrapa, Chorão, Flávia, William, Filé, Selma, Claudão, David, Henriqueta, Andressa, Manuela, Ana Cristina, Luciana Sampaio, Sidinéa e Marco pela amizade, conversas e o carinho que sempre esteve presente em nossos relacionamentos, além da imensa ajuda em diferentes etapas da parte experimental deste trabalho.

À pesquisadora Rafaella Mattietto, da Embrapa Amazônia Oriental e à profa. Cristina Dib Táxi e sua equipe, da Universidade Federal Rural da Amazônia, pela ajuda nos experimentos de extração do açai.

À Lourdes e Angela Furtado, pelo carinho, amizade e valiosos ensinamentos e conselhos.

Ao Edmar, Sônia, Mônica Damaso, Félix e Viktor, por contribuírem de alguma forma com meu crescimento e pelo convívio sempre tão rico.

Aos colegas de mestrado, em especial à Mônica, Ellen, Morgana, Ilana, Vanessa, Juliane, Gisele, Sérgio, Lindomar, Cristiano e Ieda por compartilhar tanto os momentos de desespero, como os de alegrias e sucessos ao longo do curso.

Aos colegas do Laboratório de Bioquímica Nutricional e de Alimentos pela troca de conhecimento e pelo convívio.

Aos meus pais, que me ensinaram a prosseguir sempre e que os obstáculos existem para serem superados sem, contudo, trair nossos valores e ideais.

À minha família, Esteban, Pâmela e Manuela que sempre me incentivaram e com todo amor, paciência, sensibilidade e sabedoria me acompanharam, principalmente durante este período.

Aos meus amados irmãos, Tico e Tuti, que mesmo longe fisicamente sempre se fazem presentes em minha vida e dos quais sempre tenho o apoio e conselhos que necessito.

Aos meus tios e tias, Bibiana, Newton, Madalena (*in memorian*), Clayton, José Augusto, Tereza, Braúlio, Ireny, Maria Francisca, Jaime, Marilda e Márcio pelos inúmeros ensinamentos de vida.

Aos meus avôs, Braúlio (*in memorian*), Aparecida, Joanna e Márcio (*in memorian*) que me mostraram que a humildade e a dedicação são ferramentas fundamentais para o conhecimento e crescimento.

Aos meus sogros, Humberto e Marina, meus primos, primas, cunhadas, sobrinho e sobrinha pelo incentivo.

À Mônica Pagani pela amizade, conselhos, força e companheirismo durante este período tão intenso da minha vida.

Aos amigos Daniel, Aline Bravo, Poliana, Sandra Márcia e Simone pelo apoio, incentivo e pelo convívio tão rico, feliz e intenso.

Aos amigos conquistados ao longo deste tempo Flávia Pingo, Cristina, Isabelle, Ângela, Alcilúcia, Bia, André, André (Pimenta), Adriana, Lauro, Ana Carolina, Rafael, Pietro, Fernandinha, Aline e Denise, pela ajuda, por todos os momentos compartilhados e pelos laços que não se desfazem com o tempo e distância.

A todos com quem tive o prazer de conviver e que certamente contribuíram para este momento.

À CAPES pela concessão de bolsa e ao Projeto PAVUC Inco-Dev 15279, pela bolsa inicial e pelo financiamento do projeto.

## RESUMO

O açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma palmeira da região amazônica, de cujo fruto globuloso violáceo se extrai uma polpa cremosa que vem conquistando tanto novos mercados consumidores em função do seu valor nutricional e sabor exótico, quanto o interesse da comunidade científica, por sua composição em compostos bioativos. O açaí é um fruto de grande importância para o desenvolvimento da região amazônica, não só por fazer parte do hábito alimentar da população local como também por responder pela sustentação econômica das populações envolvidas no seu cultivo. Dados de composição química do açaí são ainda escassos e o potencial de desenvolvimento de novos produtos não foi completamente explorado. Deste modo, os objetivos deste trabalho foram avaliar as alterações na composição do açaí durante a maturação assim como avaliar a influência da extração e da microfiltração sobre os compostos bioativos e sua atividade antioxidante *in vitro*. Os resultados obtidos mostraram que as antocianinas do açaí somente são produzidas ao final da maturação. Os teores de compostos fenólicos totais apresentaram ligeira queda no início da maturação e um aumento considerável ao final da mesma, tendo a atividade antioxidante *in vitro* apresentado o mesmo comportamento. O tratamento enzimático a 40°C, durante a etapa de maceração dos frutos, incrementou em 50% a extração de compostos fenólicos e em mais de 75% a extração dos pigmentos antociânicos em relação a extração a 40°C sem a adição da preparação enzimática. A polpa obtida nesta condição de maceração apresentou teor de fenólicos totais de 346 mg/100g, antocianinas totais de 58 mg/100g e uma atividade antioxidante de 26  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox/g. A temperatura de processo e o tipo de membrana utilizada na microfiltração da polpa de açaí centrifugada, de uma forma geral, não influenciaram significativamente os compostos bioativos e a atividade antioxidante das duas frações obtidas, entretanto, o fluxo de permeado foi fortemente afetado pelos dois fatores, atingindo o maior valor médio (117 L/hm<sup>2</sup>) com a membrana cerâmica a 35°C. A microfiltração do açaí permitiu a obtenção de duas frações com características distintas, porém igualmente ricas, tanto em relação à composição química das mesmas como em relação

ao potencial de aplicação industrial. O suco clarificado, que pode ser utilizado como base para geléias finas, repositores de sais e, refrigerantes, apresentou teores de antocianinas de 16 mg/100g, fenólicos totais de 138 mg/100g e atividade antioxidante de 9  $\mu$ mol equivalentes de Trolox/g. A fração retida, por sua vez, com características similares às do açaí original, apresentou teores de 75 mg/100g de antocianinas, 433 mg/100g de fenólicos totais e 31  $\mu$ mol equivalentes de Trolox/g de atividade antioxidante, podendo servir de matéria-prima para diferentes produtos tais como néctares prontos para o consumo, iogurtes, recheios e sorvetes.

Palavras-chave: açaí, estágios de maturação, processamento de polpa, microfiltração, compostos bioativos, atividade antioxidante.

## ABSTRACT

Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) is a palm plant of the Amazon region with round-shaped dark-purple fruits from which a creamy pulp can be extracted. It has increasing consumer markets due to its nutritional value, exotic flavor and composition in bioactive substances. Açaí fruit is important for the development of the Amazon region, not only as a major staple local food but also as a major economic resource for the local population. Data on chemical composition are still scarce and the potential for development of new products has not been completely explored. Therefore, the objectives of this work were to evaluate changes in composition of açaí during maturation and the influence of extraction and microfiltration processes on bioactive components and *in vitro* antioxidant activity. The results obtained showed that anthocyanins are produced in açaí at the final stage of maturation. Total phenolic compounds, as well as antioxidant activity, were slightly reduced at the early stage of maturation, but increased substantially at the final stage. Enzymatic treatment at 40°C during fruit maceration increased extraction of total phenolics (50%) and of total anthocyanins (75%). Using this treatment, the pulp contained 356 mg/100g total phenolics, 58 mg/100g total anthocyanins, and 26 µmol Trolox equivalents/g of antioxidant activity. In general, the temperature and type of membrane used during microfiltration of the centrifuged açaí pulp did not influence significantly bioactive components and antioxidant activity of the two fractions obtained. However, the permeate flux was strongly dependent on both factors, reaching the highest mean value (117 L/hm<sup>2</sup>) with the ceramic membrane at 35°C. Microfiltration of açaí resulted in two fractions with distinct characteristics although both rich in bioactive components and with potential industrial application. The clarified juice that could be used in the formulation of jellies, sport and soft drinks, had 16 mg/100g of anthocyanins, 138 mg/100g of total phenolics and 9 µmol Trolox equivalents/g antioxidant activity. The retained fraction, with similar characteristics to the original açaí fruit, had 75 mg/100g anthocyanins, 433 mg/100g total phenolics and 31 µmol Trolox equivalents/g

of antioxidant activity, and could be used as an ingredient for different products like ready to drink nectars, yoghurts, fillings and ice-creams.

Key-words: açai, ripeness degrees, pulp processing, microfiltration, bioactive compounds, antioxidant activity

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.1:</b> Metabolismo de compostos fenólicos em plantas .....	5
<b>Figura 2.2:</b> Principais classes de compostos não-flavonóides .....	6
<b>Figura 2.3:</b> Núcleo flavano.....	6
<b>Figura 2.4:</b> Principais classes de flavonóides.....	7
<b>Figura 2.5:</b> Reação de quantificação de fenólicos totais por reagente de Folin-Ciocalteu .....	8
<b>Figura 2.6:</b> Principais antocianidinas em alimentos.....	10
<b>Figura 2.7:</b> Grupos estruturais que contribuem para a atividade antioxidante das antocianinas .....	12
<b>Figura 2.8:</b> Comportamento das antocianinas em função do pH.....	14
<b>Figura 2.9:</b> Comportamento espectral do ABTS .....	18
<b>Figura 2.10:</b> Processos de separação por membranas em função do tamanho dos poros.....	19
<b>Figura 2.11(a):</b> Esquema de filtração em profundidade.....	20
<b>Figura 2.11(b):</b> Esquema de filtração tangencial .....	20
<b>Figura 2.12(a):</b> Açazeiro .....	24
<b>Figura 2.12(b):</b> Fruto do açaí.....	24
<b>Figura 3.1:</b> Diagrama dos procedimentos experimentais realizados .....	32
<b>Figura 3.2:</b> Fluxograma de obtenção da polpa dos frutos do açaí em três estágios de maturação .....	33
<b>Figura 3.3:</b> Batedeira ou despoldadeira de açaí.....	33
<b>Figura 3.4:</b> Despoldadeira de escovas .....	36
<b>Figura 3.5:</b> Centrífuga de cestos .....	36
<b>Figura 3.6:</b> Sistema de microfiltração com membranas cerâmicas .....	37
<b>Figura 3.7:</b> Sistema de microfiltração com membranas poliméricas .....	38
<b>Figura 3.8:</b> Fluxograma de processo de limpeza dos sistemas de microfiltração .....	40
<b>Figura 3.9:</b> Procedimento de obtenção do extrato para quantificação da atividade antioxidante .....	42
<b>Figura 3.10:</b> Procedimento de quantificação das antocianinas totais por Fuleki & Francis (1968 a) .....	43

<b>Figura 3.11:</b> Procedimento de quantificação das antocianinas totais e monoméricas por pH diferencial .....	<b>45</b>
<b>Figura 3.12:</b> Procedimento de obtenção do extrato e quantificação do teor de fenólicos totais por Folin-Ciocalteu .....	<b>48</b>
<b>Figura 4.1:</b> Exemplo de cromatograma obtido coma polpa de açaí .....	<b>54</b>
<b>Figura 4.2:</b> Relação entre a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos totais do açaí em três estágios de maturação .....	<b>56</b>
<b>Figura 4.3:</b> Influência da temperatura e do tratamento enzimático durante a maceração do fruto sobre os compostos fenólicos da polpa de açaí .....	<b>60</b>
<b>Figura 4.4:</b> Influência da temperatura e do tratamento enzimático durante a maceração do fruto sobre as antocianinas da polpa de açaí .....	<b>61</b>
<b>Figura 4.5:</b> Influência do tipo de membrana sobre o fluxo de permeado nos processos a 25°C .....	<b>67</b>
<b>Figura 4.5:</b> Influência do tipo de membrana sobre o fluxo de permeado nos processos a 35°C .....	<b>68</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 3.1:</b> Matérias primas utilizadas.....	<b>31</b>
<b>Tabela 3.2:</b> Gradiente de concentração da fase móvel.....	<b>47</b>
<b>Tabela 4.1:</b> Composição centesimal e parâmetros físico-químicos da polpa do açaí em três estágios de maturação .....	<b>51</b>
<b>Tabela 4.2:</b> Compostos fenólicos e atividade antioxidante <i>in vitro</i> da polpa do açaí em três estágios de maturação .....	<b>53</b>
<b>Tabela 4.3:</b> Rendimento da polpa de açaí em diferentes estágios de maturação do fruto .....	<b>57</b>
<b>Tabela 4.4:</b> Parâmetros físico-químicos das polpas de açaí obtidas em diferentes condições de maceração do fruto.....	<b>58</b>
<b>Tabela 4.5:</b> Compostos fenólicos e atividade antioxidante <i>in vitro</i> das polpas de açaí obtidas em diferentes condições de maceração do fruto .....	<b>59</b>
<b>Tabela 4.6:</b> Análise de variância de dois fatores dos parâmetros das polpas de açaí obtidas em diferentes condições de maceração do fruto .....	<b>63</b>
<b>Tabela 4.7:</b> Parâmetros da polpa do açaí antes e após os pré-tratamentos, refino e centrifugação.....	<b>64</b>
<b>Tabela 4.8:</b> Compostos fenólicos e atividade antioxidante <i>in vitro</i> da polpa do açaí antes e após os pré-tratamentos, refino e centrifugação.....	<b>65</b>
<b>Tabela 4.9:</b> Parâmetros físico-químicos do suco de açaí clarificado por microfiltração.....	<b>69</b>
<b>Tabela 4.10:</b> Parâmetros físico-químicos da fração retida do açaí durante a sua microfiltração.....	<b>70</b>
<b>Tabela 4.11:</b> Compostos fenólicos e atividade antioxidante <i>in vitro</i> do suco de açaí clarificado por microfiltração.....	<b>71</b>
<b>Tabela 4.12:</b> Compostos fenólicos e atividade antioxidante <i>in vitro</i> da fração retida do açaí durante a sua microfiltração .....	<b>72</b>
<b>Tabela 4.13:</b> Perdas de compostos fenólicos e atividade antioxidante <i>in vitro</i> em função dos processos de microfiltração .....	<b>74</b>

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	1
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	4
2.1.	Compostos fenólicos .....	4
2.1.1.	Caracterização química.....	4
2.1.2.	Métodos de análise .....	7
2.2.	Antocianinas.....	10
2.3.	Atividade antioxidante .....	15
2.4.	Processos de separação por membranas.....	18
2.5.	Açaí 23	
2.5.1.	Caracterização química e atividade antioxidante .....	25
2.5.2.	Processamento do açaí.....	28
3.	MATERIAL E MÉTODOS .....	31
3.1.	Matéria-prima .....	31
3.2.	Procedimento experimental.....	32
3.2.1.	Caracterização da polpa de açaí em três estágios de maturação.....	33
3.2.2.	Extração da polpa de açaí em diferentes condições de maceração .....	34
3.2.3.	Pré-tratamentos para a microfiltração .....	35
3.2.4.	Microfiltração .....	36
3.2.5.	Limpeza dos sistemas de microfiltração.....	39
3.3.	Métodos analíticos .....	41
3.3.1.	Atividade antioxidante .....	41
3.3.2.	Antocianinas totais e monoméricas.....	43
3.3.3.	Identificação das antocianinas monoméricas por CLAE .....	46
3.3.4.	Fenólicos totais .....	47
3.3.5.	pH.....	48
3.3.6.	Sólidos solúveis (oBrix) .....	48
3.3.7.	Acidez titulável total.....	49
3.3.8.	Teor de polpa.....	49
3.3.9.	Sólidos totais .....	49
3.3.10.	Composição centesimal.....	49

3.3.11. Análise estatística dos dados .....	50
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	51
4.1. Caracterização da polpa de açaí em três estágios de maturação .....	51
4.2. Extração da polpa de açaí em diferentes condições de maceração .....	57
4.3. Pré-tratamentos.....	64
4.4. Microfiltração .....	66
4.4.1. Desempenho do processo .....	66
4.4.2. Avaliação das frações obtidas.....	69
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES.....	75
6. BIBLIOGRAFIA .....	78

# 1. INTRODUÇÃO

O aumento no consumo de frutas pode ser verificado pelo crescimento de 85,6% na produção mundial de frutas ao longo dos 25 anos analisados pela FAO (2006 apud OLIVEIRA JUNIOR; MANICA, 2006). Em 2004 foram produzidas 675,1 milhões de toneladas de frutas, atingindo 690,8 milhões de toneladas em 2005, um aumento de 4,86% em um ano. Em 2005 a China aparece como o maior produtor mundial com 167,0 milhões de toneladas, seguido pela Índia, com 57,9, e o Brasil ocupa o terceiro lugar com 41,2 milhões de toneladas de frutas (OLIVEIRA JUNIOR; MANICA, 2006).

O crescente interesse dos consumidores por produtos mais saudáveis como frutas e vegetais reflete as evidências de vários estudos científicos que apontam o elevado consumo destes alimentos com efeitos benéficos à saúde como a prevenção de doenças crônicas cuja causa primária está relacionada ao estresse oxidativo, dentre as quais se destacam as doenças neurodegenerativas, câncer e doenças cardiovasculares (VALKO *et al*, 2006; SCANDALIOS, 2005).

Apesar de o consumo *per capita* de sucos de frutas industrializados no Brasil ainda ser pequeno, tem-se observado seu crescimento. A produção de sucos naturais e integrais vem crescendo continuamente, passando de 2,8 milhões de litros em 2002 para 8,6 milhões em 2006 e 13,7 milhões em 2007, com um aumento de 58% no último ano (ARRUDA, 2008). Os sucos adoçados, por sua vez, atingiram um pico de 6,7 milhões de litros em 2005 e este valor foi reduzido para 4,5 milhões em 2007.

Esperancini (2005) aponta que os investimentos do setor em embalagens, nichos específicos (sem adição de açúcar) e na diversificação de sabores (frutas regionais ganhando novos mercados internos), permitiram consolidar o segmento de sucos industrializados para consumidores de renda mais elevada e mais preocupados com a saúde.

O açaí é um fruto amazônico que vem ganhando novos mercados desde a década de 90, devido principalmente ao seu elevado valor nutricional. No entanto, seu consumo não ocorre na forma “in natura”, mas principalmente como polpa, devendo o fruto ser submetido a um processo de extração. As

principais barreiras para a consolidação e ampliação do mercado do açaí decorrem da produção do fruto ser ainda 80% extrativista e pela alta perecibilidade do fruto e da polpa, necessitando ser submetida a um processo de conservação imediatamente após a extração (NOGUEIRA, *et al.*, 2005).

Alguns pesquisadores têm estudado as propriedades físico-químicas da polpa e apontam para um potencial antioxidante apreciável em função de sua rica composição em compostos fenólicos, em especial as antocianinas (POZO-INSFRAN, BRENES & TALCOTT, 2004; PACHECO-PALENCIA, HAWKEN & TALCOTT, 2007).

Sanabria & Sangronis (2007) avaliaram a influência da sazonalidade sobre a composição centesimal, perfil de ácidos graxos e compostos com capacidade antioxidante da polpa de açaí, utilizando, para tanto, frutos coletados nos meses de fevereiro e julho, entretanto não existe estudo sobre as alterações decorrentes da etapa de maturação sobre a composição centesimal e nem sobre os compostos não nutrientes com capacidade antioxidante. O açaí foi sugerido por Bobbio *et al* (2000) como uma boa fonte para a extração de pigmentos antociânicos e, seguindo esta linha de pesquisa, Constant (2003) desenvolveu processos de extração e obtenção das antocianinas do açaí em pó, aplicando, com sucesso, o corante obtido em iogurte, *petit suisse* e isotônico em pó.

Pacheco-palencia, Hawken & Talcott (2007) verificaram perdas das antocianinas e, conseqüentemente, da atividade antioxidante do açaí em função da sua clarificação com terra diatomácea. Ao avaliar a estabilidade do suco clarificado de açaí foi verificado que a temperatura de armazenamento também afetou estes compostos.

Os estudos sobre a composição nutricional e de compostos bioativos do açaí são recentes, escassos e os resultados são divergentes. Contudo, todos apontam o açaí como um fruto rico em polifenóis, especialmente em antocianinas, com um teor relativamente alto, variando de 50 a 180 mg/100g de polpa. Em comparação com o suco de uva, reconhecido como boa fonte destes compostos e que apresenta um teor de 14 a 27 mg/100g (BOBBIO *et al.*, 2000; POZO-INSFRAN, BRENES & TALCOTT, 2004; WU *et al.*, 2006), verifica-se que os teores no açaí são relevantes.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo geral quantificar os compostos fenólicos totais e antocianinas do açaí assim como sua atividade antioxidante, por método *in vitro*, avaliando a influência do processo de obtenção da polpa e do processamento com membrana sobre os parâmetros químicos e físico-químicos. Os objetivos específicos foram:

- Caracterizar quimicamente a polpa de açaí obtida com o fruto em três diferentes estágios de maturação, incluindo a quantificação dos compostos fenólicos totais e antocianinas, bem como sua atividade antioxidante.
- Avaliar a influência da temperatura e do tratamento enzimático na obtenção da polpa de açaí sobre o rendimento do processo, o teor de compostos fenólicos totais e antocianinas bem como sobre a atividade antioxidante.
- Avaliar a influência dos pré-tratamentos, refino e centrifugação, da polpa de açaí sobre o teor de polpa, os sólidos totais, os compostos fenólicos totais e antocianinas além da atividade antioxidante.
- Avaliar a influência da temperatura e do tipo de membrana utilizados durante a microfiltração do suco de açaí, sobre o seu teor de compostos fenólicos totais e antocianinas, sua atividade antioxidante, bem como sobre o fluxo de permeado.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos correspondem a um grupo formado por moléculas muito distintas entre si que estão divididas, em função da estrutura química, em duas classes, flavonóides e não-flavonóides, e estas duas classes dividem-se em várias subclasses em função do padrão de substituição e das estruturas químicas.

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários das plantas sintetizados em resposta a condições de estresse. Podem agir como fitoalexinas, como atrativo para polinização, por contribuírem para a pigmentação do vegetal, como antioxidantes e, similarmente ao sistema imunológico humano, protegendo a planta de raios ultravioleta e de patógenos, dentre outros. Nos alimentos são os principais compostos responsáveis pelas características sensoriais tais como adstringência, amargor e aroma, além da estabilidade oxidativa dos produtos derivados de vegetais. Por muito tempo, esses compostos foram associados negativamente à qualidade de alimentos vegetais pela ação antinutricional como, por exemplo, dos taninos, que complexam proteínas, diminuindo o valor nutricional e em alguns casos inibem a atividade de enzimas como tripsina e lipases (SHAHIDI & NACZK, 1995). No entanto, vários estudos recentes têm demonstrado seus efeitos plurifarmacológicos (bactericida, antiviral, antialérgico, antitrombótico, antiinflamatório, anticarcinogênico, hepatoprotetor, vasodilatador), despertando grande interesse principalmente por sua alta prevalência nas dietas já que são compostos onipresentes nos vegetais (CHEYNIER, 2005; NAZCK & SHAHIDI, 2004; SOBRATTEE *et al.*, 2005).

#### **2.1.1. Caracterização química**

Os compostos fenólicos são derivados metabólicos da fenilalanina e tirosina, produzidos em células vegetais. No entanto, não se apresentam uniformemente

distribuídos no vegetal, ocorrendo variações das classes e subclasses destes compostos, bem como das suas concentrações, em função da localização no vegetal. A fenilalanina amônia-liase (PAL) é a enzima chave na regulação da via metabólica de fenilpropanóides, conforme ilustra a Figura 2.1, convertendo a L-fenilalanina em ácido *trans*-cinâmico e iniciando a biossíntese de fenólicos. Fatores genéticos irão determinar quais classes e subclasses desses compostos serão sintetizadas (NACZK & SHAHIDI, 2004).

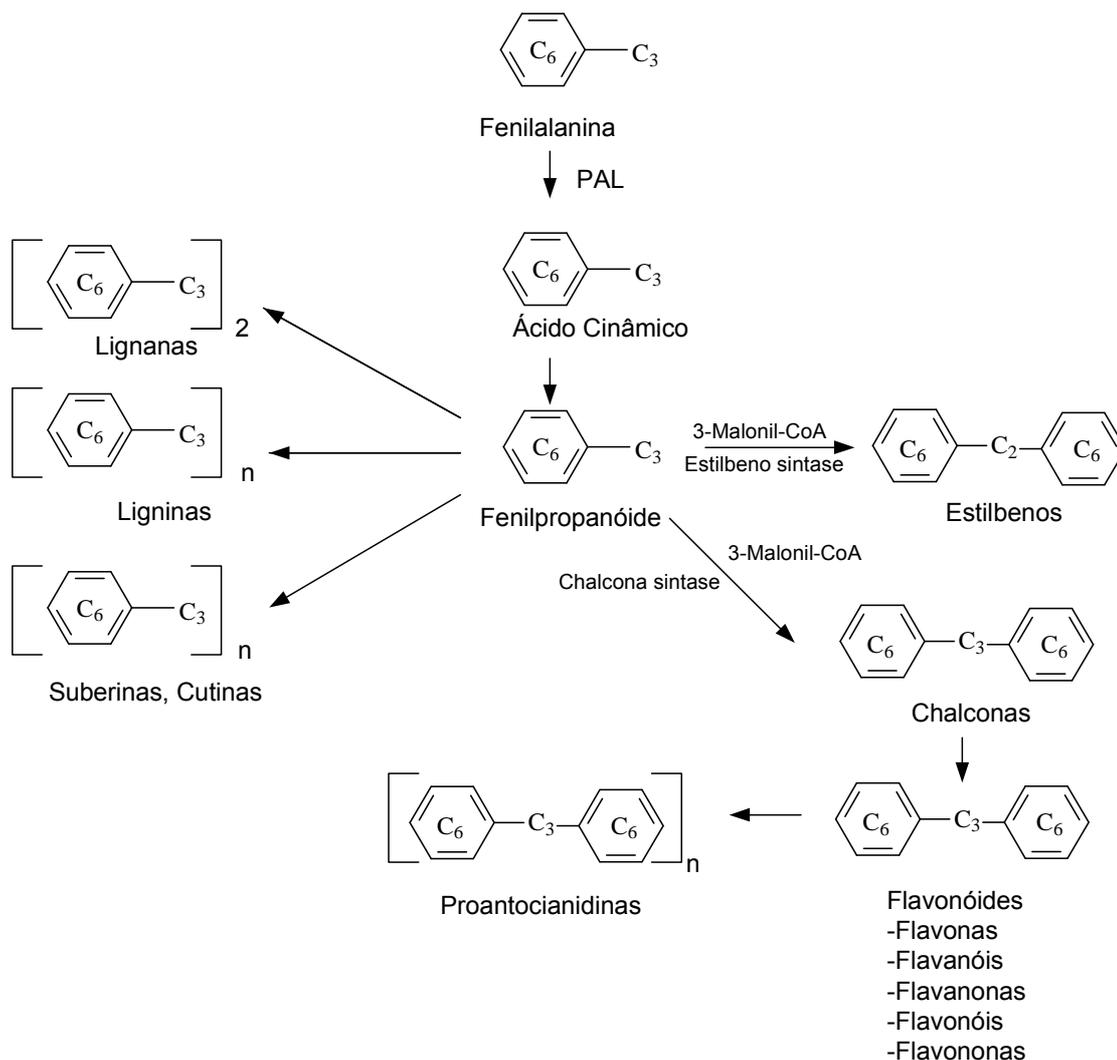


Figura 2.1 – Metabolismo dos compostos fenólicos em plantas

Os teores e o perfil dos compostos fenólicos em plantas podem ainda variar em função da espécie, variedade, estresse ambiental a que foi submetida a planta, estágios de crescimento e maturação, além da metodologia analítica empregada na determinação dos mesmos.

A classe dos não-flavonóides não apresenta uma estrutura básica em comum e, portanto, é uma classe muito heterogênea, conforme ilustra a Figura 2.2, sendo composta por ácidos fenólicos (ácido benzóico, ácido hidróxicinâmico e seus derivados), ligninas, lignanas, suberinas, estilbenos e taninos hidrolisáveis (CHEYNIER, 2005).

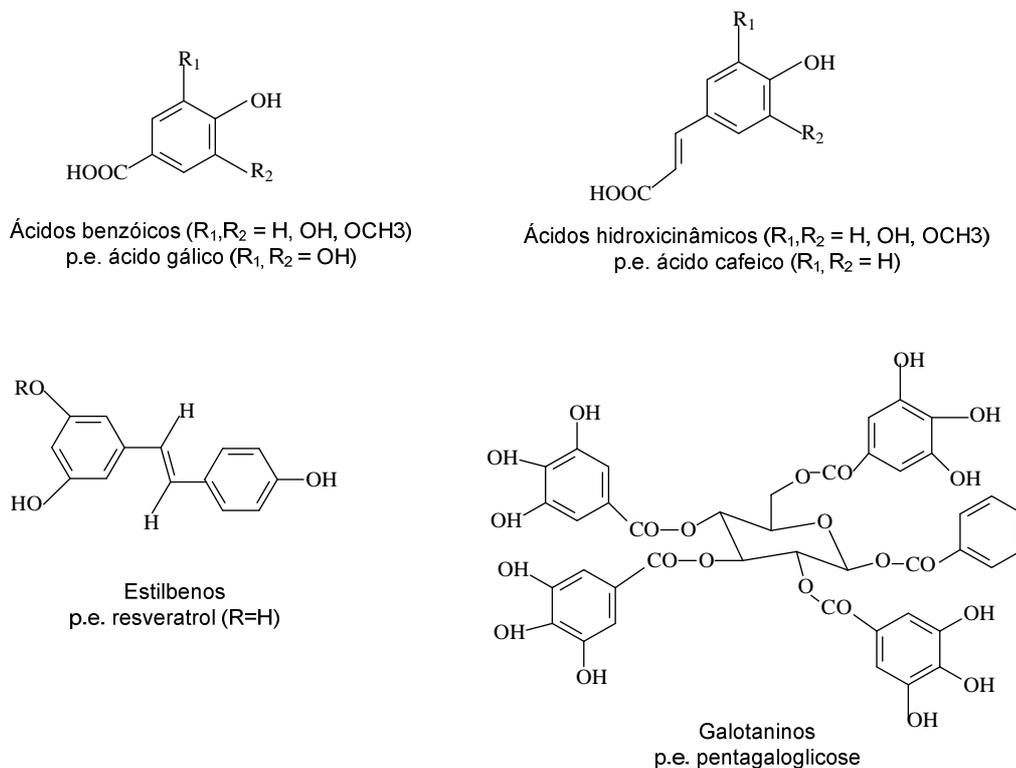
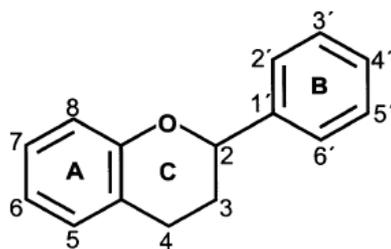


Figura 2.2 – Principais classes de compostos não-flavonóides

Os flavonóides caracterizam-se por apresentar uma estrutura comum composta por dois anéis aromáticos ligados por três carbonos e um átomo de oxigênio formando um heterociclo oxigenado denominado núcleo flavano (Figura 2.3). O grau de oxidação e o padrão de substituição do anel C, heterociclo, definem as classes de flavonóides e dentro destas o padrão de substituição nos anéis A e B determinam os compostos específicos (RHODES, 1996).



Bravo, 1998

Figura 2.3 - Núcleo flavano

As principais classes de flavonóides encontradas em vegetais utilizados como alimentos (Figura 2.4) são as flavonas, flavanóis e antocianinas (RHODES, 1996; SHAHIDI & NACZK, 2004). No açaí, a classe das antocianinas é a de maior interesse devido a sua maior prevalência (POZO-INSFRAN, BRENES & TALCOTT, 2004).

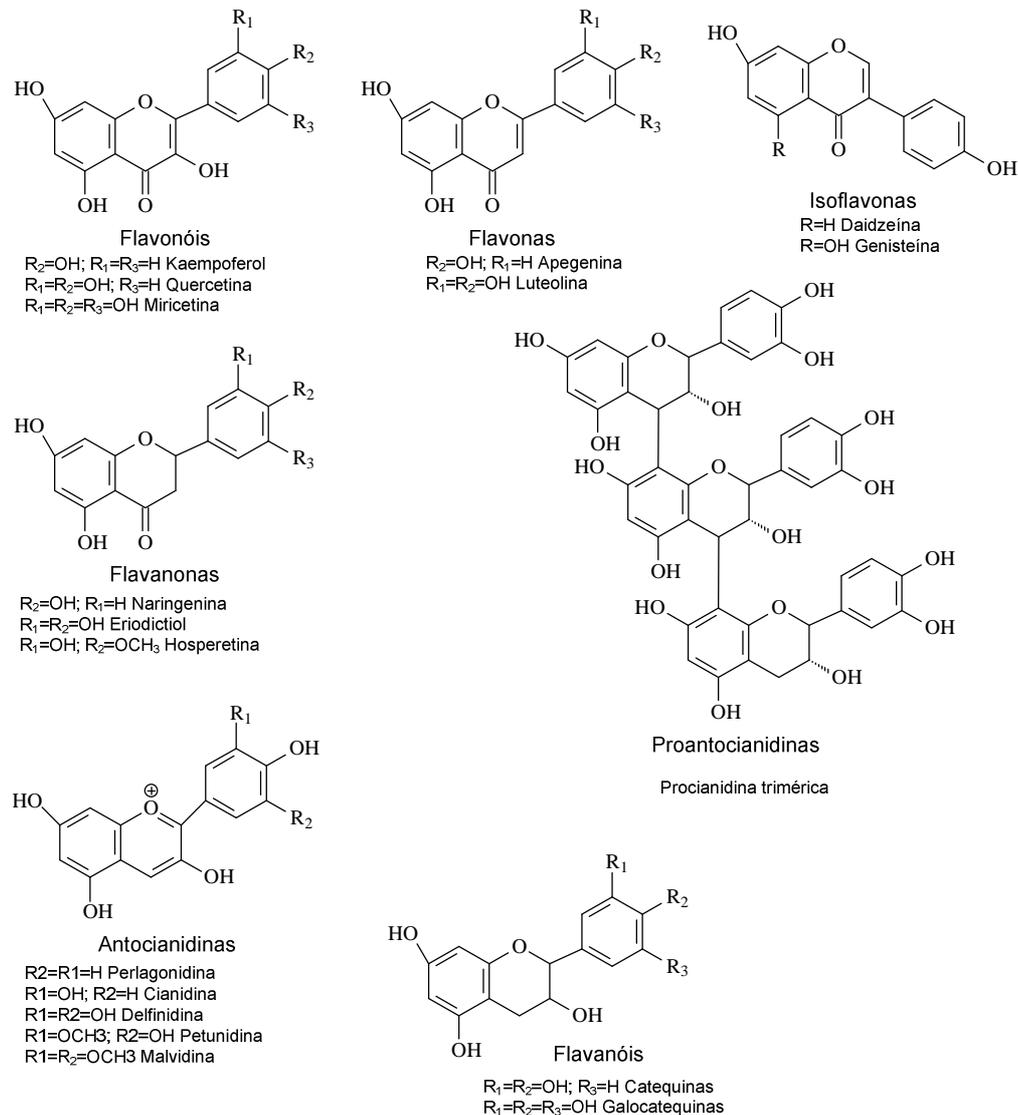


Figura 2.4 – Principais classes de compostos flavonóides

### 2.1.2. Métodos de análise

Apesar do grande interesse por este grupo de compostos, este é recente e, portanto, poucos estudos de identificação e quantificação dos polímeros de

polifenóis têm sido conduzidos (por exemplo, flavanois e proantocianidinas, dentre outros), embora esses compostos sejam majoritários na maioria das plantas. Isto é devido à heterogeneidade dos compostos bem como à falta de técnicas de separação eficientes, que foram desenvolvidas apenas recentemente (NACZK & SHAHIDI, 2004; CHEYNIER, 2005).

As metodologias utilizadas na quantificação destes compostos podem ser divididas em análises espectrofotométricas e análises cromatográficas. As análises espectrofotométricas baseiam-se em diversos princípios e podem ser empregadas para quantificação de vários grupos estruturais. De acordo com Nacz & Shahidi (2004), a análise que emprega o reagente de Folin-Denis foi uma das primeiras a ser utilizada (SINGLETON & ROSSI, 1965) e foi sofrendo modificações ao longo do tempo, utilizando-se, atualmente, o reagente de Folin-Ciocalteu.

A quantificação dos compostos fenólicos totais pela metodologia que emprega o reagente de Folin-Ciocalteu baseia-se na redução dos ácidos fosfotungstíco ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) e fosfomolibdico ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ), presentes no reagente de Folin-Ciocalteu, pelos fenólicos presentes na amostra a óxido de tungstênio ( $W_8O_{23}$ ) e óxido de molibdênio ( $Mo_8O_{23}$ ) em meio alcalino (Figura 2.5). Estes óxidos formados apresentam coloração azulada, sendo possível a quantificação da absorvância da solução na região do visível (760nm). Através de uma curva de calibração de ácido gálico é possível correlacionar a intensidade da cor à concentração de fenóis presentes na amostra, sendo o resultado expresso em equivalente de ácido gálico (GAE).



Figura 2.5 - Reação de quantificação de fenólicos totais por reagente de Folin-Ciocalteu

No entanto, o reagente de Folin-Ciocalteu não é específico para grupos fenólicos sofrendo interferências de outras substâncias redutoras presentes na amostra, tais como ácido ascórbico e açúcares redutores, superestimando os valores. Em função destes interferentes, Georgé *et al.* (2005) propuseram uma

modificação na metodologia de Singleton & Rossi (1965) inserindo uma etapa de extração em fase sólida (*SPE*) em coluna, capaz de reter os compostos fenólicos. Por esta metodologia é possível quantificar os fenólicos totais assim como o ácido ascórbico e eliminar outros interferentes.

De acordo com Goldstein (1963, apud NACZK & SHAHIDI, 2004), o método da vanilina é específico para flavan-3-óis, dihidrochalconas e proantocianidinas. Este método baseia-se na formação do radical vanilina em meio ácido, que se liga aos compostos acima citados pelos carbonos 6 ou 8 do anel A, formando um cromóforo vermelho capaz de absorver luz a 500nm. Apesar de não ser específico, o método da vanilina em metanol é mais sensível às proantocianidinas do que aos flavan-3-óis e, portanto, muito utilizado para detecção e quantificação dos taninos condensados. Segundo Naczk & Shahidi (2004) existem outros métodos espectrofotométricos para a quantificação das proantocianidinas, como o método DCMA (4-dimetilamino cinamaldeído) e o da hidrólise ácida em butanol, o qual converte os taninos em antocianidinas que absorvem luz no visível. Existem ainda métodos específicos para taninos hidrolisáveis, antocianinas (FULEKI & FRANCIS 1968a e, 1968b; GIUSTI & WROSLTAD, 2000), de complexação dos fenólicos com Al (III), dentre outros (NACZK & SHAHIDI, 2004).

As separações cromatográficas em gel, papel e camada delgada, têm sido bastante utilizadas (SHAHIDI & NAZCK, 1995), porém, atualmente, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é a técnica mais utilizada para a identificação e quantificação de compostos fenólicos bem como para avaliação das interações entre os fenólicos com outros componentes da matriz (NAZCK & SHAHIDI, 2004). Estas técnicas têm sido modificadas quer seja na etapa de preparo da amostra ou extração dos compostos, quer seja na fase móvel e ou estacionária, para uma melhor separação dos compostos. A identificação propriamente dita é dificultada devido à grande variabilidade de compostos fenólicos possíveis na natureza, sendo realizada com segurança por espectrometria de massas acoplada à cromatografia líquida (CLAE-MS) (NACZK & SHAHIDI, 2004).

## 2.2. Antocianinas

As antocianinas são flavonóides, ou seja, possuem o núcleo flavano como estrutura básica e caracterizam-se por serem compostos hidrossolúveis responsáveis pela coloração vermelha, azul, violeta e rosa de frutas, hortaliças e flores. Sua biossíntese e acúmulo dependem de alguns fatores como luz, temperatura, condição nutricional, hormônios, danos mecânicos e ataque de patógenos. A luz é o fator externo mais importante na biossíntese por fotoativar indiretamente as enzimas envolvidas através do sistema fitocromo. Fatores genéticos definem as substituições nos carbonos 3 e 5 do anel B as quais definem as agliconas, ou antocianidinas, sendo seis as de principal interesse em alimentos (Figura 2.6). As substituições no anel B contribuem para a variação de cor, porém o pH, concentração na solução e a presença de co-pigmentos são também fatores importantes (MAZZA & BROUILLARD, 1990; GRISEBACH, 1995; WROLSTAD *et al.*, 2005)

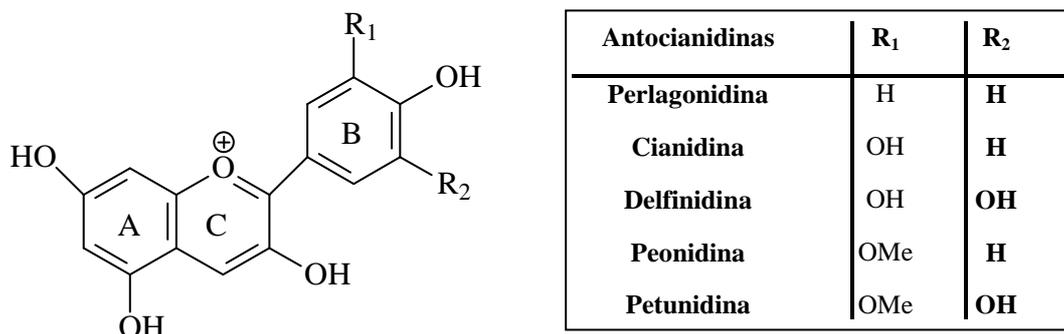


Figura 2.6 - Principais antocianidinas em alimentos

As antocianinas se apresentam no vegetal predominantemente na forma de mono ou di-glicosídeos, e muito pouco na forma de agliconas, com as glicosilações ocorrendo mais freqüentemente nos carbonos 3 e 5, podendo porém também ocorrer, ainda que raramente, como triglicosídeos nas posições 7, 3, 4 e/ou 5. Os açúcares mais encontrados são mono e dissacarídeos como glicose, ramnose, galactose, xilose e arabinose. As antocianinas podem ainda sofrer acilações nas moléculas do açúcar, em muitos casos por ácidos tais como *p*-cumárico, cafeico, ferrúlico ou sinápico, e com menor freqüência pelos ácidos *p*-hidroxibenzóico, malônico ou acético. Geralmente, os ácidos se ligam

ao carbono 3 da molécula do açúcar, sendo que, em alguns pigmentos, essa ligação ocorre no grupamento 6-hidroxil e muito raramente no 4-hidroxil (SHAHIDI & NACZK, 1995, FRANCIS, 1982, FRANCIS, 1993).

De acordo com Francis (1989) e Wrolstad *et al.* (2005), a estabilidade das antocianinas é afetada pela sua estrutura química e concentração, luz, enzimas endógenas ou adicionadas, temperatura, pH, co-pigmentos e relação molar destes com as antocianinas, oxigênio, ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e seus produtos de degradação, proteínas e dióxido de enxofre.

A ação das enzimas endógenas (polifenoxidase e peroxidase) é um dos principais fatores de degradação dos compostos fenólicos, especialmente as antocianinas. Por serem termorresistentes, a inativação térmica destas enzimas em produtos derivados de vegetais fica dificultada, sendo alternativamente inibidas por adição de compostos que se ligam à parte protéica da enzima, que complexam o grupo heme ou que neutralizam o cofator. O dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) e os sulfitos, assim como o ácido ascórbico, são largamente utilizados na indústria com esta finalidade. No entanto, esses compostos favorecem a degradação das antocianinas por mecanismos não enzimáticos (RODRIGUEZ-SAONA *et al.*, 1999; ROGEZ, 2000; MALIEN-AUBERT *et al.*, 2001)

Fatores estruturais da molécula são também responsáveis pela estabilidade das antocianinas, da cor e, por conseqüência, da atividade biológica, tais como o grau de substituição do anel B, ou seja, R1 e R3, a natureza e número de açúcares ligados à molécula e, ainda, a estrutura e número de grupamentos acil bem como a posição da ligação destes na molécula de açúcar. Moléculas diaciladas apresentam maior estabilidade, uma vez que os radicais acil podem proteger o núcleo flavano através do rearranjo espacial das moléculas. A presença de resíduo aromático no grupamento acil promove uma interação hidrofóbica com o núcleo flavílio protegendo-o do ataque nucleofílico da água, diminuindo a hidratação e prevenindo a formação de chalcona (MALIEN-AUBERT *et al.*, 2001; WROLSTAD *et al.*, 2005)

As acilações favorecem as co-pigmentações tornando-as mais eficientes já que propiciam a ligação covalente entre pigmento e co-pigmento. As co-pigmentações são interações entre as antocianinas e outros compostos que

podem ser flavonóides, alcalóides, aminoácidos, ácidos orgânicos, nucleotídeos, polissacarídeos ou metais, sendo nestes casos denominada de co-pigmentação intermolecular. Quando o co-pigmento é outra molécula de antocianina, denomina-se de co-pigmentação intramolecular ou auto-associação. A copigmentação é um fenômeno de ocorrência natural ao qual se atribui o principal mecanismo de estabilidade das antocianinas nos vegetais, ocorrendo preferencialmente sob condições ácidas. Essas associações químicas fracas podem aumentar a estabilidade das antocianinas e ampliar as suas propriedades antioxidantes (MAZZA & BROUILLARD, 1990; RODRIGUEZ-SAONA *et al.*, 1999; REYES & CÍSNEROS-ZEVALOOS, 2007).

Os estudos mais recentes apontam para a identificação de possíveis interações que seriam responsáveis pela estabilidade das antocianinas (POZO-INSFRAN, BRENES & TALCOTT, 2004; PACHECO-PALENCIA, HAWKEN & TALCOTT, 2007) e, por conseqüência, favoreceriam o poder antioxidante responsável pela grande maioria das atividades biológicas (antimutagênica, anticarcinogênica, efeito protetor gástrico) desta classe de compostos. (GALVANO *et al.*, 2004).

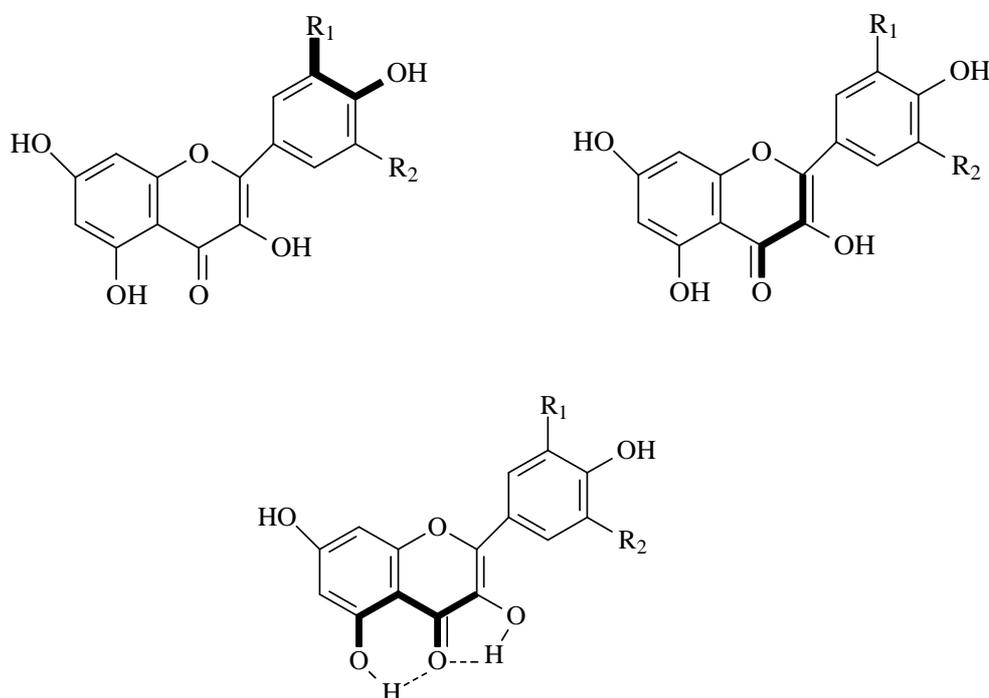


Figura 2.7 - Grupos estruturais que contribuem para a atividade antioxidante das antocianinas.

O poder antioxidante das antocianinas se deve à deficiência de elétrons do núcleo flavílio e à presença de hidroxilas livres assim como de outras estruturas químicas na molécula (Figura 2.7), podendo ocorrer variações quanto à intensidade da atividade antioxidante em função da antocianina, acilações e co-pigmentações. (SOOBRAATTE *et al.*, 2005; WADA *et al.*, 2007)

As análises quantitativas das antocianinas podem ser divididas em análises espectrofotométricas e cromatográficas. As análises espectrofotométricas baseiam-se no comportamento espectral desta classe de flavonóides em função do pH, sendo a primeira metodologia proposta por Sondheimer *et al.* (1948 apud FULEKI & FRANCIS, 1968b), com leituras de absorvância do extrato em dois valores de pH (2.0 e 3.4) e uso de solução vermelho de Congo como padrão.

A metodologia proposta por Fuleki & Francis (1968a) para a quantificação das antocianinas totais emprega uma extração prévia de 12 horas sob refrigeração em etanol acidificado e filtração em funil de buchner para obtenção de um extrato isento de sólidos em suspensão. O extrato obtido tem sua absorvância lida em espectrofotômetro em comprimento de onda de máxima absorvância ( $\lambda_{m\acute{a}x}$ ) em pH único, sendo utilizado o coeficiente de extinção molar ( $\epsilon$ ) da antocianina majoritária para o cálculo das antocianinas totais. No entanto, esta metodologia promove uma superestimação dos teores de antocianinas totais, por empregar leitura da absorvância em um único comprimento de onda, o de máxima absorvância para as antocianinas, quantificando desta forma compostos de degradação que também absorvem luz nesta região.

Outra metodologia utilizada na quantificação é a de pH diferencial, proposta inicialmente por Fuleki & Francis (1968b) e modificada por Giusti & Wrolstad (2001). Esta metodologia permite a quantificação das antocianinas totais e monoméricas em função do comportamento espectral diferenciado das monoméricas em relação às poliméricas em condições de pH distintas. Em função dos comprimentos de onda empregados é possível eliminar a interferência de compostos de degradação. A amostra é submetida a dois tampões aquosos distintos, pH 1,0 e 4,5, e as soluções obtidas têm a absorvância medida em dois comprimentos de onda, 700nm e comprimento de

máxima absorção ( $\lambda_{\text{máx}}$ ), que pode variar de 510 a 550nm em função das antocianinas presentes na amostra (HARBONE, 1958 apud FULEKI & FRANCIS, 1968a). As antocianinas têm sua cor intensificada em pH 1,0 e não são capazes de absorver a 700nm, onde somente os compostos de degradação, interferentes, absorvem. Portanto, a diferença entre a leitura obtida no  $\lambda_{\text{máx}}$  e a 700nm da solução de pH 1,0 indicam a concentração das antocianinas totais. No entanto, em pH 4,5, somente as antocianinas monoméricas assumem a forma hemiquetal (Figura 2.8), a qual é incolor, e a diferença entre as leituras nos dois comprimentos de onda a pH 1,0 é subtraída da diferença entre as leituras nos dois comprimentos de onda a pH 4,5, correspondendo às antocianinas monoméricas.

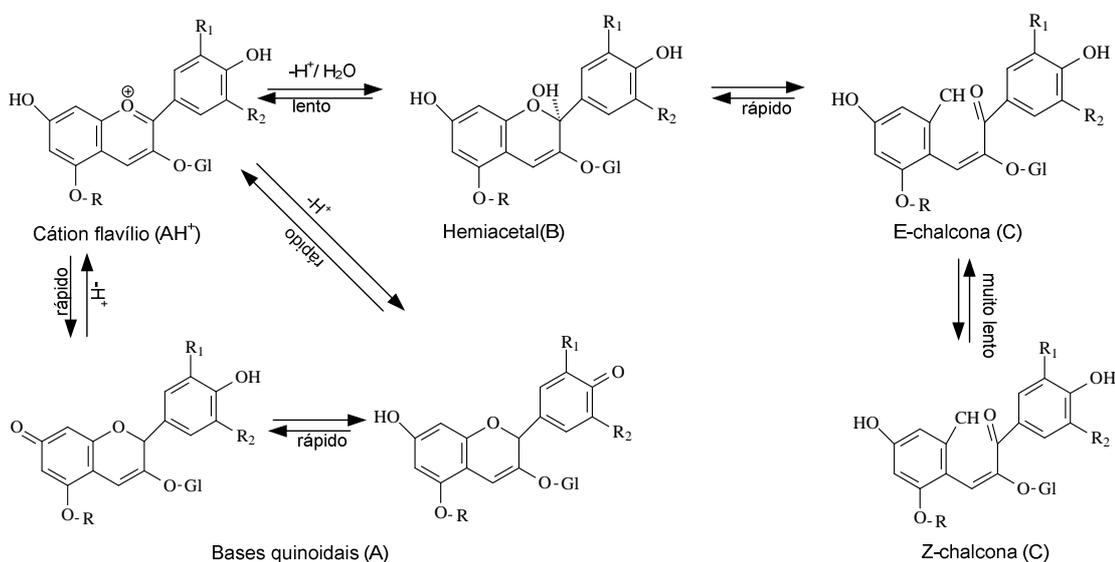


Figura 2.8 – Comportamento das antocianinas em função do pH.

As análises de identificação de antocianinas específicas foram introduzidas na década de 50 e desde então vêm sendo modificadas. As primeiras análises qualitativas foram realizadas em cromatografia em papel e constavam dos seguintes procedimentos: extração (metanol ou etanol acidificado); concentração (vácuo, 30°C); purificação (em papel Whatman nº3); determinação da algicona (hidrólise ácida e padrão); determinação dos açúcares (cromatografia em papel e padrões); determinação da posição do açúcar (comportamento espectral  $A_{440}/A_{\text{máx}}$ ); determinação de grupamentos acil

(comportamento espectral de compostos aromáticos, pico extra na região 310 – 320nm; e identificação por cromatografia em papel e padrões). Vários estudos foram realizados com diferentes solventes e antocianinas, os quais geraram valores de  $R_f$  (coeficiente de retenção), principal dado para identificação das mesmas. Atualmente, a cromatografia líquida de alta eficiência juntamente com a espectrometria de massa têm sido utilizadas para a identificação, quantificação e a avaliação das interações das antocianinas com outros compostos da matriz (FRANCIS, 1982)

### **2.3. Atividade antioxidante**

Seguindo a tendência de maior preocupação com a saúde e foco na prevenção de doenças, tem-se observado um aumento no consumo de frutas em todo o mundo, pois várias evidências científicas apontam efeitos benéficos à saúde de dietas ricas em frutas, hortaliças e vegetais, que apresentam em sua composição vários compostos com capacidade antioxidante, como vitaminas A e C, carotenóides e compostos fenólicos. Muitos autores têm demonstrado correlação entre a concentração destes compostos e a capacidade antioxidante (MANACH *et al.*, 2004; ALVES, *et al.*, 2007; ZULETA *et al.*, 2007).

A atividade antioxidante de alguns compostos presentes nos alimentos tem despertado interesse pelo seu potencial efeito na prevenção do estresse oxidativo, causa primária de muitas doenças crônicas por provocar danos celulares que, por sua vez, podem promover disfunções fisiológicas e morte celular. O estresse oxidativo é resultado do desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS) e o sistema de defesa antioxidante presente no organismo. As espécies reativas de oxigênio e nitrogênio podem ser geradas durante a irradiação por raios ultravioleta, raios X e raios gama, como produtos de reações catalisadas por metais que podem estar na atmosfera como poluentes. Podem ser também geradas no organismo, por neutrófilos e macrófagos durante processo inflamatório; por exposição a herbicidas, xenobióticos e toxinas e principalmente durante o metabolismo aeróbico, na mitocôndria (cadeia transportadora de elétrons).

Antioxidantes enzimáticos como superóxido desmutase, catalase e glutathione peroxidase, juntamente com antioxidantes não enzimáticos, como as vitaminas C e E, carotenóides, flavonóides e antioxidantes tióis, formam o sistema de defesa antioxidante (VALKO *et al.*, 2006; SCANDALIOS, 2005).

As definições de antioxidantes diferem em função da natureza dos compostos a serem protegidos. Para Chipault (1962 apud BECKER, NISSEN & SHIBSTED, 2004), antioxidantes em alimentos são “substâncias que em pequenas quantidades são capazes de prevenir ou retardar a oxidação de materiais facilmente oxidáveis como as gorduras”. Porém no âmbito bioquímico-médico citado por Huang, Ou & Prior (2005), “antioxidantes são enzimas ou compostos orgânicos, como a vitamina E ou  $\beta$ -caroteno, que são capazes de contrariar os efeitos danosos da oxidação em tecidos animais”.

Os compostos fenólicos têm despertado grande interesse devido ao seu alto teor nos vegetais e elevado poder antioxidante, capaz de remover radicais livres, quelar íons metálicos com atividade redox, modular a expressão gênica e interagir com mecanismos de sinalização celular; sendo atribuída grande parte de sua bioatividade a estas características. Porém os mecanismos de absorção e metabolismo e teores presentes na dieta podem afetar a eficiência da ação antioxidante e estes aspectos não estão totalmente esclarecidos (RHODES, 1996; SOOBRAATTEE *et al.*, 2005).

Devido ao grande interesse na quantificação da capacidade antioxidante de diversos compostos, várias metodologias *in vitro* foram propostas, com diferenças no grau de complexidade, sensibilidade, mecanismos e espécies reativas envolvidas. Além disso, ainda não há consenso quanto à validade e relevância destes métodos em sistemas biológicos (ARNAO, 2000; LICHTENTHÄLER, MARX & KIND, 2003; HUANG, OU & PRIOR, 2005).

Os métodos químicos para determinação da atividade antioxidante estão divididos quanto à natureza da reação envolvida em dois grupos principais, os que envolvem transferência de elétrons e os que envolvem transferência de átomos de hidrogênio.

Dentre os métodos baseados na transferência de átomos de hidrogênio, tem-se o ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*), o TRAP (*total radical trapping antioxidant parameter*); o IOU (*inibited oxygen uptake*); e a inibição da

oxidação do ácido linoléico e da lipoproteína de baixa densidade, LDL. A maioria destas metodologias baseia-se na reação competitiva entre o antioxidante e o substrato para formação do radical por decomposição de compostos azo, permitindo o acompanhamento da reação por ultravioleta ou por fluorescência (ORAC) (ARNAO, 2000; BECKER, NISSEN & SHIBSTED, 2004; HUANG, OU & PRIOR, 2005).

A metodologia de quantificação de fenólicos totais pelo reagente de Folin-Ciocalteu, descrita no item 2.1.2, também é utilizada para quantificar a atividade antioxidante e seu mecanismo de ação envolve a transferência de elétrons, assim como no caso do ABTS expresso em TEAC (*Trolox® equivalence antioxidant capacity*), FRAP (*ferric ion reducing antioxidant parameter*); DPPH (*diphenil-1-picrylhydrazyl*) e capacidade de redução do cobre II. As metodologias que envolvem a transferência de elétrons baseiam-se na redução do substrato por ação dos componentes antioxidantes presentes na amostra, que apresentam comportamento espectral distinto no estado oxidado e reduzido (ARNAO, 2000; BECKER, NISSEN & SHIBSTED, 2004; HUANG, OU & PRIOR, 2005).

A metodologia de ABTS, cujo resultado é expresso em TEAC, proposta por RE *et al.* (1999), utiliza o ABTS [ácido 2,2' azinobis-3-(etilbenzotiazolina-6sulfônico)] como substrato e emprega o persulfato de potássio para formar quimicamente o radical ABTS<sup>•+</sup>. Em função do material a ser analisado, este radical pode ter como meio de extinção uma solução tampão fosfato pH 7,4 ou álcool etílico 95%. Esta metodologia baseia-se no comportamento espectral do ABTS, que absorve luz na região do visível (734nm) somente na forma radicalar (ABTS<sup>•+</sup>). Portanto, a presença de substâncias com atividade antioxidante na amostra irá regenerar o ABTS<sup>•+</sup> (Figura 2.8), promovendo uma descoloração da solução cuja intensidade será correlacionada à mesma intensidade ocasionada pelo padrão analítico Trolox® (ácido 6-hidróxi-2-5-7-8-tetrametilcromo2-carboxílico), um análogo hidrossolúvel da vitamina E (BECKER, NISSEN & SKIBETED, 2004). A atividade antioxidante da amostra é dada em µM equivalente de Trolox em 1g ou 100g de amostra, originando o nome TEAC, capacidade antioxidante equivalente ao Trolox.

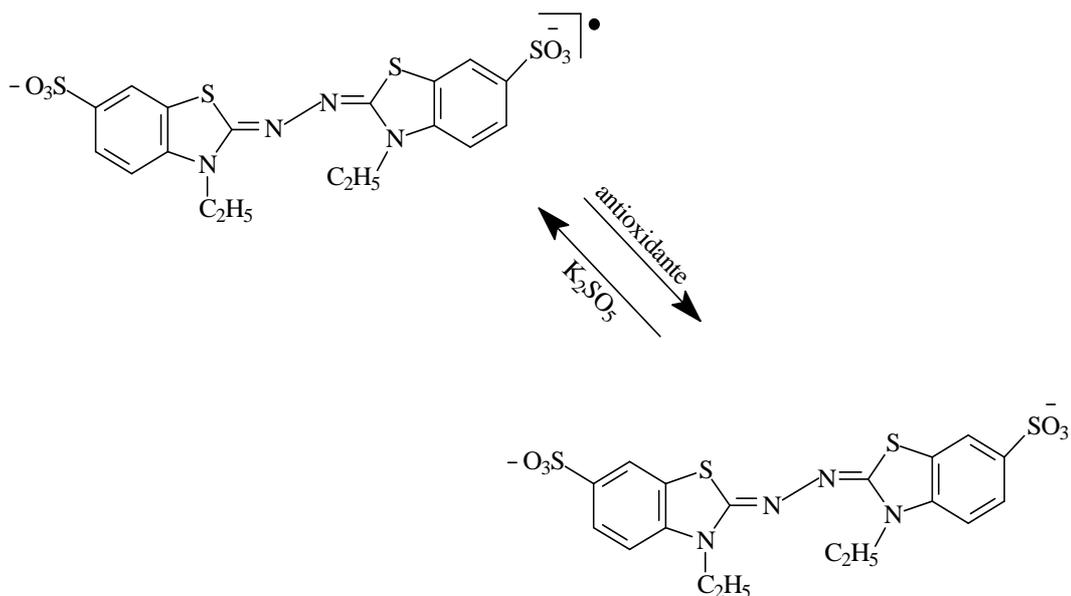


Figura 2.9 – Comportamento espectral do ABTS

A avaliação de atividade antioxidante baseada em metodologias *in vitro* deve ser feita com cautela uma vez que as mesmas não consideram fatores como biodisponibilidade, estabilidade do composto *in vivo*, retenção dos antioxidantes pelos tecidos e reatividade *in situ* (HUNAG, OU & PRIOR, 2005).

A atividade antioxidante medida *in vitro* sugere bioatividade, porém não a determina. No entanto, a identificação de fatores que influenciam a atividade antioxidante é de grande interesse e vem recebendo muita atenção. Para os compostos fenólicos, alguns estudos apontam para uma relação entre a atividade antioxidante, e sua intensidade, com a estrutura química desses compostos. O número e a configuração de grupamentos hidroxil doadores de hidrogênio, assim como as duplas conjugadas, parecem ser os principais fatores estruturais a influenciar a atividade antioxidante (WADA *et al.*, 2007; SOOB RATTEE *et al.*, 2005; TYRAKOWSKA, *et al.* 1999).

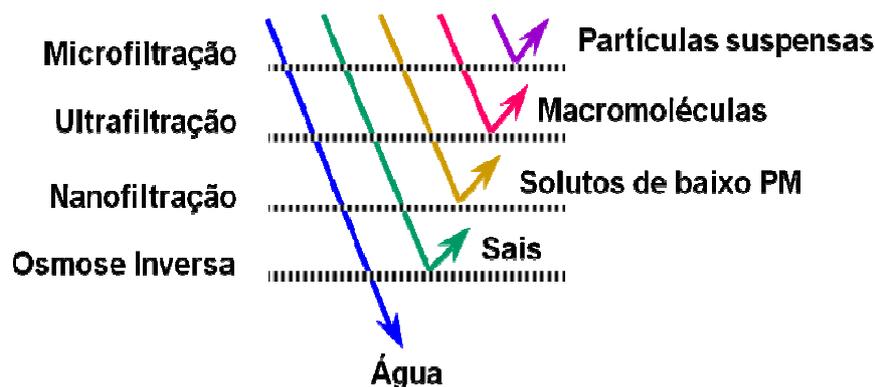
## 2.4. Processos de separação por membranas

Os processos de separação por membranas aplicados industrialmente são recentes, apesar de o primeiro estudo relatando fenômenos envolvendo membranas ser de 1748 com NOELLET, que emergiu em água pura um copo contendo destilado de vinho e vedado com uma bexiga de origem animal, que

após certo tempo estufou e, em alguns casos, rompeu-se, evidenciando, com esta experiência, a permeabilidade e a seletividade da membrana. Porém os fundamentos teóricos destes processos só foram elucidados recentemente (CHERYAN, 1998; HABERT, BORGES & NÓBREGA, 2006).

Os processos de separação por membrana baseiam-se na permeabilidade seletiva de alguns compostos do material através do meio filtrante, por meio de uma força motriz. A composição da membrana e o tipo de força motriz utilizado definem os diferentes processos: microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração, diálise, osmose inversa, evaporação osmótica, pervaporação, permeação de gases (PORTER, 1990).

Os processos de micro, ultra e nanofiltração utilizam membranas porosas cuja seletividade é caracterizada pela diferença de tamanho entre as moléculas da solução e os poros da membrana; promovendo, então, um fluxo convectivo com escoamento do permeado por entre os poros. A osmose inversa utiliza membrana densa, porém assim como nos processos citados acima utiliza a diferença de pressão como força motriz. Estes processos diferem entre si pelo tamanho dos poros, que diminuem da microfiltração para a nanofiltração (0,6  $\mu\text{m}$  a 100 Da) e quase inexistem nas membranas densas, aumentando a resistência à permeação e, conseqüentemente, a diferença de pressão aplicada (Figura 2.10).



bral, L. M. C

Figura 2.10 – Processos de separação por membranas em função do tamanho dos poros

Na diálise, as membranas podem ser porosas ou densas, porém a força motriz aplicada é a diferença de concentração, resultando em um fluxo difusivo. Tanto a osmose inversa quanto a pervaporação utilizam membranas densas,

diferindo entre si pela força motriz, que são, respectivamente, a diferença de pressão e a diferença de concentração (CHERYAN, 1998; HABERT, BORGES & NÓBREGA; 2006).

Os processos de separação por membranas geralmente ocorrem à temperatura ambiente, trazendo como vantagens o baixo custo energético, a preservação de compostos termo sensíveis, a seletividade do meio filtrante e o fácil escalonamento, por se tratar de sistemas modulares. Contudo, o custo de reposição da membrana, a diminuição do fluxo ao longo do processo e a limpeza dos sistemas são algumas das desvantagens. Mesmo utilizando o fluxo tangencial (Figura 2.11), verifica-se a diminuição do fluxo de permeado ao longo do processo, conseqüência do fenômeno conhecido como *fouling*, que se caracteriza pelo aumento da resistência à passagem do solvente pela membrana, que pode ser resultante tanto da diminuição da porosidade (entupimento, adsorção) quanto da polarização de concentração e formação de camada gel na superfície da membrana.

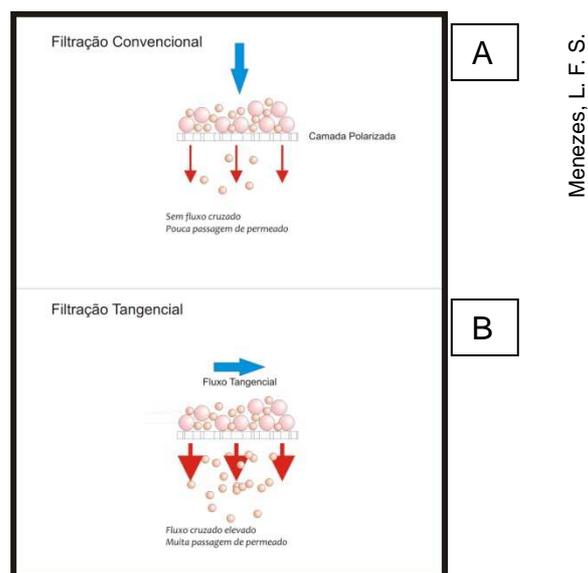


Figura 2.11 - Esquemas de filtração em profundidade (a) e filtração tangencial (b)

A principal desvantagem da aplicação dos processos de separação por membranas em polpas de frutas é a diminuição do fluxo de permeado em função da polarização de concentração e formação da camada gel, que ocorrem, principalmente, em processos com membranas porosas (microfiltração, ultrafiltração e nanofiltração). No entanto, estes fatores podem ser minimizados através de pré-tratamentos que promovam uma diminuição

dos sólidos em suspensão presentes na polpa como a centrifugação, tratamento enzimático ou refino, ou ainda através de alterações das condições de processamento (MATTA, CABRAL & MORETTI, 2000; VAILLANT *et al.*, 2001).

Ushikubo, Watanabe & Viotto (2006) microfiltraram a polpa de umbu diluída (1:2 em água) a 35°C, em sistema polimérico (tamanho de poro de 0,2 µm) e avaliaram a influência da pressão transmembrana, do pré-tratamento com enzima e da velocidade tangencial sobre o fluxo de permeado. A velocidade tangencial foi a principal variável responsável pelo aumento do fluxo de permeado, no entanto o tratamento enzimático também indicou um efeito positivo, sendo também observado o sinergismo entre as variáveis.

Matta, Moretti & Cabral (2004), através da combinação dos processos de microfiltração e osmose inversa, obtiveram um suco de acerola clarificado e concentrado com 29,2°Brix, obtendo o mesmo fator de concentração de 4,2, em sólidos solúveis e em vitamina C. O suco clarificado obtido foi preparado para consumo por diluição e adição de açúcar e avaliado sensorialmente através do teste de aceitabilidade, sendo aceito por 84% dos consumidores.

A obtenção de suco de abacaxi clarificado e esterilizado a frio foi estudada por Carneiro *et al.* (2002), utilizando sistema de microfiltração com membrana polimérica de polietersulfona com poros de 0,3 µm, e tratamento enzimático. As condições avaliadas permitiram atingir a esterilização comercial aliada a um elevado fluxo de permeado, estabilizado na faixa de 100 L/hm<sup>2</sup>.

A fração retida nos processos de microfiltração e ultrafiltração é tão rica em macro e microelementos quanto os sucos originais, fazendo com que muitos trabalhos sugiram a reintrodução da fração retida na linha de produção ou o seu uso para a obtenção de novos produtos, que poderiam contribuir para a viabilidade econômica da microfiltração na produção de sucos clarificados, por maximizar o aproveitamento do fruto (SILVA, JARDINE & MATTA, 1998; VAILLANT *et al.*, 2001; CASSANO *et al.*, 2003). Seguindo esta tendência, Penha *et al.* (2001) utilizaram o retido da ultrafiltração de suco de acerola para obtenção de licor.

Fontes & Caminoto (2007) realizaram a microfiltração de açaí em dois sistemas de membrana cerâmica de  $\alpha$ -alumina, com poros de 0,6 e 0,2 µm e

utilizaram a diluição da polpa e o refino como pré-tratamentos, obtendo fluxos de permeado de aproximadamente 9 L/hm<sup>2</sup>. Palacio *et al.* (2007), por sua vez, utilizando a centrifugação como pré-tratamento, atingiu fluxos médios de permeado de 100 L/hm<sup>2</sup> com fator de concentração volumétrico igual a 2, na microfiltração de açaí em membrana cerâmica com 0,1 µm de tamanho de poros.

O crescente interesse por compostos bioativos e produtos funcionais também tem sido observado nas pesquisas com membranas. Patil *et al.* (2007) avaliaram os processos de ultrafiltração, osmose inversa e destilação osmótica e suas combinações, para a obtenção de um concentrado de antocianinas da casca de rabanete, sendo a combinação dos três processos o mais atrativo quando comparado com os processos isolados. O extrato inicial foi concentrado 25 vezes (1 a 26°Brix) sendo o mesmo fator de concentração atingido com as antocianinas cuja concentração passou de 40 mg/100 mL para 980 mg/100 mL.

A concentração de sucos por membranas ocorre, geralmente, à temperatura ambiente, mantendo as características sensoriais do suco fresco, sem o sabor de produto cozido. Koroknai *et al.* (2008) empregaram a ultrafiltração e a osmose inversa para obter sucos de frutas vermelhas clarificados e concentrados. Os sucos ultrafiltrados mantiveram 97% da atividade antioxidante dos sucos frescos, no entanto a concentração em sólidos solúveis não foi mantida na mesma razão para a atividade antioxidante.

O uso de tecnologias de processamento mais amenas, como os processos de separação por membranas, pode ser uma alternativa com grande potencial para se atingir uma maior estabilidade dos compostos fenólicos que são facilmente degradados, por oxigênio, pH, temperatura, ácido ascórbico e principalmente por enzimas endógenas, polifenoloxidase e peroxidase (PACHECO-PALENCIA, HAWKEN & TALCOTT, 2007; NAZCK & SHAHIDI, 2004, SKREEDE, WROSLTAD & DURST, 2000). As enzimas polifenoloxidase e peroxidase são termorresistentes o que dificulta a inativação térmica das mesmas sem perdas sensoriais significativas para o produto processado, no entanto, Magalhães *et al.* (2004), verificaram a eficácia da microfiltração e da ultrafiltração para estabilização da água de coco. As técnicas de separação por

membranas empregadas pelos referidos autores reduziram de 61 a 77% a atividade da polifenoloxidase e em 100% a atividade de peroxidase na fração permeada da água de coco.

## 2.5. Açaí

Açaí é o nome dado tanto ao fruto do açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart) como à bebida oriunda da extração deste fruto. O açaizeiro (Figura 2.12) é uma palmeira nativa da região Amazônica, sendo o estado do Pará seu principal centro de dispersão natural. As maiores e mais densas populações espontâneas ocorrem no estuário do rio Amazonas, devido às condições elevadas de temperatura, chuva e umidade relativa do ar. Os frutos são globulosos e apresentam-se em cachos (ROGEZ, 2000), porém seu consumo não ocorre na forma *in natura*, necessitando ser processado.

A partir da década de 1990 o aumento da mídia internacional para a necessidade de preservação da Floresta Amazônica fez despertar o interesse pelos produtos regionais não-madeireiros. Como consequência, observou-se, talvez, a maior transformação da fruticultura da Amazônia que, impulsionada pela criação da fábrica de beneficiamento de polpa de fruta em Tomé-Açu, em 1991, teve frutas como cupuaçu, bacuri, pupunha e açaí, conhecidas até então apenas pela população local, conquistando novos mercados, nacionais e internacionais (ROGEZ, 2000; HOMMA & FRAZÃO, 2002; NOGUEIRA *et al.*, 2005).



Fotos : Matta, V. M

Figura 2.12 - Açazeiro (a) e fruto do açai (b)

O açai parece ter sido bem aceito pelos novos mercados, e apesar da escassez e divergências de dados, algumas publicações apontam um aumento de 130% na coleta dos frutos entre 1994 a 2001. Nogueira *et al.* (2005) apontam a preservação dos açazais como um ganho ambiental importante como consequência destes novos mercados, pois 20% da produção, em 2004, foi proveniente de áreas cultivadas e de açazais nativos manejados, o que, em anos anteriores, era quase que exclusivamente extrativista. A diminuição do extrativismo e o aumento de áreas cultivadas é uma tendência a ser mantida e ampliada em função da necessidade de regularidade da produção para atender à demanda.

O início da exportação se deu em 2000, para os Estados Unidos, ampliando depois para França, Japão, Itália e Alemanha, na forma de polpa congelada, pó, creme, sorvete e açai pronto para consumo com granola e guaraná. No mercado externo, o açai é apreciado como uma bebida exótica, enquanto que no Brasil, em geral, como bebida energética, e no Pará, como parte da refeição, sendo a base da alimentação, principalmente da população mais pobre e rural (MONTEIRO, 2006).

Visando à manutenção e ampliação do mercado de açai, algumas indústrias estão investindo não só no cultivo, mas também na qualificação da mão-de-obra o que pode significar mais emprego e maior renda para a população local.

Porém, a baixa vida de prateleira associada ao elevado custo de transporte são fatores a serem superados (MONTEIRO, 2006). Ainda há muito a se conhecer e desenvolver visando à inovação e promoção do desenvolvimento sustentável da cadeia do açaí, devido à importância econômica deste agronegócio para os estados da região Norte, especialmente Pará e Amapá, por responder pela sustentação das populações ribeirinhas. Estima-se o envolvimento direto de quase 25 mil pessoas e de R\$40 milhões no agronegócio da polpa e suco de açaí (NOGUEIRA, *et al.*, 2005;).

O açaí tem importância socioeconômica devido não só à sua relevância na alimentação da população ribeirinha e de mais baixa renda, mas também por seu potencial de aproveitamento (ROGEZ, 2000). Dos frutos se extrai a polpa e subprodutos, o caroço pode ser aproveitado no artesanato, como adubo orgânico e fonte de antioxidantes, o caule para obtenção do palmito, as folhas para cobrir as casas dos habitantes do interior da região e ainda os estipes adultos podem ser aproveitados para pasta e polpa de celulose pela indústria de papel (HOMMA & FRAZÃO, 2002; NOGUEIRA, *et al.*, 2005).

### **2.5.1. Caracterização química e atividade antioxidante**

O açaí é tido como uma das frutas mais nutritivas da Bacia Amazônica e sua bebida é um alimento altamente energético e de elevado valor nutricional apesar de existirem divergências com relação à sua composição centesimal em macro e micro elementos. Alguns fatores como a sazonalidade, estágios de maturação e procedência dos frutos, fatores ambientais, cultivares, além das metodologias analíticas empregadas na determinação dos parâmetros (SANABRIA & SANGRONIS, 2007), ou, ainda, devido a divergências na nomenclatura dos produtos obtidos de açaí, polpa e bebida, influenciam os dados disponíveis de composição química (ROGEZ, 2000)

O perfil em ácidos graxos da polpa de açaí é muito próximo ao perfil ideal de um óleo vegetal (CNNB, 1996). A fração lipídica da polpa é composta por aproximadamente 24% de saturados, 59% de monoinsaturados e 17% de poliinsaturados (ROGEZ, 2000; SANABRIA & SANGRONIS, 2007). Seu óleo pode também ser utilizado como ingrediente para a indústria alimentícia,

cosmética, dentre outras, agregando valor (PACHECO-PALENCIA, MERTENS-TALCOTT & TALCOTT, 2008).

Palacio (2008) utilizou a torta obtida com a centrifugação da polpa de açaí para a extração de óleo por prensagem, obtendo um rendimento elevado de 78-80% e um óleo de boa qualidade (índice de peróxido baixo), com os índices de iodo e de saponificação típicos de óleos vegetais ricos em ácidos graxos insaturados e de cadeia longa.

A polpa de açaí foi utilizada como matéria-prima para a extração de óleo por solvente e por via enzimática, não tendo sido verificadas diferenças significativas na composição em ácidos graxos, apresentando predominância de monoinsaturados (até 61%), porém com teor apreciável em poliinsaturados de até 10,6% (NASCIMENTO *et al.*, 2008)

Os valores observados para micronutrientes em açaí divergem bastante de acordo com a fonte bibliográfica, em mais de dez vezes para o ferro, por exemplo, podendo ser atribuído às metodologias empregadas ou até mesmo em decorrência da divergência quanto à nomenclatura dos produtos (ROGEZ, 2000). As variações quanto aos macro e micronutrientes também ocorrem em função do local de obtenção e da safra, apesar de serem de menor magnitude (SANABRIA & SANGRONIS, 2007). O único autor a quantificar a vitamina E no açaí foi Rogez *et al* (1996), tendo encontrado um teor apreciável (45 mg/100g), que poderia justificar a contribuição de 8% da fração lipofílica do açaí para a atividade antioxidante global, determinada por Pozo-Insfran, Brenes & Talcott (2004).

Os estudos sobre identificação e quantificação das antocianinas em açaí são poucos e apresentam divergências quanto às antocianinas identificadas. Em amostras distintas de polpa de açaí foram identificadas em diferentes trabalhos as antocianinas cianidina-3 (glucosídeo, rutinosídeo e sambiosídeo), perlagonidina-3-glucosídeo e peonidina-3 (glucosídeo e rutinosídeo) na polpa de açaí. Apesar de não ter sido observado um perfil padrão de composição de antocianinas no açaí, somente a cianidina-3-glucosídeo foi identificada por todos. Pozo-Insfran, Brenes & Talcott (2004) foram os únicos a identificar a perlagonidina-3-glucosídeo, enquanto a cianidina-3-rutinosídeo foi identificada por Lichtenhäler *et al.* (2004); De Rosso *et al.* (2005), Galori *et al.* (2005), Brito

*et al.* (2007) e Pacheco-palencia, Hawken & Talcott (2007).

Outros compostos fenólicos como ácidos fenólicos, flavanóis e flavonóis foram identificados e quantificados na polpa de açaí por Pozo-Insfran, Brenes & Talcott (2004), Galori *et al.* (2005), Brito *et al.*(2007) e Pacheco-palencia, Hawken & Talcott (2007). A grande variabilidade de compostos fenólicos é apontada como um possível fator positivo para a estabilização do pigmento, uma vez que a classe do copigmento e a razão molar copigmento/pigmento influenciam fortemente na estabilidade da cor.

O uso do açaí como corante tem sido avaliado não só para aplicação em alimentos, mas também para outros usos relacionados à saúde. Pesquisadores da Embrapa Amazônia Oriental em parceria com a Universidade Federal do Pará desenvolveram um identificador de placa bacteriana com corante de açaí, sendo depositada a patente nos Estados Unidos em 2007 (NAZARÉ *et al.*, 2007), e Córdova-Fraga *et al.* (2004) o testaram como fluido para contraste intestinal.

Na área alimentícia, Constant (2003) extraiu as antocianinas do açaí e aplicou o corante em pó obtido por *spray drying* em iogurte, queijo tipo *petit suisse*, e isotônico em pó e líquido, avaliando a estabilidade do corante nesses produtos, sendo o isotônico líquido o único que não apresentou boa estabilidade, devido à sua atividade de água e pH relativamente altos. Wada *et al.* (2007) apontam um interesse crescente no uso de corantes naturais alimentícios como “aditivos alimentícios multifuncionais”, por seus efeitos terapêuticos além dos nutricionais. Bobbio *et al.* (2000) sugerem o uso do açaí como fonte para extração de antocianinas, devido ao elevado teor deste pigmento e ausência de toxicidade da matéria-prima. Seguindo esta linha, Coïsson *et al.* (2007) avaliaram o uso de suco de açaí como corante funcional em iogurte, comparando a atividade antioxidante do mesmo em relação ao produto comercial adicionado de suco de arando (*bilberry*), usado como padrão. Apesar de o produto enriquecido com açaí apresentar uma menor atividade antioxidante, o valor ainda foi relevante, sugerindo o uso de suco de açaí, rico em antocianinas, como corante e flavorizante para obtenção de um alimento lácteo que aumentaria a ingestão de cianidina -3-glicosídeo.

Poucos estudos disponíveis na literatura avaliaram a atividade antioxidante

da polpa de açaí. Pozo-Insfran, Brenes & Talcott (2004) utilizaram polpa de açaí da Colômbia e encontraram uma atividade antioxidante de 48,6  $\mu\text{mol}$  Trolox equivalente/mL, que foi atribuída, principalmente, às antocianinas. Pacheco-palencia, Hawken & Talcott (2007), utilizando outra metodologia (ORAC), porém expressando também em Trolox, encontraram valores similares para a polpa integral, da ordem de 54,4  $\mu\text{mol}$  Trolox equivalente/mL e uma perda de quase 20% promovida pela clarificação clássica com terra diatomácea, como consequência da perda de compostos fenólicos antociânicos e não-antociânicos.

## **2.5.2. Processamento do açaí**

O principal produto obtido do fruto do açaí é a polpa, também chamado simplesmente de açaí, que pode ser utilizada como matéria-prima para diversos produtos como geléia, sorvete, cremes, recheios de bombom, dentre outros. Com um mercado local muito forte, estima-se um consumo de açaí de 120 mil litros/dia na cidade de Belém. Com o aumento do consumo em outras localidades, boa parte da produção deixou de ser artesanal, apesar de ainda ser realizada de forma bem empírica (NOGUEIRA *et al.*, 2005; ROGEZ, 2000).

A produção industrial da polpa consiste nas seguintes etapas: recebimento dos frutos; seleção manual; pré-lavagem; lavagem (com cloro); remoção do cloro (aspersão com água potável); amolecimento ou maceração; despulpamento e refino. A etapa de amolecimento ou maceração consiste em imergir os frutos em água, por um período de tempo determinado. Tanto a temperatura quanto o tempo de maceração variam de um produtor para outro, pois ainda não existe um processo otimizado que facilite o aumento do rendimento na obtenção da polpa sem prejudicar a sua qualidade (NOGUEIRA *et al.*, 2005; ROGEZ, 2000).

Os parâmetros tempo de batida e quantidade de água adicionada na etapa de despulpamento também são estipulados empiricamente, pela experiência prática do manipulador, variando de acordo com o tipo de açaí que se deseja obter, com a proveniência dos frutos, dentre outros (NOGUEIRA *et al.*, 2005; ROGEZ, 2000). O Ministério da Agricultura, Abastecimento e Agropecuária

(MAPA), através de Instrução Normativa, estabelece padrões de identidade e qualidade para o açaí e polpa de açaí, classificando como polpa de açaí o produto obtido através da extração da polpa do fruto por meios mecânicos, sem adição de água e sem filtração, o que na prática não é possível. Portanto, açaí ou bebida de açaí é o produto obtido pela extração do fruto com adição de água e filtrado, sendo classificado em três diferentes tipos como açaí fino, médio ou grosso, de acordo com o teor de sólidos totais. O açaí fino apresenta de 8 a 11%, o médio, de 11 a 14% e o grosso, acima de 14% de sólidos totais (BRASIL, 2000).

Em função dos novos mercados e da necessidade de transporte, grande parte da polpa de açaí obtida atualmente sofre algum processo de conservação mantendo a oferta do produto o ano todo, apesar de ter uma produção de frutos ocorrendo em duas safras, a de verão, no período de agosto a dezembro, e a de inverno, entre março e junho. Como observado por Cohen *et al.* (2007), a época da colheita influencia na composição do açaí, assim como a procedência e as boas práticas de produção. Deste modo, é de extrema importância para o agronegócio do açaí, o conhecimento sobre produção, colheita, pós-colheita e processamento, para que se mantenha a qualidade do produto ofertado durante todo o ano.

Processos de conservação como branqueamento, pasteurização, congelamento e desidratação estão sendo utilizados, uma vez que a polpa de açaí é muito perecível, apenas 12 horas sob refrigeração. A baixa estabilidade do produto pode ser decorrência da elevada carga microbiana presente no fruto, que poderia ser minimizada por adoção de boas práticas agrícolas e de fabricação. As enzimas endógenas, peroxidase e polifenoloxidase, são responsáveis por alterações sensoriais importantes por induzirem indiretamente a oxidação lipídica e promoverem o escurecimento do produto, modificando a cor de roxo para marrom (ROGEZ, 2000; NOGUEIRA *et al.*, 2005).

Em função da vida de prateleira muito curta, a tecnologia de obstáculos foi avaliada para a conservação da polpa de açaí por Alexandre, Cunha & Hubinger (2004), que empregaram a diminuição do pH, tratamento térmico, redução da atividade de água por adição de sacarose e adição de conservador sorbato de potássio. Todas as formulações testadas permaneceram estáveis

microbiologicamente ao longo dos cinco meses de armazenamento, entretanto nem todas foram aceitas sensorialmente.

A tecnologia de alta pressão foi testada por Menezes (2005) para a conservação da polpa de açaí, mostrando-se uma alternativa eficiente à pasteurização. No entanto, os tratamentos a 500 Mpa e a 25°C, por estimularem as enzimas polifenoloxidase e peroxidase, promoveram perda de coloração da polpa.

Os dados escassos da literatura evidenciam a necessidade de conhecimentos mais específicos e aplicados a fim de aliar à segurança alimentar a qualidade sensorial, nutricional e funcional do açaí e, assim, contribuir para promover a sustentabilidade econômica da cadeia.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Matéria-prima

Na legislação brasileira (Brasil, 2000) polpa de açaí é o produto obtido sem adição de água. Na prática, entretanto, a extração não é possível sem adição de água, motivo pelo qual, neste trabalho, polpa de açaí refere-se ao produto obtido com adição de água.

Para a avaliação dos estágios de maturação foi obtido um lote de polpa para cada estágio de maturação, utilizando para tanto os frutos verde, parol (de vez) e maduro, colhidos na Estação Experimental da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), localizada em Castanhal/PA, no mês de fevereiro.

O estudo da influência de diferentes condições para a obtenção da polpa foi conduzido com frutos adquiridos comercialmente no mercado Ver-o-peso, em Belém-PA.

Os experimentos de pré-tratamento e microfiltração foram conduzidos com açaí tipo grosso congelado, adquirido de uma indústria processadora de açaí localizada em Belém/PA.

As diferentes matérias-primas utilizadas estão resumidas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Matérias primas utilizadas e os diferentes experimentos

Matéria prima	Origem e obtenção da polpa	Experimentos em que foram utilizadas
Frutos verdes, de vez e maduros	Colhidos na estação experimental de Castanhal e processados na UFRA para obtenção das polpas.	Avaliação dos estágios de maturação
Frutos maduros	Adquiridos no mercado Ver-o-peso e processados na UFRA.	Avaliação das condições da extração
Polpa de açaí, tipo grosso	Adquiridos diretamente de uma agroindústria localizada em Belém.	Pré-tratamentos e microfiltração

Todas as polpas foram congeladas e transportadas via aérea para o Rio de Janeiro, onde foram processadas e ou analisadas em triplicata.

### 3.2. Procedimento experimental

Os testes para caracterização do fruto e obtenção da polpa de açaí foram realizados na Planta Piloto do Centro de Tecnologia Agropecuária (CTA) da Universidade Federal Rural da Amazônia, em Belém/PA. Os experimentos de pré-tratamento e de microfiltração assim como as determinações analíticas foram realizados nas Plantas Piloto II e IV e nos laboratórios da Embrapa Agroindústria de Alimentos, no Rio de Janeiro/RJ (Figura 3.1).

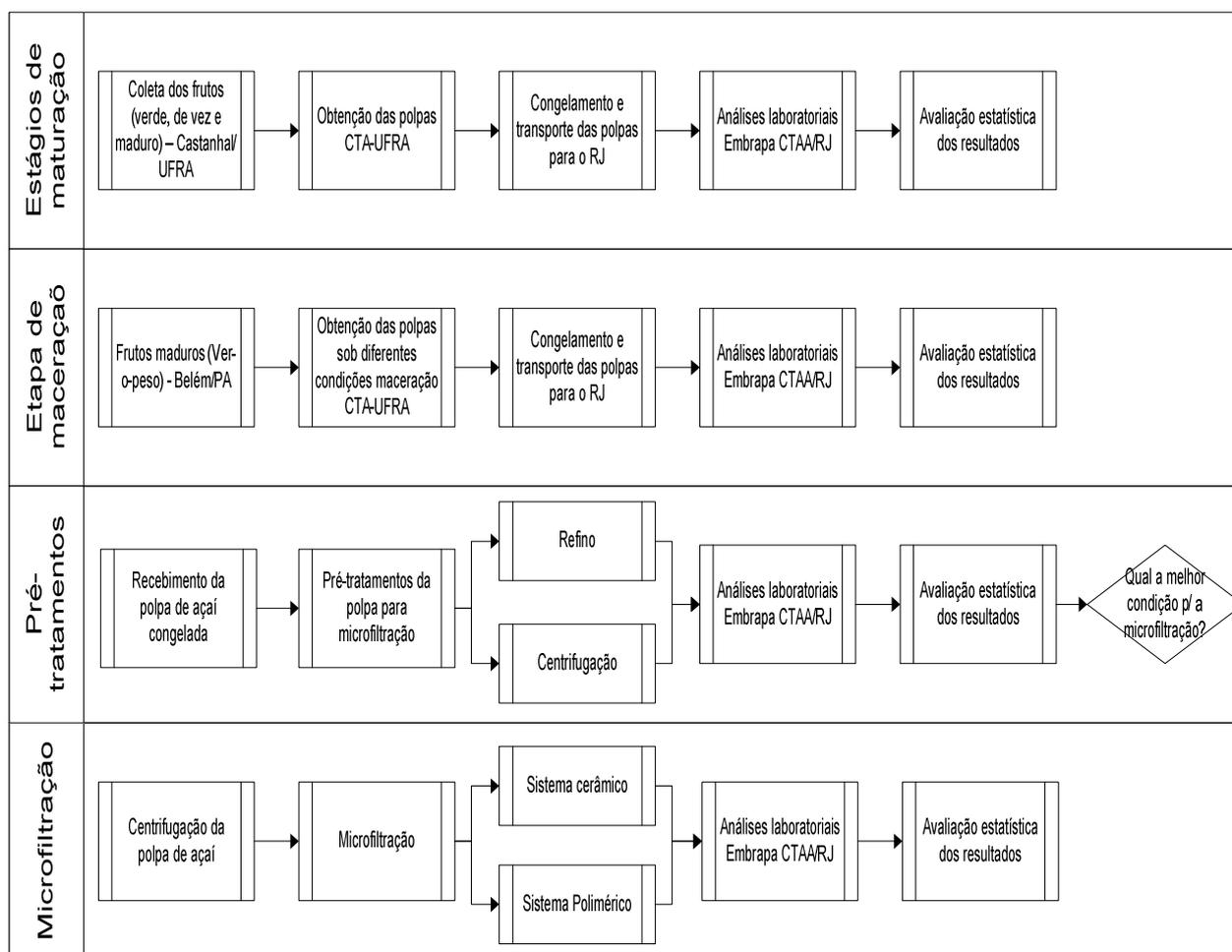


Figura 3.1 – Diagrama dos procedimentos experimentais realizados.

### 3.2.1. Caracterização da polpa de açaí em três estágios de maturação

Os frutos, em três diferentes estágios de maturação, foram processados para a obtenção da polpa de acordo com o fluxograma abaixo. As polpas obtidas foram caracterizadas físico-quimicamente, a fim de se determinar o efeito do grau de maturação sobre os compostos fenólicos totais, antocianinas totais e monoméricas bem como sobre a atividade antioxidante em cada estágio de maturação do fruto.

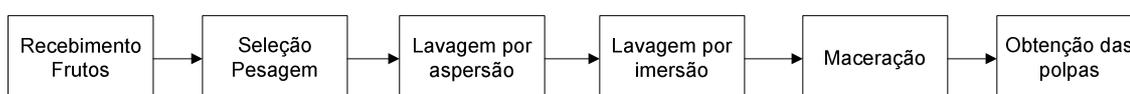


Figura 3.2 – Fluxograma de obtenção das polpas dos frutos em três estágios de maturação

Para cada experimento, foram utilizados 9 kg de frutos. A maceração dos frutos foi realizada a 50°C por 30 minutos. Para a obtenção das polpas, foi adicionada água na proporção de 0,61:1 (água: fruto) e a extração foi realizada em uma bateadeira de açaí (Figura 3.3).



Foto : Matta, V. M.

Figura 3.3 – Batedeira ou despoldadeira de açaí

As polpas de açaí obtidas foram devidamente identificadas, armazenadas em bolsa plásticas e congeladas, sendo parte armazenada na unidade de processamento e parte transportada por via aérea até o Rio de Janeiro, para as análises laboratoriais descritas no item 3.3, sendo mantidas congeladas até o momento de realização das análises. O rendimento em polpa, para cada estágio de maturação foi calculado de acordo com a Equação 3.1.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Polpa obtida (kg)}}{\text{Frutos (kg)}} \times 100 \quad \text{Eq. 3.1}$$

### **3.2.2. Extração da polpa de açaí em diferentes condições de maceração**

Para avaliação do efeito da temperatura e do uso de enzimas durante a maceração dos frutos sobre a extração da polpa e sobre as características da mesma, foram realizados seis experimentos de obtenção da polpa com 2kg de frutos maduros cada, seguindo o fluxograma (Figura 3.1) descrito no item anterior, variando-se as condições da etapa de maceração. A maceração foi realizada em três temperaturas (30°C, 35°C e 40°C), com e sem a adição de enzima Rapidase® TF da DSM Food Specialties, na concentração de 0,1g/kg de fruto. A Rapidase TF, é uma preparação enzimática líquida oriunda de *Aspergillus niger* e *Trichoderma reesei*, apresentando atividade de pectinase e hemicelulase, com temperatura ótima na faixa de 10 a 50°C e pH entre 3,0 e 5,5.

A enzima foi diluída na água de maceração antes da adição dos frutos, que permaneceram sob estas condições por 15 minutos. Após esta etapa os frutos foram pesados e seguiram para a batedeira sendo adicionada água, para a obtenção da polpa, na proporção de 0,5:1 (água:fruto) durante o processamento.

As polpas obtidas foram pesadas e congeladas, para posterior realização das análises laboratoriais e avaliação do efeito das condições de maceração sobre os compostos bioativos e a atividade antioxidante do açaí. O cálculo do rendimento de cada processo foi calculado utilizando-se a Equação 3.1.

### 3.2.3. Pré-tratamentos para a microfiltração

A polpa de açaí tipo grosso, obtida comercialmente, foi a matéria-prima utilizada para os testes de pré-tratamento, refino e centrifugação, assim como para os experimentos de microfiltração. A polpa foi uniformizada, acondicionada em bombonas plásticas, congelada e mantida sob congelamento até o momento dos testes. Esta polpa foi denominada polpa integral, para fins analíticos.

O pré-tratamento teve por objetivo reduzir os teores de polpa e de sólidos totais, e com isso, facilitar a microfiltração do açaí. Em cada teste foram utilizados 19 kg de açaí grosso, efetuando-se a pesagem dos produtos obtidos, para a determinação do rendimento dos mesmos (Equação 3.2).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Polpa obtida (kg)}}{\text{Polpa Integral (kg)}} \times 100 \quad \text{Eq. 3.2}$$

Os produtos obtidos através dos pré-tratamentos de refino e centrifugação, para efeito do presente trabalho, foram denominados de polpa refinada e polpa centrifugada de açaí, respectivamente. Foram coletadas amostras das polpas integral, refinada e centrifugada, para realização das análises de caracterização e para avaliação do efeito dos pré-tratamentos sobre os compostos fenólicos totais e antocianinas totais, bem como sobre a atividade antioxidante das mesmas.

Para o refino, foi utilizada uma despulpadeira de escovas (Figura 3.3) com peneira de aço inox com poros de 0,6mm de diâmetro, marca Itametal, modelo Bonina 0,25df.



Foto: Matta, V. M.

Figura 3.4 - Despolpadeira de escovas

Para a centrifugação, foi utilizada uma centrífuga de cestos (Figura 3.4) marca Internacional Equipment Company, modelo SIZE 2, a 406g, tendo como meio filtrante uma tela de nylon de 150  $\mu\text{m}$ .



Foto : Matta, V. M.

Figura 3.5 – Centrífuga de cestos

### 3.2.4. Microfiltração

Testes preliminares de microfiltração foram conduzidos utilizando-se as polpas refinada e centrifugada, os quais resultaram na definição da centrifugação como a melhor condição de pré-tratamento para a microfiltração.

Para os experimentos de microfiltração, foram centrifugados 68 kg de polpa integral, nas mesmas condições descritas no item 3.2.3, sendo a polpa centrifugada uniformizada e fracionada em bombonas plásticas, previamente sanitizadas, em volumes de dois e quatro litros, para facilitar o descongelamento antes dos experimentos.

Foi realizado um planejamento experimental com dois fatores, temperatura e tipo de membrana, em dois níveis cada, para avaliar a influência dos mesmos sobre os compostos bioativos presentes na polpa de açaí durante a microfiltração. Os processos foram realizados em duplicata, sendo testados dois tipos de membrana em sistemas pilotos, um composto por membranas cerâmicas e outro por membranas poliméricas, e duas temperaturas de processamento, 25 e 35°C.



Foto : Matta, V. M.

Figura 3.6 - Sistema de microfiltração com membranas cerâmicas

O sistema cerâmico (Figura 3.6) utilizado é composto por quatro membranas tubulares de  $\alpha$ -alumina com poros de  $0,1\mu\text{m}$  e área filtrante total de  $0,022\text{m}^2$ . As membranas estão dispostas em série, sendo o permeado coletado de cada membrana por tubos flexíveis independentes. O tanque de alimentação, em aço inox, tem capacidade nominal de 4 litros, é fechado e encamisado, permitindo o controle da temperatura de processo através do acoplamento do

sistema de refrigeração. O sistema permite, também, acoplar uma entrada de nitrogênio gasoso, a fim de diminuir o contato do produto com o oxigênio e reduzir as reações oxidativas.



Foto : Silva, L. F. M.

Figura 3.7 - Sistema de microfiltração com membrana polimérica

O sistema polimérico (Figura 3.7) utilizado é composto por uma membrana tubular de polietersulfona com poros de 0,3  $\mu\text{m}$  de diâmetro e área filtrante total de 0,05  $\text{m}^2$ .

A polpa centrifugada, utilizada nos testes de microfiltração, era descongelada, em processo lento, no dia anterior ao processamento.

Os processos foram realizados em batelada simples, com recirculação do retido, a uma vazão de recirculação de 900 L/h e diferença de pressão aplicada à membrana de 3,0 bar. O tempo de processo variou, uma vez que o parâmetro utilizado para finalização do processamento foi o fator de concentração volumétrica, fixado em 2,0. O fator de concentração volumétrica ( $F_c$ ) é dado pela equação 3.3.

$$F_c = \frac{V_a}{(V_a - V_p)} \quad \text{Eq.3.3}$$

Onde;

$F_c$  é o fator de concentração volumétrico,

$V_a$  é volume alimentado à membrana, em litros e,

$V_p$  é o volume de permeado, em litros.

O acompanhamento dos processos foi realizado pela determinação do fluxo de permeado a cada cinco minutos. Nestes mesmos tempos, os valores de volume de permeado acumulado, as pressões de entrada e saída e a temperatura eram anotados.

O fluxo de permeado foi determinado pela medida do tempo necessário para recolher um determinado volume de permeado e calculado utilizando-se a Equação 3.4.

$$J = \left( \frac{(V/t) \times 3600}{a} \right) \quad \text{Eq.3.4}$$

Onde;

J - fluxo de permeado, expresso em L/hm<sup>2</sup>,

V - volume de permeado recolhido, em litros,

t - tempo medido no cronômetro, em segundos,

a - área filtrante da membrana, em m<sup>2</sup>.

Em todos os processos foram retiradas amostras das frações alimentação, permeado e retido, para serem analisadas posteriormente, a fim de avaliar o efeito dos processos sobre os compostos de interesse.

### **3.2.5. Limpeza dos sistemas de microfiltração**

Os sistemas de microfiltração eram lavados e sanitizados de acordo com o procedimento descrito no fluxograma abaixo, sempre após o uso e repetido, quando necessário.

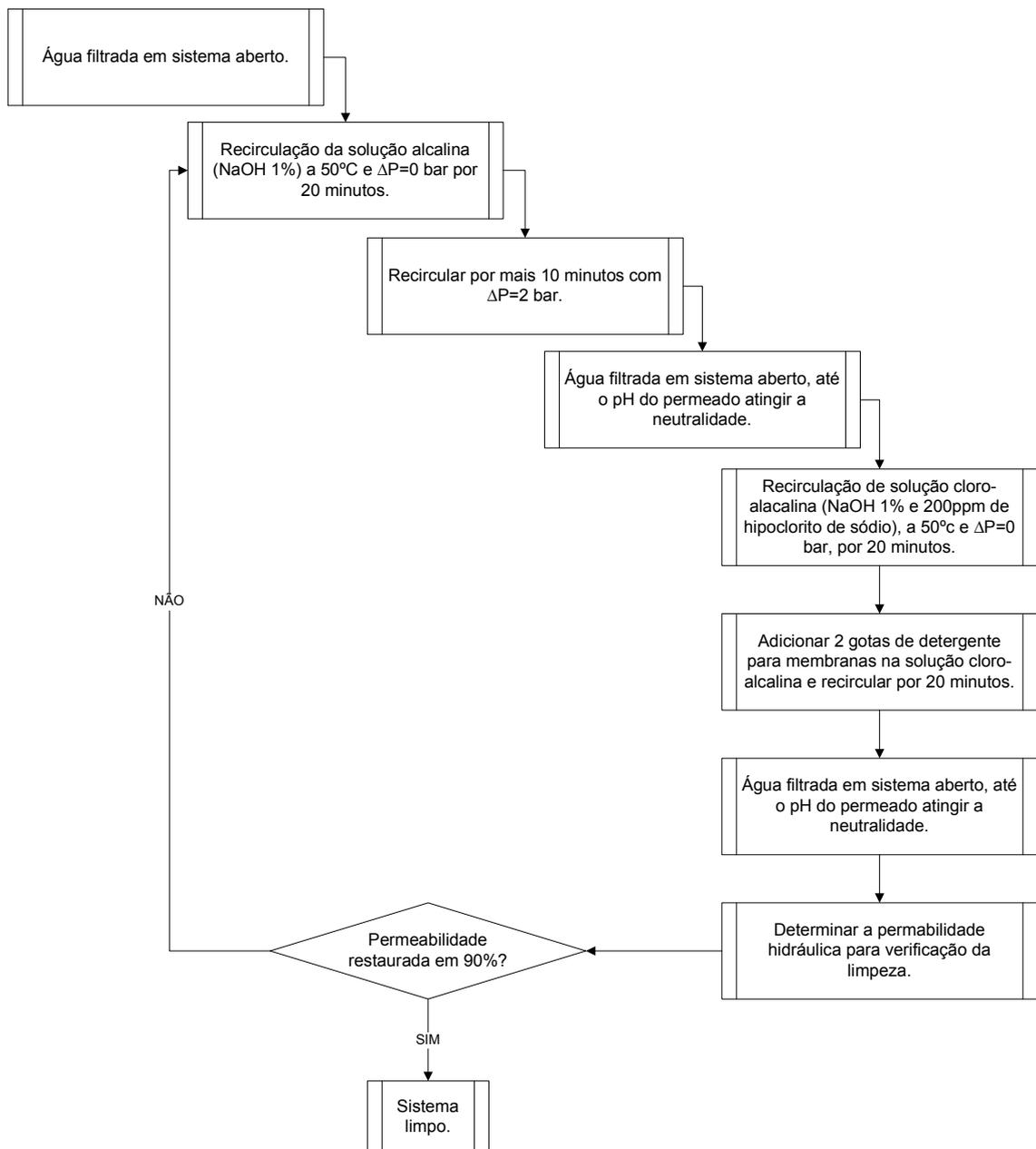


Figura 3.8 - Fluxograma de processo de limpeza dos sistemas de microfiltração.

Após a limpeza era realizada a determinação da permeabilidade hidráulica, a fim de verificar a eficácia do procedimento. O sistema era considerado limpo quando se restaurava, no mínimo, 90% da permeabilidade hidráulica inicial das membranas. Caso este valor não fosse atingido, todo o procedimento era repetido.

A permeabilidade hidráulica é um fator característico de cada membrana e pode ser definido como o inverso da resistência intrínseca da mesma. Ela pode

ser determinada pela medida da quantidade de água que permeia a membrana em um determinado tempo, por unidade de área e por unidade de pressão.

Para a determinação da permeabilidade hidráulica, o sistema era alimentado com água, e o fluxo de permeado era medido à temperatura e pressão determinadas, sendo calculado, pela Equação 3.5.

$$J = \frac{\left(\frac{V/t}{a} \times 3600\right)}{\Delta P} \quad \text{Eq.3.5}$$

Onde;

J - fluxo de permeado, expresso em L/hm<sup>2</sup>,

V - volume de permeado recolhido, em litros,

t - tempo medido no cronômetro, em segundos,

a - área filtrante da membrana, em m<sup>2</sup> e,

ΔP é a pressão transmembrana aplicada ao sistema, em bar.

### 3.3. Métodos analíticos

#### 3.3.1. Atividade antioxidante

Para a determinação da atividade antioxidante das diferentes amostras foram obtidos extratos de acordo com a metodologia descrita por Rufino *et al.*(2007) e a quantificação de acordo com Re *et al* (1999).

Os extratos foram obtidos de acordo com o procedimento descrito abaixo (Figura 3.8) e congelados por no máximo 15 dias antes da análise.

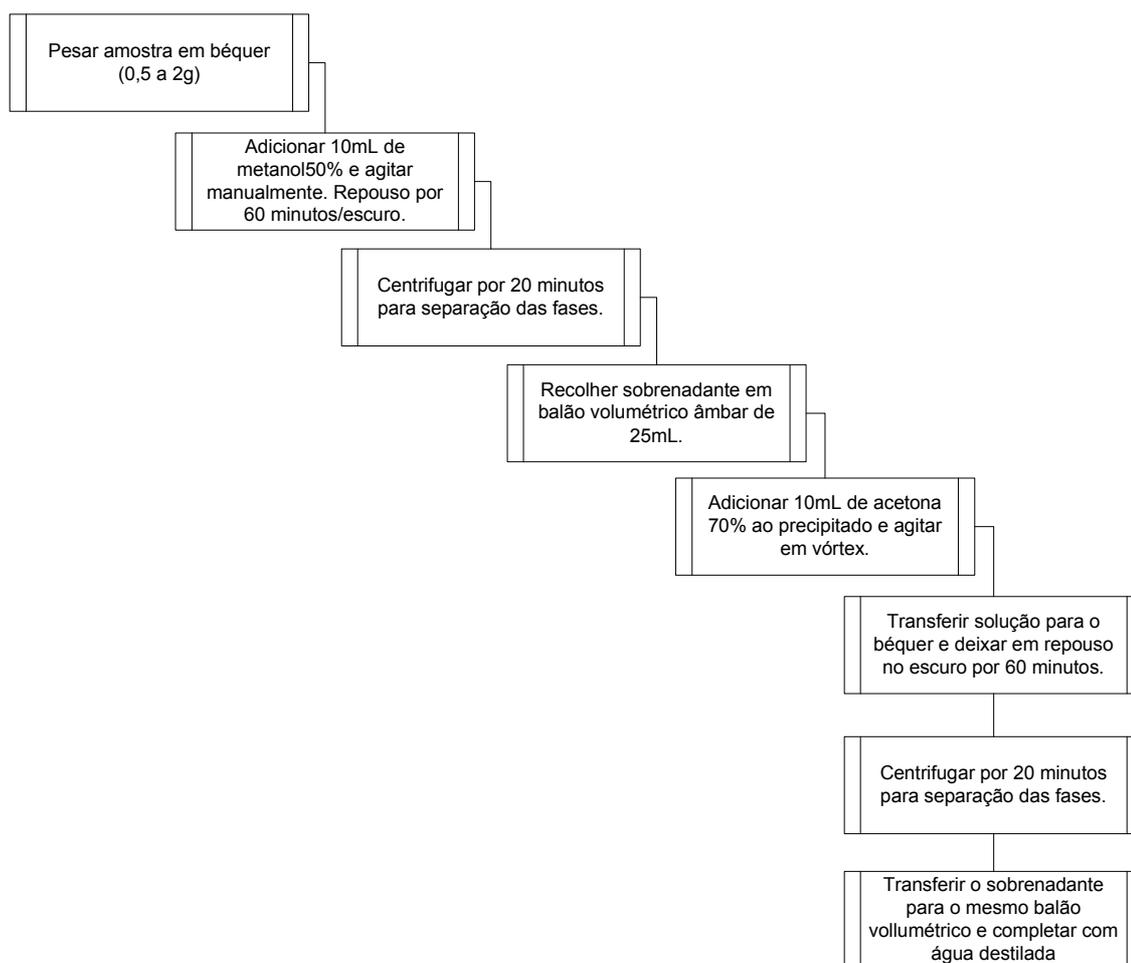


Figura 3.9 – Procedimento de obtenção do extrato para a quantificação da atividade antioxidante.

O radical  $ABTS^+$  foi formado quimicamente com  $K_2SO_5$ , persulfato de potássio, adicionando em um frasco âmbar 5 mL da solução 7mM de ABTS em água destilada e 88  $\mu$ L da solução de  $K_2SO_5$  140mM, que permaneceu fechado à temperatura por no mínimo 14 horas, para formação e estabilização da solução de  $ABTS^+$ . Esta solução concentrada de  $ABTS^+$  foi diluída, aproximadamente de 70 a 80 vezes, em etanol 95% até atingir uma absorvância de  $0,700 \pm 0,020$  à 734nm.

Para a construção da curva de calibração de Trolox, eram elaboradas soluções com concentrações de 100; 500; 1000; 1500 e 2000  $\mu$ M em etanol 95%, as quais ao reagirem com a solução de  $ABTS^+$  (na proporção de 1:10) durante 6 minutos, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente, promoviam um decréscimo na absorvância da solução, lida à 734nm, por restaurar parte do

ABTS<sup>+</sup> em ABTS não radicalar. O branco era lido com etanol 95% na mesma proporção.

A quantificação da atividade antioxidante dos extratos era realizada da mesma forma: alíquotas do extrato e da solução etanólica de ABTS<sup>+</sup>, na proporção 1:10, eram homogeneizadas, mantidas ao abrigo da luz à temperatura ambiente e as absorvâncias lidas após 6 minutos da adição da última solução. Deste modo, a diferença entre a absorvância do branco e da amostra, pôde ser expressa como equivalente de Trolox necessário para uma mesma resposta, utilizando a equação da reta da curva de calibração deste padrão.

### 3.3.2. Antocianinas totais e monoméricas

Para a avaliação da influência dos pré-tratamentos sobre as antocianinas totais, estas foram quantificadas pelo método descrito por Fuleki & Francis (1968a), de acordo com o procedimento descrito abaixo.

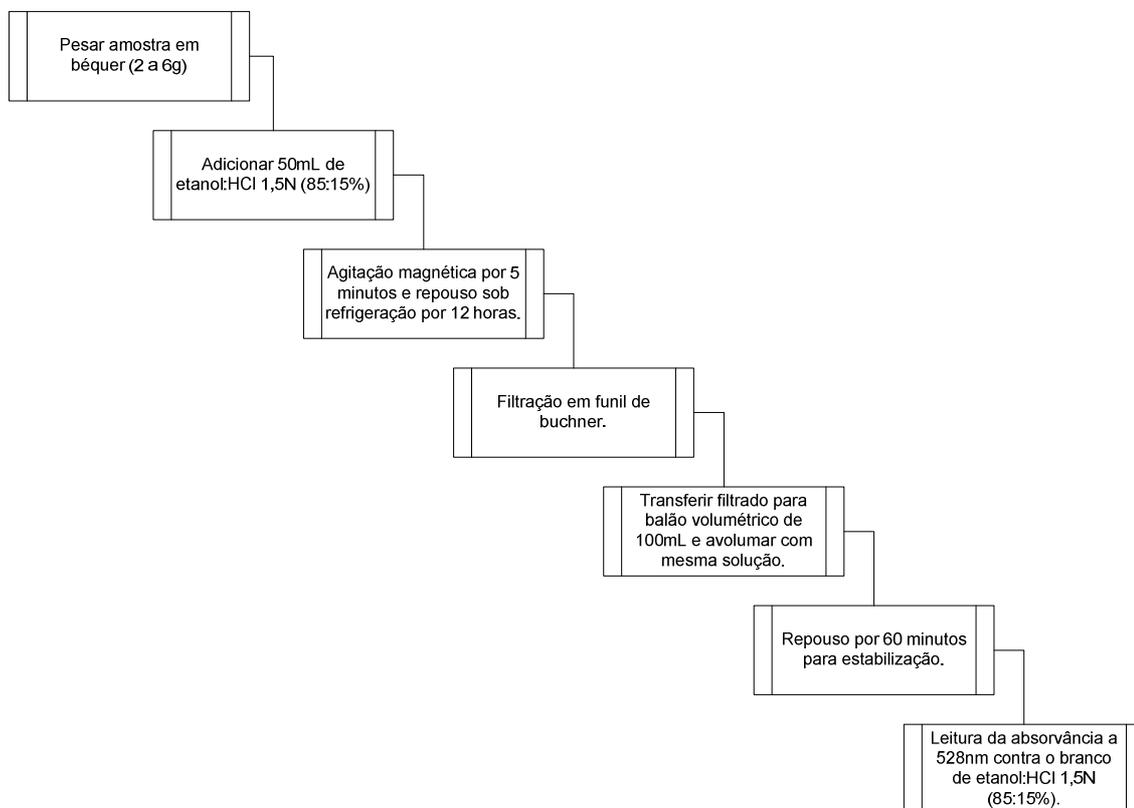


Figura 3.10 – Procedimento de quantificação das antocianinas totais por Fuleki & Francis, 1968(a).

Para a filtração do extrato em funil de buchner, foi utilizado papel de filtro faixa preta (rápida filtração). A quantificação foi feita pela leitura da absorvância a 528 nm, do extrato filtrado, e o cálculo realizado através da equação 3.6, sendo o teor de antocianinas totais expresso em equivalente da antocianina principal, cianidina-3-glucosídeo.

$$AT = \left[ \left( \frac{Abs_{528} \times PM_{cianidina-3-glucosídeo} \times fd}{\epsilon} \right) \times 100 \right] \quad \text{Eq. 3.6}$$

onde;

AT são as antocianinas totais expressas em mg da antocianina predominante em 100g de amostra;

Abs<sub>528</sub> é a absorvância do extrato filtrado lida à 528nm;

PM é o peso molecular da cianidina-3-glucosídeo (445,2);

fd é o fator de diluição dado pela razão volume:massa, sendo utilizados os valores em litros e gramas;

$\epsilon$  é o coeficiente de extinção molar da cianidina 3-glucosídeo em solução etanólica acidificada à 528nm, cujo valor é de 29.600 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>;

100 é utilizado para expressar o valor por 100 gramas de amostra.

A determinação dos teores de antocianinas totais e monoméricas dos demais experimentos foi realizada através da metodologia de pH diferencial descrita por Giusti & Wrolstad (2001) adaptada (Figura 3.11). Foi introduzida uma etapa de filtração da amostra em papel de filtro de rápida filtração, para eliminar os sólidos em suspensão e deste modo, ser possível a determinação da absorvância da solução.

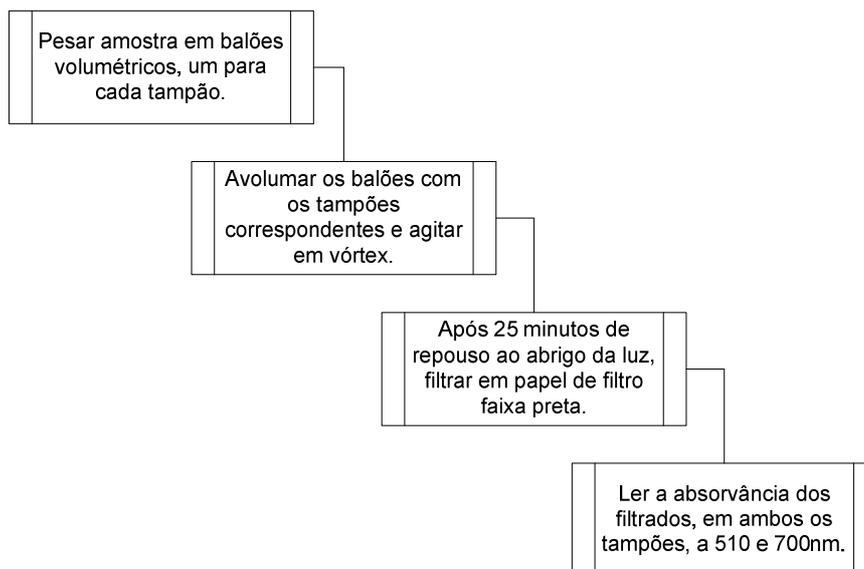


Figura 3.11 – Procedimento de quantificação das antocianinas totais e monoméricas por pH diferencial.

O comprimento de onda de 510nm foi escolhido devido ao valor do  $\epsilon_{\text{cianidina-3-glucosídeo}}$  em tampão pH 1.0 existente na literatura e por ser esta a única antocianina identificada em polpa de açaí nos trabalhos consultados.

Para a quantificação das antocianinas totais foram consideradas as absorvâncias a 510 e 700nm apenas da solução de pH 1 e os cálculos realizados de acordo com a equação 3.7.

$$AT = \left[ \frac{((Abs_{510} - Abs_{700})_{pH\ 1,0} \times 10^3 \times PM \times fd)}{\epsilon} \right] \times 100 \quad Eq. 3.7$$

Onde;

AT são as antocianinas totais expressas em mg de cianidina-3-glucosídeo, antocianina majoritária, em 100g de amostra;

$(Abs_{510}$  e  $Abs_{700})_{pH\ 1,0}$  são os valores de absorvância da amostra diluída na solução tampão pH 1,0 lidos a 510 e 700nm, respectivamente;

PM é o peso molecular da cianidina-3-glucosídeo;

fd é o fator de diluição dado pela razão volume da diluição, em litros, por massa de amostra, em gramas;

$\epsilon$  é o coeficiente de extinção molar da cianidina 3-glucosídeo em solução

tampão pH 1,0 à 510nm, cujo valor é de  $26.900 \text{ Lcm}^{-1}\text{mol}^{-1}$ ;

100 é utilizado para expressar o valor por 100 gramas de amostra.

Para a quantificação das antocianinas monoméricas foram consideradas as absorvâncias a 510 e 700nm das amostras diluídas nas soluções tampão pH 1.0 e 4.5 e os cálculos de acordo com a equação 3.8.

$$AM = AT - \left[ \left( \frac{((Abs_{510} - Abs_{700})_{pH\ 4.5} \times 10^3 \times PM \times fd)}{\epsilon} \right) \times 100 \right] \quad \text{Eq. 3.8}$$

Onde,

AM são as antocianinas monoméricas expressas em mg de cianidina-3-glucosídeo, antocianina majoritária, presentes em 100g de amostra.

AT são as antocianinas totais expressas em mg da antocianina predominante em 100g de amostra

$(Abs_{510}$  e  $Abs_{700})_{pH\ 4.5}$  são as absorvâncias lidas da solução em pH 4.5 nos comprimentos de onda 510 e 700 nm, respectivamente.

### **3.3.3. Identificação das antocianinas monoméricas por CLAE**

As antocianinas monoméricas foram identificadas por cromatografia líquida de alta eficiência através da metodologia proposta por Brito *et al.* (2007), a qual emprega uma extração prévia das antocianinas com solução de ácido fórmico a 10% em metanol e centrifugação a 25000 g a 20°C. O extrato obtido foi seco com nitrogênio gasoso e então ressuspensão em metanol em ácido fórmico aquoso (1:9) antes de ser injetado no cromatógrafo.

A análise foi realizada em CLAE-EM modelo HP series 1100 MSD com detector de arranjo de diodos (DAD) GB15A, utilizando uma coluna SB-C18 (3.5  $\mu\text{m}$ , 4.6  $\times$  150 mm). A fase móvel foi constituída de solvente A (solução aquosa de ácido fórmico 10%) e solvente B (solução de ácido fórmico 10% em metanol) nas condições descritas na Tabela 3.2 com um fluxo médio de 1mL/min e detecção do sinal a 530nm.

Tabela 3.2 – Gradiente de concentração da fase móvel

<b>Solvente B</b>	<b>Tempo da corrida (minutos)</b>
12 – 25 %	32
25 – 60%	48
60 – 100%	50
100 – 12%	55

A identificação das antocianinas majoritárias foi realizada através de um cromatograma padrão de polpa de açaí obtido através das mesmas condições cromatográficas descritas acima, com o cromatógrafo acoplado a um espectrômetro de massa. Para a espectrometria de massa (Brito *et al.*, 2007).

### **3.3.4. Fenólicos totais**

A determinação dos teores de fenólicos totais foi conduzida seguindo o fluxograma abaixo, de acordo com o método espectrofotométrico proposto por Singleton & Rossi (1965) modificado por Georgé *et al.* (2005). A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada através de uma curva de calibração de ácido gálico, sendo os valores expressos em mg equivalentes de ácido gálico/100g de amostra.

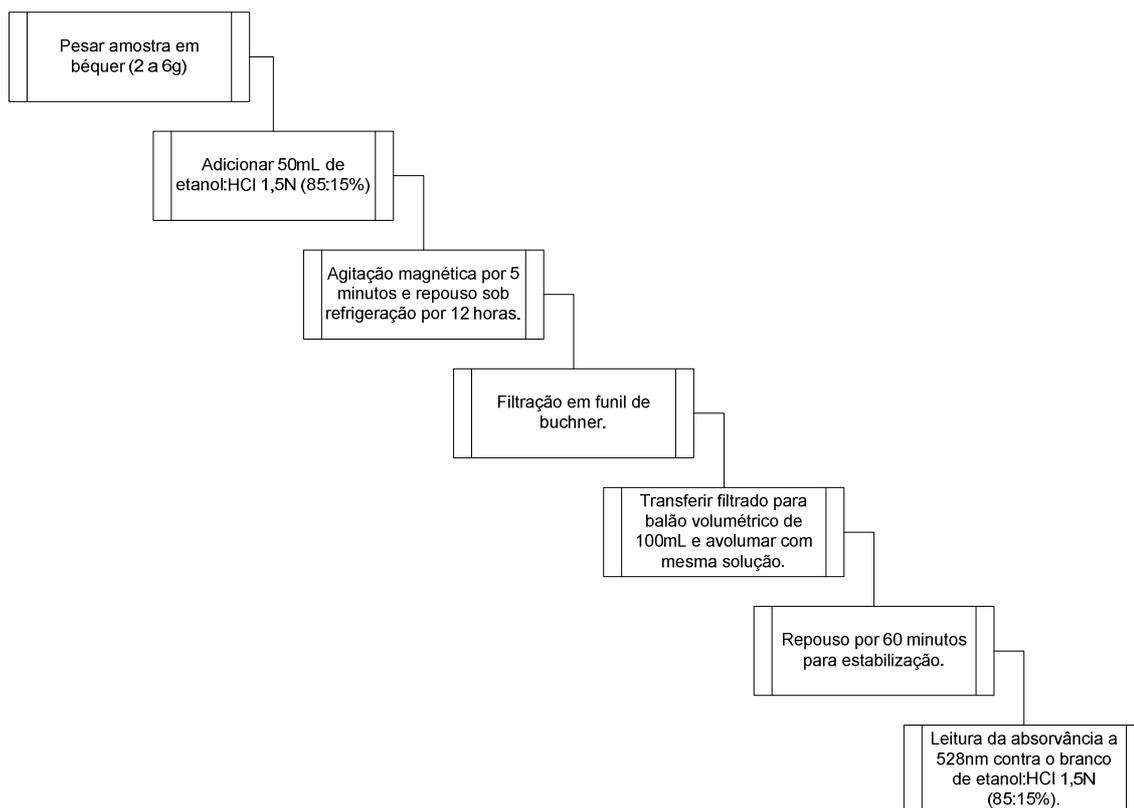


Figura 3.12 – Procedimentos de obtenção dos extratos e quantificação do teor de fenólicos totais por Folin-Ciocalteu.

### 3.3.5. pH

As medidas de pH foram realizadas através de leitura direta em potenciômetro Metronal E-120 de acordo com a metodologia descrita pela A.O.A.C. (1984 – 13.010), utilizando as soluções tampão pH 4,0 e pH 7,0, para calibração do equipamento.

### 3.3.6. Sólidos solúveis (°Brix)

O teor de sólidos solúveis foi determinado pela leitura direta em refratômetro de acordo com a metodologia descrita pelo A.O.A.C., 1997 – 932,12, utilizando um refratômetro digital de bancada, marca Atago modelo PR 1001 com escala de 0 a 45 °Brix .

### **3.3.7. Acidez titulável total**

A acidez titulável total foi realizada através do método titulométrico proposto pela A.O.A.C. (1997), em titulador automático, marca Metrohm, modelo 785 DMP – Titrino, utilizando como titulante uma solução de hidróxido de sódio fatorada com biftalato de sódio. Os valores obtidos foram expressos em mg de ácido málico por 100 g de amostra.

### **3.3.8. Teor de polpa**

O teor de polpa das amostras foi medido através da metodologia proposta por Reed *et al.* (1968), que se baseia na determinação da polpa por centrifugação. Os valores foram expressos em porcentagem mássica.

### **3.3.9. Sólidos totais**

O teor de sólidos totais foi realizado através da metodologia descrita no livro de normas analíticas Instituto Adolfo Lutz (1985), a qual se baseia na determinação do peso seco obtido pela secagem em estufa a vácuo a 60 °C do material de interesse até obtenção de peso constante. Os valores foram expressos em porcentagem mássica.

### **3.3.10. Composição centesimal**

A composição centesimal das amostras foi realizada através das metodologias oficiais descritas abaixo:

- Teor de cinzas pelo método 923.03, AOAC 2000;
- Umidade pelo método 925.45D, AOAC 2005;
- Extrato etéreo pelo método 922.06, AOAC 2005;
- Nitrogênio total pelo método de Kjeldahl tradicional - AACC 1995 - método 46-13 modificado e fator 6.25 para conversão do nitrogênio em proteínas totais.
- Carboidrato total calculado pela diferença

### **3.3.11. Análise estatística dos dados**

A análise estatística dos resultados foi realizada com o programa XLSTAT 7.5, versão 7.5 para análise de variância (ANOVA) de um fator e teste de Tukey com intervalo de confiança de 95%. A análise de variância de dois fatores foi feita utilizando o programa GRAPHPAD PRISM 4 versão 4.0 e o teste de Bonferroni. A análise de correlação de Pearson foi realizada no Excel.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Caracterização da polpa de açaí em três estágios de maturação

As polpas obtidas dos frutos do açaí em três diferentes estágios de maturação foram avaliadas quanto à composição centesimal e parâmetros físico-químicos, e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Composição centesimal e parâmetros físico-químicos da polpa do açaí em três estágios de maturação.

Parâmetros	Amostras		
	Verde	Parol (De vez)	Maduro
<b>Cinzas (g/100g)</b>	0,2 ± 0,0 <sup>c</sup>	0,3 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,4 ± 0,0 <sup>a</sup>
<b>Lipídeos (g/100g)</b>	0,1 ± 0,0 <sup>c</sup>	1,2 ± 0,0 <sup>b</sup>	4,8 ± 0,4 <sup>a</sup>
<b>Proteína total (g/100)</b>	0,3 ± 0,0 <sup>c</sup>	0,5 ± 0,0 <sup>b</sup>	1,2 ± 0,0 <sup>a</sup>
<b>Carboidratos (g/100g)<sup>1</sup></b>	0,8 ± 0,2 <sup>c</sup>	1,9 ± 0,1 <sup>b</sup>	3,5 ± 0,4 <sup>a</sup>
<b>Sólidos totais (g/100g)</b>	1,8 ± 0,1 <sup>c</sup>	5,3 ± 0,0 <sup>b</sup>	10,7 ± 0,4 <sup>a</sup>
<b>Teor de polpa (g/100g)</b>	6,4 ± 0,1 <sup>c</sup>	20,9 ± 0,8 <sup>b</sup>	38,8 ± 1,1 <sup>a</sup>
<b>pH</b>	5,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,0 <sup>ab</sup>	5,1 ± 0,0 <sup>b</sup>
<b>Sólidos solúveis (°Brix)</b>	1,0 ± 0,0 <sup>c</sup>	1,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	3,0 ± 0,0 <sup>a</sup>
<b>Acidez total titulável <sup>2</sup></b>	0,04 ± 0,0 <sup>c</sup>	0,06 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,12 ± 0,0 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Valores calculados pela diferença, de acordo com a norma AOAC, <sup>2</sup> expresso em g de ácido málico/100g. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa com 95% de significância.

As variações nos resultados dos estágios de maturação eram esperadas, uma vez que a maturação pode ser definida como uma seqüência de mudanças na cor, sabor e textura dos frutos, que os tornam aptos ao consumo

ou industrialização. As principais mudanças ocorridas durante a maturação incluem o desenvolvimento das sementes, mudança da cor, variações na taxa respiratória e na produção de etileno, mudança na permeabilidade dos tecidos e na textura, alterações químicas nos carboidratos, ácidos orgânicos, pectinas, pigmentos, compostos fenólicos, etc., além da produção de substâncias voláteis e formação de ceras nas cascas (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

Os teores de sólidos solúveis, acidez, carboidratos, proteínas e lipídeos totais aumentaram com a maturação, gerando as alterações no sabor e na textura. Os sólidos totais também apresentaram um aumento com a maturação, o que pode ser atribuído, em parte, à dificuldade de extração da polpa, pois apesar de ter sido adicionada a mesma proporção de água para a extração, os frutos parol e verde apresentavam a porção comestível do açaí (cerca de 15% do peso do fruto) muito aderida à semente, dificultando sua extração mecânica, mesmo após a etapa de maceração.

A polpa de açaí obtida com o fruto maduro apresentou um teor médio de lipídeos totais de 4,8g/100g de polpa, o que equivale a 45,2g/100g em base seca, valor muito próximo aqueles encontrados por Sanabria & Sangronis (2007) e por Menezes (2005), entre 42,0 e 49,4g/100g (base seca). Estes valores atendem à legislação vigente (BRASIL, 2000), que estabelece uma faixa de 20 a 60g/100g de lipídeos totais dependendo do tipo de açaí (fino, médio ou grosso).

Em termos de carboidratos totais, a polpa do açaí maduro apresentou uma média de 3,5 g/100g equivalendo a 33,0 g/100g em base seca, na mesma faixa (31,6 g/100g) que o determinado por Sanabria & Sangronis (2007) na polpa com frutos colhidos também no mês de fevereiro, sendo ambos os valores inferiores aos da polpa obtida com os frutos colhidos pelos referidos autores no mês de julho (48g/100g) e ao determinado por Menezes (2005) em polpa congelada comercial (41,2g/100g).

A sazonalidade é uma grande fonte de variação na composição centesimal do açaí, comprovada por Sanabria & Sangronis (2007), que encontraram variações significativas em lipídeos, carboidratos, fibras totais e cinzas nas amostras obtidas com frutos colhidos nos meses de fevereiro e de julho.

Os teores de fenólicos totais, antocianinas e a atividade antioxidante das

polpas de açaí nos três estágios de maturação, verde, de vez e maduro são apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Compostos fenólicos e atividade antioxidante *in vitro* da polpa do açaí em três estágios de maturação.

Parâmetros	Amostras		
	Verde	De vez	Maduro
<b>Fenólicos totais<sup>1</sup></b>	172,5 ± 3,7 <sup>b</sup>	118,7 ± 5,8 <sup>c</sup>	343,7 ± 15,4 <sup>a</sup>
<b>Antocianinas totais<sup>2</sup></b>	2,5 ± 0,2 <sup>c</sup>	9,5 ± 0,4 <sup>b</sup>	80,4 ± 1,6 <sup>a</sup>
<b>Antocianinas monoméricas<sup>2</sup></b>	0,0 <sup>c</sup>	3,1 ± 0,4 <sup>b</sup>	52,7 ± 1,2 <sup>a</sup>
<b>Atividade antioxidante<sup>3</sup>(ABTS)</b>	23,8 ± 1,0 <sup>b</sup>	15,8 ± 0,2 <sup>c</sup>	27,8 ± 1,0 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> expresso em mg equivalente de ácido gálico/100g; <sup>2</sup> expresso em mg equivalente de cianidina-3-glucosídeo/100g;

<sup>3</sup>expresso em µmol Trolox equivalente/g; letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa com 95% de significância.

As antocianinas no açaí apresentaram um perfil de aumento da concentração com a maturação, em concordância com os estudos realizados por Castrejón *et al.* (2008) com quatro cultivares de mirtilo e por Cheng & Breen (1991) em morangos durante o período após a antítese e amadurecimento. Os autores verificaram que apesar de os flavonóides terem sido sintetizados ao longo do desenvolvimento do fruto, o acúmulo do teor de antocianinas somente ocorreu durante a maturação e segundo Cheng & Breen (1991), em morangos, este fenômeno acontece concomitantemente ao declínio do teor de taninos e ao segundo pico de atividade da enzima fenilalanina amônia liase (PAL), a enzima chave envolvida na biossíntese de fenilpropanóides.

O teor de antocianinas totais da polpa de açaí maduro, ainda que do tipo fino, foi de 80,4 mg cianidina 3-glucosídeo/100g, sendo este teor próximo ao obtido por Menezes (2005) de 78,8 mg/100g em açaí grosso, e ainda mais que o dobro do teor encontrado por Kuskosky *et al.* (2007) para a polpa de uva (30,9 mg/100g) e quase o dobro para polpa de amora (41,8 mg/100g), indicando o açaí como uma boa fonte destes pigmentos. Por outro lado,

Kuskosky *et al.* (2007), ao avaliarem uma polpa comercial congelada de açaí, encontraram 22,8 mg de cianidina-3-glucosídeo/100g, um valor bem abaixo do encontrado na polpa obtida com frutos maduros. O baixo teor de antocianinas pode ser atribuído aos processos industriais utilizados na conservação da polpa, uma vez que Klotek, Otto & Böhm (2005) encontraram uma perda de 27% nas antocianinas de suco de morango como consequência da pasteurização.

As antocianinas cianidina-3-rutinosídeo e cianidina-3-glucosídeo foram identificadas na polpa obtida com frutos maduros de açaí (Figura 4.1), resultado semelhante ao encontrado por Galori *et al.* (2004), Brito *et al.* (2007) e Pacheco-palencia, Hawken & Talcott (2007). No entanto, Pozo-Insfran, Brenes & Talcott (2004) identificaram a perlagonidina-3-glucosídeo em polpa de açaí e não identificaram a cianidina-3-rutinosídica. Existem divergências com relação às antocianinas específicas presentes no açaí, uma vez que também já foram identificadas cianidina-3-sambiosídeo, peonidina-3-glucosídeo e peonidina-3-rutinosídeo (LICHTENHÄLER *et al.*, 2004; SCHAUSS *et al.*, 2006; DE ROSSO *et al.*, 2005). Apenas a cianidina-3-glucosídeo foi identificada em todas as polpas oriundas de distintas regiões, confirmando a prevalência das cianidinas entre as antocianinas, tal como observado por GALVANO *et al.* (2004).

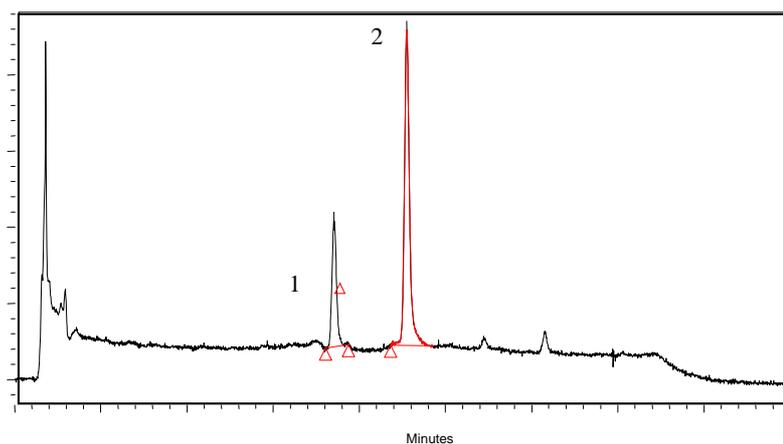


Figura 4.1 – Exemplo de um cromatograma obtido com a polpa de açaí (1: cianidina-3-glucosídeo; 2: cianidina-3-rutinosídeo).

Das antocianinas identificadas na polpa obtida com frutos maduros cultivados em Castanhal, PA, Brasil, a cianidina-3-rutinosídeo foi predominante, com 67% do total seguida da cianidina-3-glucosídeo com 26%, sendo este perfil similar ao encontrado por Schauss *et al.* (2006), com aproximadamente 60% de cianidina-3-rutinosídeo e 30% de cianidina-3-glucosídeo, e por Pacheco-palencia, Hawken & Talcott (2007), que encontraram 202,3 mg/L de cianidina-3-rutinosídeo e 75,1 mg/L de cianidina-3-glucosídeo em polpa comercial pasteurizada e congelada obtida no mercado de Los Angeles, Califórnia. Entretanto, este perfil é bastante diferente do encontrado por Pozo-Insfran, Brenes & Talcott. (2004) em polpa de açaí pasteurizada e congelada originária da Colômbia, com predominância da cianidina-3-glucosídeo (1040 mg/L) seguida da perlagonidina-3-glucosídeo (74,4 mg/L) e não identificando a cianidina-3-rutinosídeo.

Os fenólicos totais no açaí em diversos estágios de maturação (Tabela 4.2) apresentaram um perfil diferente do esperado, com menor concentração na polpa dos frutos de vez (parol) quando comparado com a polpa dos frutos verdes. Tal fato pode ser decorrente da existência de diversas classes de feonólicos com biossíntese diferenciada quanto ao estágio de desenvolvimento e maturação dos frutos. Estas classes de compostos fenólicos por sua vez apresentam poder redutor também diferenciado, o que poderia influenciar na análise. Outro fato que deve ser considerado é o fato de se ter obtido apenas um lote de polpa a partir de 9kg de frutos em cada estágio de maturação e estes provenientes de um único local de coleta. Entretanto, comportamento semelhante foi observado em quatro cultivares de mirtilo por Castrejón *et al.* (2008). O aumento nos compostos fenólicos quando os frutos apresentaram-se maduros foi observado em três dos quatro cultivares avaliados e este aumento não foi suficiente para atingir o valor inicial, sendo deste modo inferior ao do fruto verde.

O comportamento da atividade antioxidante com a maturação (Figura 4.2) foi similar ao perfil verificado para os compostos fenólicos totais (Tabela 4.2).

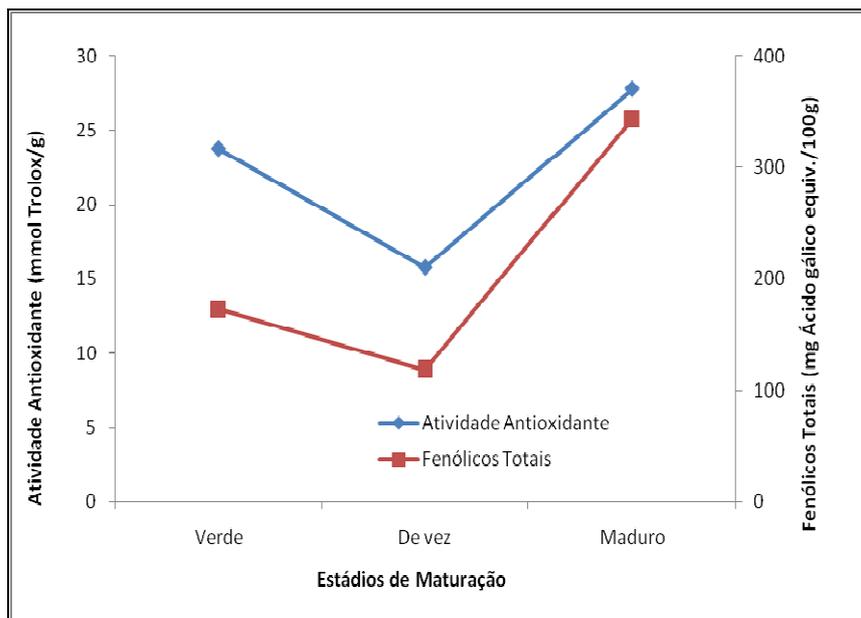


Figura 4.2 - Relação entre a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos totais do açaí em três estágios de maturação.

Apesar de a polpa verde apresentar cerca de 50% do total de fenólicos presentes na polpa madura, sua atividade antioxidante representou 85% da atividade antioxidante da polpa madura. A polpa de vez apresentou 34,5% do teor de fenólicos totais e uma atividade antioxidante de 56% da polpa madura. A razão atividade antioxidante:fenólicos totais foi similar nas polpas verde e de vez, com uma contribuição de aproximadamente 13  $\mu\text{mol}$  de Trolox equivalente por mg de fenólico, enquanto que houve uma contribuição de 8  $\mu\text{mol}$  de Trolox equivalente por mg de fenólico na polpa madura, sugerindo uma composição de fenólicos distinta e com maior poder redutor nas polpas verde e de vez. A atividade antioxidante da polpa verde é, possivelmente, oriunda apenas de compostos fenólicos não antocianínicos.

Kuskosky *et al.* (2005) avaliaram onze polpas comerciais congeladas de frutas quanto aos teores de fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e DMPD, obtendo resultados similares entre as polpas de uva e açaí quanto a estes compostos bioativos e atividade antioxidante. Entretanto, os valores encontrados destes compostos bioativos e atividade antioxidante na polpa obtida com frutos maduros do presente trabalho foram quase o triplo do obtido por Kuskosky *et al.* (2005) para a polpa comercial de açaí.

## 4.2. Extração da polpa de açaí em diferentes condições de maceração

O rendimento em polpa resultante das diferentes condições de maceração do açaí está apresentado na Tabela 4.3. Em função de ter sido conduzido apenas um experimento em cada condição, não foi possível avaliar estatisticamente a variação de rendimento. Houve pouca variação e os maiores rendimentos foram obtidos com a adição da preparação enzimática.

Tabela 4.3 - Rendimento em polpa de açaí em diferentes condições de maceração do fruto

Condições da Maceração		Rendimento em polpa (%)
Com Enzima	30°C	30,8
	35°C	35,4
	40°C	31,5
Sem Enzima	30°C	28,8
	35°C	29,8
	40°C	30,8

Apesar da pequena variação no rendimento em polpa, foram obtidos dois tipos de produtos de acordo com a classificação do MAPA (Brasil, 2000), o açaí médio e o fino, em função do teor de sólidos totais. O açaí médio (teor de sólidos totais superior a 11%) foi obtido somente nos processos onde a maceração foi realizada com enzima a 40°C, e sem enzima a 30°C (Tabela 4.4).

As polpas obtidas foram avaliadas quanto à composição centesimal e os resultados em polpa fresca estão apresentados na Tabela 4.4. As polpas obtidas sem adição de enzima não variaram quanto ao teor de sólidos solúveis, porém o valor encontrado (cerca de 2,0<sup>o</sup> Brix) foi 50% mais baixo que o da polpa madura obtida para a avaliação dos estágios de maturação, que foi de 3,0<sup>o</sup> Brix, evidenciando a variabilidade em função da procedência, condições

de obtenção e armazenamento dos frutos, bem como o tempo decorrido da colheita até o processamento.

Tabela 4.4 - Parâmetros físico-químicos das polpas de açaí obtidas em diferentes condições de maceração do fruto.

Condições	Parâmetros						
	Teor de polpa <sup>1</sup>	Sólidos totais <sup>1</sup>	Sólidos solúveis <sup>2</sup>	pH	Acidez total <sup>3</sup>	Lipídeos totais <sup>1</sup>	
Com Enzima	30°C	32,3 ± 1,6 <sup>c</sup>	9,9 ± 0,2 <sup>c</sup>	1,9 ± 0,0 <sup>b</sup>	4,9 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>c</sup>	3,8 ± 0,4 <sup>bc</sup>
	35°C	37,5 ± 1,6 <sup>b</sup>	10,2 ± 0,3 <sup>bc</sup>	2,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	4,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>b</sup>	3,3 ± 0,5 <sup>c</sup>
	40°C	41,1 ± 1,0 <sup>a</sup>	12,00 ± 0,3 <sup>a</sup>	2,9 ± 0,0 <sup>a</sup>	4,9 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	5,2 ± 0,6 <sup>a</sup>
Sem Enzima	30°C	39,5 ± 1,2 <sup>a</sup>	11,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	5,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>b</sup>	4,6 ± 0,1 <sup>ab</sup>
	35°C	37,9 ± 0,6 <sup>b</sup>	10,8 ± 0,2 <sup>b</sup>	2,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	5,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>b</sup>	4,6 ± 0,0 <sup>ab</sup>
	40°C	37,7 ± 0,7 <sup>b</sup>	10,4 ± 0,2 <sup>bc</sup>	2,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	5,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>bc</sup>	5,2 ± 0,3 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> expresso em g/100g; <sup>2</sup> expresso em °Brix; <sup>3</sup> expresso em g de ácido málico/100g; letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras com 95% de significância.

A polpa obtida com a adição de enzima a 40°C apresentou um aumento de 45% nos sólidos solúveis, que pode ser decorrência não só da atividade de hemicelulase sobre polissacarídeos, mas também de atividades residuais de amilase e β-glucosidase, comumente presentes nas preparações enzimáticas, que poderiam hidrolisar ligações β 1-4 presentes em diversos compostos como as próprias antocianinas, liberando estes sacarídeos.

Todas as polpas obtidas apresentaram pH e acidez titulável total dentro dos limites estabelecidos na legislação brasileira. As polpas sem adição de enzima apresentaram-se muito similares à polpa obtida com frutos maduros para a avaliação dos estágios de maturação.

Todas as polpas apresentaram um teor de lipídeos totais, em base seca, de acordo com a legislação, com valores variando de 32,7 a 50,4 g/100g. As polpas obtidas a 40°C não apresentaram diferença significativa quanto ao teor de lipídeos, porém foram diferentes quanto à acidez, o que pode ser decorrente

de atividade residual de esterase presente em pectinase industrial de *Aspergillus niger* (BARBE & DUBORDIEU, 1998).

Os compostos fenólicos bem como a atividade antioxidante das polpas de açaí obtidas nas diferentes condições de maceração do fruto estão apresentados na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 - Compostos fenólicos e atividade antioxidante *in vitro* das polpas de açaí obtidas em diferentes condições de maceração do fruto.

Condições	Parâmetros				
	Fenólicos totais <sup>1</sup>	Antocianinas totais <sup>2</sup>	Antocianinas monoméricas <sup>2</sup>	Atividade antioxidante (ABTS) <sup>3</sup>	
Com Enzima	30°C	229,1 ± 7,8 <sup>b</sup>	29,6 ± 3,0 <sup>b</sup>	13,6 ± 2,1 <sup>b</sup>	18,2 ± 0,6 <sup>b</sup>
	35°C	238,6 ± 17,2 <sup>b</sup>	35,0 ± 0,9 <sup>b</sup>	17,8 ± 1,0 <sup>b</sup>	19,5 ± 0,5 <sup>b</sup>
	40°C	346,2 ± 8,4 <sup>a</sup>	58,3 ± 4,6 <sup>a</sup>	34,3 ± 6,3 <sup>a</sup>	25,5 ± 1,0 <sup>a</sup>
Sem Enzima	30°C	240,0 ± 17,0 <sup>b</sup>	32,8 ± 0,4 <sup>b</sup>	14,5 ± 0,5 <sup>b</sup>	19,9 ± 1,4 <sup>b</sup>
	35°C	213,4 ± 9,4 <sup>b</sup>	30,9 ± 2,3 <sup>b</sup>	13,1 ± 2,0 <sup>b</sup>	18,4 ± 0,5 <sup>b</sup>
	40°C	228,6 ± 1,7 <sup>b</sup>	36,0 ± 0,2 <sup>b</sup>	18,3 ± 0,5 <sup>b</sup>	19,9 ± 1,1 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> expresso em mg equivalente de ácido gálico/100g; <sup>2</sup> expresso em mg equivalente de cianidina-3-glucosídeo/100g; <sup>3</sup> expresso em µmol Trolox equivalente/g.; letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras com 95% de significância.

A temperatura de maceração não teve efeito sobre a extração dos compostos fenólicos nos experimentos sem adição de enzima, como pode ser observado na Figura 4.3. Porém, a adição da preparação enzimática apresentou sinergismo com a temperatura, promovendo um aumento de 50% na extração dos fenólicos.

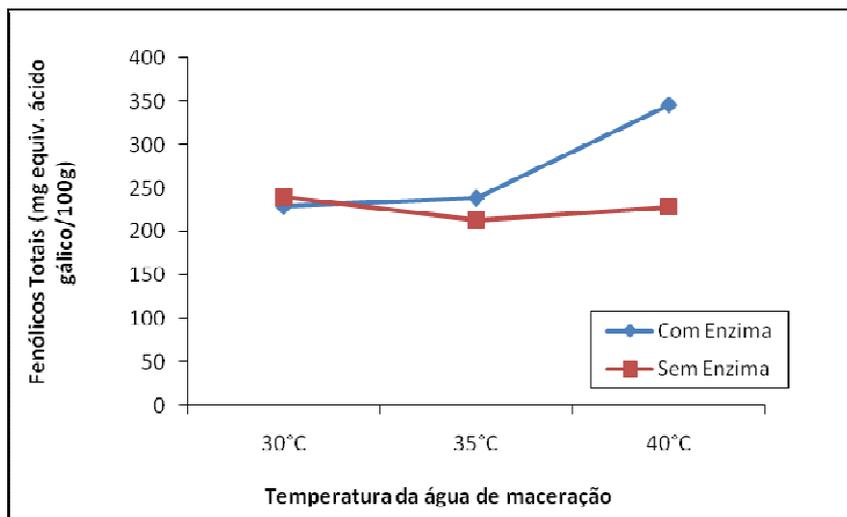


Figura 4.3 - Influência da temperatura e do tratamento enzimático durante a maceração do fruto sobre os compostos fenólicos da polpa de açaí.

Alguns compostos fenólicos como ácidos ferúlico e *p*-cumárico podem esterificar pectinas e arabinosilanas ou ainda se ligar a polissacarídeos da parede celular. As ligninas e ácidos hidróxicinâmicos podem também se ligar a componentes da parede celular (NAZCK & SHAHIDI, 2004). A maior extração de compostos fenólicos na condição com enzima a 40°C pode ser decorrente tanto da hidrólise de compostos da parede celular com liberação de fenólicos, quanto também em função do extravasamento para o meio extracelular de outros compostos fenólicos como as antocianinas.

Os frutos globulosos do açaí possuem polpa clara recoberta por uma fina casca escura, o que explica a presença de pigmentos antocianínicos (entre 30 e 60 mg/100g) em teores menores que o encontrado por Bobbio *et al.* (2000) na casca de açaí, de 263mg/100g. Como pode ser verificado na Tabela 4.5, o aumento da temperatura não foi suficiente para aumentar a extração das antocianinas. Somente a ação conjunta da preparação enzimática com a temperatura mais elevada (40°C) foi capaz de incrementar em mais de 60% a extração deste flavonóide, apresentando o mesmo comportamento que os fenólicos totais (Figura 4.4).

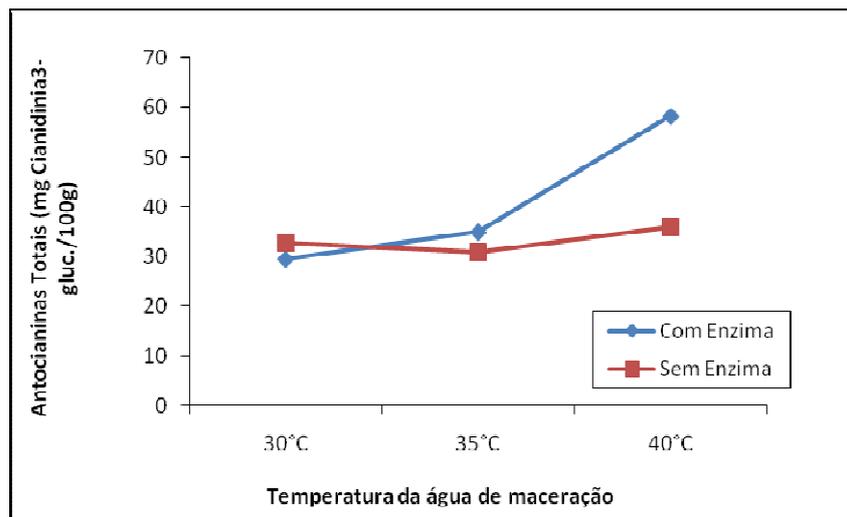


Figura 4.4 – Influência da temperatura e do tratamento enzimático durante a maceração do fruto sobre as antocianinas da polpa de açaí.

A adição da preparação enzimática influenciou na qualidade das antocianinas das polpas, aumentando a proporção de antocianinas monoméricas (Tabela 4.6). A 35°C, sem adição de enzima, esta proporção foi de 42% enquanto que com o uso da enzima foi de 51%. A 40°C, sem enzima, foi de 51% aumentando para 59% com o tratamento enzimático. Os pigmentos oligoméricos e poliméricos formados a partir das antocianinas monoméricas são mais estáveis, contudo, alteram a coloração do sistema ou produto para marrom avermelhado, diretamente através dos compostos formados, e indiretamente por contribuírem para as reações de escurecimento (PACHECO-PALENCIA, HAWKEN & TALCOTT, 2007).

No presente trabalho, foram identificadas apenas duas antocianinas nas polpas de açaí em todos os tratamentos, a cianidina-3-glicosídeo e a cianidina-3-rutinosídeo, esta com maior área cromatográfica. O perfil foi semelhante ao observado para a polpa de frutos maduros. O tratamento enzimático aumentou a extração de ambas as antocianinas, sem promover alteração no perfil, ou seja, a enzima utilizada não indicou ter afinidade distinta entre as antocianinas.

As polpas obtidas nos experimentos de extração apresentaram-se muito mais baixas em atividade antioxidante (Tabela 4.5) do que a polpa obtida com frutos maduros no experimento anterior ( $27,8 \pm 1,0 \mu\text{M}$  Trolox equivalente/g), com exceção da condição de tratamento com enzima a 40°C, confirmando a influência dos cuidados durante o cultivo, colheita e pós-colheita sobre os

compostos fenólicos do açaí. Os frutos utilizados nos experimentos de extração foram adquiridos no comércio local, sendo colhidos no dia anterior e transportados em canoas durante a noite, impactando na qualidade dos mesmos, pois estes compostos bioativos se perdem facilmente no transporte e processamento, se não forem tomadas as medidas adequadas de Boas Práticas em todas as etapas.

A preparação enzimática utilizada agiu conjuntamente com a temperatura aumentando a extração das antocianinas quando foi utilizada a temperatura de 40°C, como pode ser verificado na Tabela 4.5. Dados obtidos por Versari *et al.* (1997) apontam a manutenção do pigmento por algumas preparações enzimáticas, no início do processo (duas horas). No entanto, a tendência de degradação destes compostos foi observada em todas as condições após 6 horas de processo, variando a intensidade em função da preparação enzimática utilizada. Sugerindo, deste modo, um efeito protetor ou incremento na extração destes compostos por algumas preparações que durante pouco tempo são capazes de neutralizar o efeito destrutivo da atividade residual de  $\beta$ -glicosidase destas preparações sobre as antocianinas, formando as agliconas que são mais instáveis. Porém, neste mesmo trabalho, os autores observaram perdas significativas maiores para o suco de framboesa (19 a 21%) do que para o suco de morango (10%). Outro fato elucidado foi o caráter hidrofílico da aglicona aumentando a afinidade substrato-enzima que explicaria a menor afinidade pelas antocianinas do morango, perlagonidinas e cianidina.

A influência da temperatura e tratamento enzimático sobre os compostos bioativos assim como sobre o teor de polpa e de sólidos totais foi avaliada estatisticamente por análise de variância de dois fatores seguido do teste de Bonferroni, com um intervalo de confiança de 95% (Tabela 4.6).

Os resultados obtidos com o teste estatístico indicaram que existe influência dos fatores temperatura e tratamento enzimático para todos os parâmetros avaliados e a interação entre eles parece ter um efeito ainda maior. Para o teor de polpa e de sólidos totais, a temperatura influenciou de forma mais significativa que o uso de enzimas, enquanto que para os compostos bioativos e a atividade antioxidante ambos fatores parecem influenciar com a mesma significância.

Tabela 4.6 – Análise de variância de dois fatores dos parâmetros das polpas de açaí obtidas em diferentes condições de maceração do fruto.

Fontes de Variação		Respostas					Atividade antioxidante (ABTS)
		Teor de polpa	Sólidos totais	Fenólicos totais	Antocianinas totais	Antocianinas monoméricas	
T	% Variação	24,875	13,28	36,10	51,49	50,98	46,45
	F	13,62	15,52	49,35	76,00	32,77	32,98
	P	<b>0,0008</b>	<b>0,0005</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>
PT	% Variação	6,05	2,71	23,67	15,08	18,54	10,35
	F	8,926	6,331	64,72	44,51	23,83	14,69
	P	<b>0,0241</b>	<b>0,0271</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0004</b>	<b>0,0024</b>
I	% Variação	58,29	78,87	35,84	29,37	21,15	34,75
	F	32,07	92,18	49,00	43,35	13,59	24,67
	P	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0008</b>	<b>&lt;0,0001</b>

T – temperatura; PT – pré-tratamento e I – interação. Os valores de P <0,05, em negrito, indicam significância para uma avaliação com 95% de significância.

A etapa de maceração conduzida por 15 minutos a 40°C com adição da Rapidase TF mostrou ser a melhor condição para a obtenção de uma polpa mais rica em compostos fenólicos, apesar de ter influenciado pouco no rendimento em polpa.

### 4.3. Pré-tratamentos

O refino da polpa de açaí grosso apresentou um rendimento de 84%, sendo este muito maior que o obtido com a centrifugação, 68%. No entanto, o material retido na centrifugação, denominado neste trabalho de torta, é facilmente removido e pode ser utilizado para diversas finalidades enquanto que no refino o material fica muito aderido ao equipamento.

Na Tabela 4.7 estão apresentados os resultados obtidos com os pré-tratamentos e pode-se verificar que enquanto o refino reduziu em pouco mais de 8% os teores de polpa e de sólidos totais, a centrifugação removeu quase 90% dos sólidos em suspensão e 68% dos sólidos totais, sendo a centrifugação o pré-tratamento mais eficiente na remoção dos sólidos da polpa de açaí.

Tabela 4.7- Parâmetros físico-químicos da polpa do açaí antes e após os pré-tratamentos, refino e centrifugação.

Parâmetros	Açaí integral	Açaí refinado	Açaí centrifugado
<b>Teor de polpa (g/100g)</b>	52,3 ± 1,0 <sup>a</sup>	48,0 ± 0,7 <sup>b</sup>	5,3 ± 1,0 <sup>c</sup>
<b>Sólidos totais (g/100g)</b>	14,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	13,4 ± 0,4 <sup>b</sup>	9,9 ± 0,1 <sup>c</sup>
<b>pH</b>	4,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	4,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	4,2 ± 0,0 <sup>b</sup>
<b>Sólidos solúveis (°Brix)</b>	3,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	2,9 ± 0,0 <sup>b</sup>	2,5 ± 0,1 <sup>c</sup>
<b>Acidez (g/100g)<sup>2</sup></b>	0,3 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,3 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,0 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> Valores calculados pela diferença, de acordo com a norma AOAC, <sup>2</sup> valores expressos em ácido málico equivalente/100g, letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras com 95% de significância.

A acidez e o pH permaneceram inalterados com o refino e pouco se alteraram com a centrifugação. Porém, ambos permaneceram dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação. Quanto ao teor de sólidos solúveis, ambos pré-tratamentos praticamente não influenciaram no mesmo, reduzindo aproximadamente 8% na centrifugação e menos de 5% no refino.

O efeito dos pré-tratamentos sobre o teor de fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante do açaí estão mostrados na Tabela 4.8. Os compostos fenólicos totais quantificados não apresentaram diferença significativa entre as polpas integral e refinada, não ocorrendo o mesmo com a centrifugação.

Tabela 4.8 - Compostos fenólicos e atividade antioxidante *in vitro* da polpa do açaí antes e após os pré-tratamentos, refino e centrifugação.

Parâmetros	Açaí Integral	Açaí Refinado	Açaí Centrifugado
<b>Fenólicos Totais<sup>1</sup></b>	523,8 ± 9,5 <sup>a</sup>	488,2 ± 23,9 <sup>a</sup>	347,6 ± 11,9 <sup>b</sup>
<b>Antocianinas Totais<sup>2</sup></b>	96,2 ± 1,5 <sup>a</sup>	82,4 ± 2,9 <sup>b</sup>	45,7 ± 0,8 <sup>c</sup>
<b>Atividade Antioxidante<sup>3</sup>(ABTS)</b>	36,6 ± 2,8 <sup>a</sup>	33,5 ± 3,1 <sup>ab</sup>	22,1 ± 2,7 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> expresso em mg equivalente de ácido gálico/100g; <sup>2</sup> expresso em mg equivalente de cianidina-3-glucosídeo/100g; <sup>3</sup> expresso em µmol Trolox equivalente/g, letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras com 95% de significância.

Apesar de a centrifugação reduzir em 34% os compostos fenólicos, a polpa centrifugada apresentou-se muito similar às polpas obtidas com frutos maduros (Tabela 4.2) e com a melhor condição da etapa de maceração (Tabela 4.5). O teor de compostos fenólicos após a centrifugação é, ainda, superior ao teor de 136,8 mg/100g encontrado por Kuskosky *et al.* (2006) para uma polpa de açaí congelada comercial.

Ambos os processos de pré-tratamento testados promoveram perdas de pigmentos antociânicos, sendo, como esperado, mais acentuadas pela centrifugação, pela maior remoção de sólidos. Mesmo contendo apenas 48% das antocianinas presentes na polpa integral a polpa centrifugada apresentou teor destes pigmentos semelhante ao encontrado por Rogez (2000), em açaí médio (44 mg/100g) e por Kuskosky *et al.* (2006) em polpa comercial de amora (41,8 mg/100g). Esse teor é elevado quando comparado ao de outras polpas comerciais avaliadas por Kuskosky *et al.* (2006), como uva (30,9 mg/100g); morango (23,7 mg/100g) e ao próprio açaí (22,8 mg/100g). Estes dados

evidenciam a grande variabilidade destes compostos no açaí e a influência de diversos fatores durante os processos de obtenção da polpa sobre os mesmos.

Tanto o refino quanto a centrifugação promoveram perdas mais acentuadas no teor de antocianinas do que no de fenólicos totais, possivelmente pelas antocianinas estarem concentradas na casca, como verificado por Bobbio *et al.* (2000), ou seja, na fração insolúvel, enquanto que os fenólicos totais, que incluem outros compostos além das antocianinas, se encontram mais uniformemente distribuídos no fruto.

A centrifugação reduziu em quase 40% a atividade antioxidante, como consequência da redução tanto de antocianinas como dos demais fenólicos.

A clarificação da polpa de açaí por terra diatomácea realizada por Pacheco-palencia, Hawken & Talcott (2007) promoveu perdas de 27,1% nos fenólicos, 20,4% nas antocianinas e 18,0% sobre a atividade antioxidante, sendo estas perdas bem menores que as obtidas com a centrifugação no presente estudo. No entanto, o subproduto da centrifugação pode ser aproveitado com diferentes finalidades, enquanto que o material retido na clarificação com terra diatomácea é um resíduo propriamente dito e não pode ser aproveitado.

Apesar das pequenas perdas do refino sobre os compostos bioativos, observou-se uma intensa diminuição no fluxo de permeado logo no início do processo, seguido do aumento da pressão do sistema, inviabilizando a microfiltração do açaí até o fator volumétrico previsto para essa etapa. Portanto, a centrifugação foi o pré-tratamento escolhido para a condução dos experimentos de microfiltração.

## **4.4. Microfiltração**

### **4.4.1. Desempenho do processo**

Os experimentos de microfiltração foram conduzidos utilizando a polpa centrifugada, nos sistemas cerâmico e polimérico, a duas temperaturas, 25 e 35°C, e o fluxo de permeado foi acompanhado ao longo do processo. Como pode ser observado na Figura 4.5, o tipo de membrana teve grande influência sobre o rendimento dos processos a 25°C. O fluxo de permeado médio ao

longo do processo no sistema cerâmico foi de 81,6 L/hm<sup>2</sup>, quatro vezes o obtido no sistema polimérico 18,1 L/hm<sup>2</sup>, podendo o tempo de processo influenciar negativamente sobre os compostos bioativos da polpa, uma vez que os expõe por mais tempo ao oxigênio, temperatura e ao contato com as enzimas endógenas, polifenoloxidase e peroxidase.

Como esperado, o fluxo de permeado decaiu com o tempo de processo, em decorrência do entupimento, polarização de concentração e possível formação de uma camada gel. No sistema cerâmico a 25°C, o fluxo de permeado no final do processo atingiu 77% do fluxo médio enquanto que para o sistema polimérico, este valor foi de 66%.

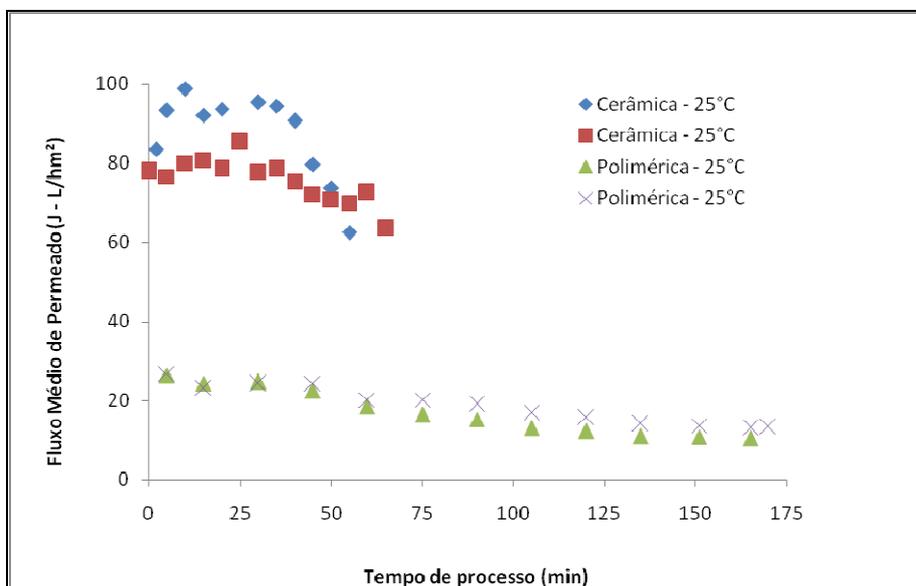


Figura 4.5 - Influência do tipo de membrana sobre o fluxo de permeado nos processos a 25°C.

Para os processos conduzidos a 35°C, o fluxo de permeado também apresentou o mesmo comportamento, em que o sistema cerâmico apresentou um fluxo médio de permeado de 117,4 L/hm<sup>2</sup> superior em mais de quatro vezes o valor de 25,3 L/hm<sup>2</sup>, verificado no sistema polimérico (Figura 4.6). No entanto, o efeito da temperatura sobre o fluxo de permeado foi de menor intensidade que o efeito do tipo de membrana. Foi observado um aumento de 40% no fluxo de permeado no sistema polimérico quando a temperatura de processamento passou de 25 para 35°C.

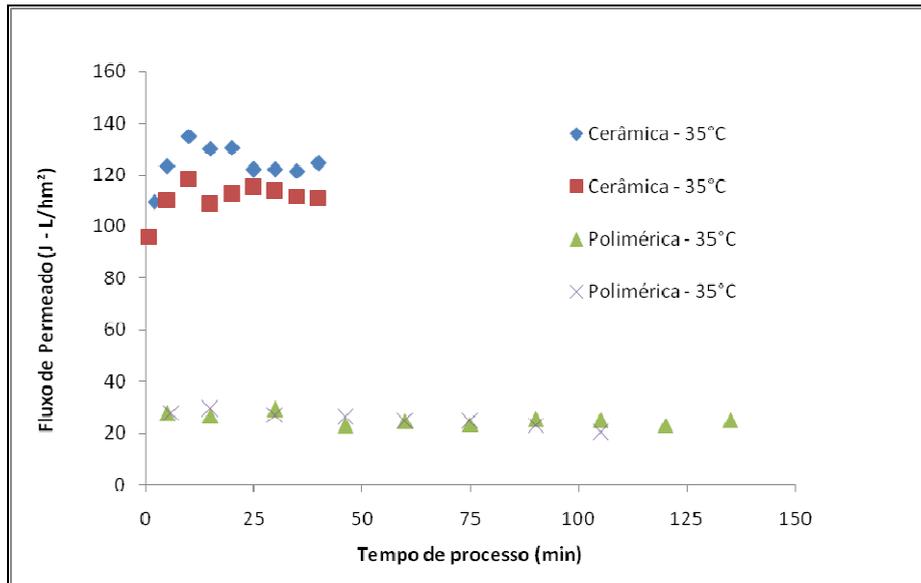


Figura 4.6 - Influência do tipo de membrana sobre o fluxo de permeado nos processos a 35°C.

Em função dos poros da membrana polimérica serem maiores que os da cerâmica e a microfiltração ser um processo de separação cuja seletividade se dá pela diferença entre o tamanho das partículas e os poros do meio permeante, era esperado um maior fluxo no sistema polimérico. No entanto, foi observado o inverso, os maiores fluxos foram atingidos no sistema cerâmico, com os menores poros. Fontes & Caminoto (2007) utilizaram apenas membranas de  $\alpha$ -alumina e também obtiveram os maiores fluxos de permeado com as membranas com poros  $0,2 \mu\text{m}$  e não com as de  $0,6 \mu\text{m}$ . O mais provável é que a polpa centrifugada tenha partículas com tamanhos superiores a  $0,1 \mu\text{m}$  e inferiores a  $0,3 \mu\text{m}$ , promovendo um entupimento mais acentuado no sistema polimérico.

Fontes & Caminoto (2007) trabalharam com a polpa de açaí refinada e diluída em torno de 17 vezes. No entanto, os maiores fluxos de permeado conseguidos com a polpa de açaí diluída ainda foram inferiores ao menor fluxo obtido neste trabalho, na membrana polimérica a  $25^\circ\text{C}$  ( $18,1 \text{ L/hm}^2$ ), o que evidencia que a centrifugação utilizada como pré-tratamento é mais eficiente que a redução na concentração de sólidos pela diluição.

#### 4.4.2. Avaliação das frações obtidas

Os parâmetros físico-químicos das frações de açaí alimentado ao sistema, permeado (suco clarificado) e retido estão apresentados nas Tabelas 4.9 e 4.10

Mesmo sendo utilizada uma única polpa centrifugada e homogeneizada, as características da alimentação variaram, em função não só do tempo de congelamento a que foi submetida à polpa, mas também em decorrência da estabilização do sistema antes da retirada da amostra. Com o intuito de minimizar estas interferências, a fração alimentação foi normalizada e as demais foram recalculadas a partir da porcentagem inicial de cada parâmetro.

Os parâmetros físico-químicos dos sucos clarificados obtidos (Tabela 4.9) não variaram significativamente com os fatores avaliados, temperatura e tipo de membrana.

Considerando-se o suco clarificado, a microfiltração reduziu os sólidos totais da polpa de açaí em 76% e os sólidos solúveis em 32%. Apesar de a acidez ter sido reduzida em 30%, o pH não se alterou com a microfiltração.

Tabela 4.9 - Parâmetros físico-químicos do suco de açaí clarificado por microfiltração.

Parâmetros	Suco clarificado				
	Polpa de açaí	Membrana cerâmica		Membrana polimérica	
		25°C	35°C	25°C	35°C
<b>Sólidos totais (g/100g)</b>	8,5 ± 0,5	2,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,0 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>pH</b>	4,5 ± 0,0	4,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,0 <sup>a</sup>	4,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	4,6 ± 0,3 <sup>a</sup>
<b>Sólidos solúveis (°Brix)</b>	3,6 ± 0,2	2,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,0 <sup>a</sup>	2,4 ± 0,4 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>Acidez (g/100g)<sup>1</sup></b>	0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,19 ± 0,0 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> valores expressos em ácido málico equivalente/100g; letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras com 95% de significância.

O teor de sólidos totais da fração retida também não diferiu significativamente nem em função da temperatura nem do tipo de membrana.

Foram observadas diferenças significativas quanto ao teor de polpa, porém sem uma correlação com os fatores avaliados, o que poderia ser atribuído ao elevado teor de lipídeos presente nestas frações os quais formam uma camada na superfície do tubo, muitas vezes não removida por completo, podendo ter influenciado nos resultados.

Tabela 4.10 - Parâmetros físico-químicos da fração retida do açaí durante a sua microfiltração.

Parâmetros	Fração retida				
	Polpa de açaí	Membrana cerâmica		Membrana polimérica	
		25°C	35°C	25°C	35°C
<b>Teor de Polpa (g/100g)</b>	17,2 ± 2,2	35,4 ± 1,8 <sup>c</sup>	40,7 ± 1,9 <sup>b</sup>	45,8 ± 2,3 <sup>a</sup>	31,1 ± 0,7 <sup>d</sup>
<b>Sólidos Totais (g/100g)</b>	8,5 ± 0,5	15,1 ± 0,8 <sup>a</sup>	14,3 ± 0,8 <sup>a</sup>	15,1 ± 1,0 <sup>a</sup>	14,4 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>pH</b>	4,2 ± 0,0	4,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,3 ± 0,0 <sup>a</sup>	4,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	4,6 ± 0,3 <sup>a</sup>
<b>Sólidos solúveis (°Brix)</b>	3,6 ± 0,2	4,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	4,8 ± 0,2 <sup>a</sup>	4,7 ± 0,3 <sup>ab</sup>	4,7 ± 0,2 <sup>ab</sup>
<b>Acidez (g/100g)<sup>1</sup></b>	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0 <sup>a</sup>			

<sup>1</sup> valores expressos em ácido málico equivalente/100g letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras com 95% de significância.

A fração retida apresentou um aumento de 70% no teor de sólidos totais, não sendo verificado o mesmo incremento para os sólidos solúveis, os quais aumentaram aproximadamente 28%. No entanto, a fração retida atende à legislação brasileira quanto ao pH, acidez e teor de sólidos totais que a classifica como *açaí grosso*, podendo ser introduzida para a obtenção de outros produtos alimentícios derivados de açaí (BRASIL, 2000).

O tipo de membrana teve influência sobre as antocianinas totais e avaliação estatística indicou uma tendência da interação com a temperatura (P=0,0741).

(Tabela 4.11). Os processos conduzidos no sistema cerâmico promoveram uma retenção média de 32% das antocianinas totais enquanto que no polimérico a retenção foi de 24%.

Tabela 4.11 - Compostos fenólicos e atividade antioxidante *in vitro* do suco de açaí clarificado por microfiltração.

Parâmetros	Suco clarificado				
	Polpa de açaí	Membrana cerâmica		Membrana polimérica	
		25°C	35°C	25°C	35°C
<b>Fenólicos Totais<sup>1</sup></b>	331,3 ± 19,5	141,5 ± 10,3 <sup>a</sup>	146,1 ± 1,9 <sup>a</sup>	129,4 ± 15,4 <sup>a</sup>	137,0 ± 9,1 <sup>a</sup>
<b>Antocianinas Totais<sup>2</sup></b>	58,0 ± 3,2	18,9 ± 1,9 <sup>a</sup>	17,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	14,0 ± 0,3 <sup>b</sup>	14,5 ± 1,2 <sup>b</sup>
<b>Antocianinas Monoméricas<sup>2</sup></b>	33,2 ± 3,3	12,4 ± 1,6 <sup>a</sup>	11,2 ± 0,2 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,3 <sup>b</sup>	8,7 ± 0,6 <sup>b</sup>
<b>Atividade Antioxidante (ABTS)<sup>3</sup></b>	23,7 ± 2,5	9,9 ± 0,8 <sup>a</sup>	9,7 ± 0,8 <sup>a</sup>	9,5 ± 0,6 <sup>ab</sup>	8,4 ± 0,9 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> expresso em mg equivalente de ácido gálico/100g; <sup>2</sup> expresso em mg equivalente de cianidina-3-glucosídeo/100g; <sup>3</sup> expresso em µmol Trolox equivalente/g; letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras com 95% de significância.

Apesar de as antocianinas monoméricas serem mais sensíveis à degradação, por não estarem estabilizadas por interações com outros compostos, estas apresentaram um comportamento muito similar ao das totais, com uma retenção de quase 36% no sistema cerâmico e 25% no polimérico. Contudo, a avaliação estatística indicou influência não só do tipo de membrana ( $P < 0,0001$ ), mas também da interação com a temperatura ( $P = 0,0126$ ) sobre as antocianinas monoméricas.

Como esperado, a atividade antioxidante também sofreu influência do tipo de membrana ( $P = 0,0138$ ) e foi verificada a tendência de influência da temperatura ( $P = 0,0530$ ), pois os compostos responsáveis por esta capacidade

sofreram influência desses fatores. A média da atividade antioxidante dos sucos clarificados foi de 9,4  $\mu\text{mol}$  Trolox equivalente/g (6 minutos), valor superior aos 6,9  $\mu\text{mol}$  Trolox equivalente/g (30 minutos) encontrado por Kuskosky (2006) na polpa congelada de açaí, e bem inferior aos 44,5  $\mu\text{mol}$  Trolox equivalente/mL quantificado no suco clarificado com terra diatomácea, sugerindo que, além das perdas por processamento observadas por Pacheco-palencia, Hawken & Talcott (2007), existem diferenças de qualidade nas próprias polpas integrais não processadas.

Os dados apresentados na Tabela 4.11 indicam que a temperatura de 35°C no processo conduzido no sistema polimérico foi pior para a manutenção dos compostos bioativos no suco clarificado, sendo as demais condições similares entre si.

As frações retidas foram avaliadas quanto aos teores dos compostos bioativos e atividade antioxidante (Tabela 4.12), pois, como já mencionado, as mesmas podem ser utilizadas como matéria prima para diferentes produtos.

Tabela 4.12 - Compostos fenólicos e atividade antioxidante *in vitro* da fração retida do açaí durante a sua microfiltração.

Parâmetros	Fração retida				
	Polpa de açaí	Membrana cerâmica		Membrana polimérica	
		25°C	35°C	25°C	35°C
<b>Fenólicos Totais<sup>1</sup></b>	331,3 $\pm$ 19,5	425,8 $\pm$ 22,5 <sup>a</sup>	426,6 $\pm$ 9,7 <sup>a</sup>	449,8 $\pm$ 16,8 <sup>a</sup>	428,5 $\pm$ 19,9 <sup>a</sup>
<b>Antocianinas Totais<sup>2</sup></b>	58,0 $\pm$ 3,2	76,2 $\pm$ 3,5 <sup>ab</sup>	70,3 $\pm$ 2,0 <sup>b</sup>	80,4 $\pm$ 10,5 <sup>a</sup>	73,3 $\pm$ 3,8 <sup>ab</sup>
<b>Antocianinas Monoméricas<sup>2</sup></b>	33,2 $\pm$ 3,3	39,7 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>	35,6 $\pm$ 2,0 <sup>ab</sup>	42,8 $\pm$ 8,7 <sup>a</sup>	35,0 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup>
<b>Atividade Antioxidante (ABTS)<sup>3</sup></b>	23,7 $\pm$ 2,5	31,2 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	31,3 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	31,3 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>	31,2 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> expresso em mg equivalente de ácido gálico/100g; <sup>2</sup> expresso em mg equivalente de cianidina-3-glucosídeo/100g; <sup>3</sup> expresso em  $\mu\text{mol}$  Trolox equivalente/g; letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as

amostras com 95% de significância.

Assim como observado para os sucos clarificados, os fenólicos totais não sofreram influência de nenhum dos fatores avaliados, apenas uma tendência ( $P=0,0908$ ) quanto ao tipo de membrana. O fator de concentração dos fenólicos totais foi de 1,3 abaixo do fator 2 de concentração volumétrica. Mesmo com a injeção de nitrogênio gasoso para diminuir a oxidação destes compostos, foram observadas perdas que podem ser atribuídas às enzimas endógenas, polifenoloxidase e peroxidase.

Diferentemente do verificado para o suco clarificado, na fração retida as antocianinas totais apresentaram uma retenção média de 32%, no sistema polimérico, enquanto que para o sistema cerâmico a retenção foi de 26%, sendo o sistema cerâmico a 35°C a pior condição para a retenção das antocianinas. O fator de concentração para as antocianinas foi o mesmo obtido para os fenólicos, aproximadamente 1,3.

A análise de variância indicou a influência da temperatura sobre a estabilidade das antocianinas monoméricas, que apresentaram o fator de concentração mais baixo, provavelmente por ser o composto menos estável e facilmente degradado por enzimas, temperatura, luz e oxigênio dentre outros.

Apesar de diferenças significativas nos teores de antocianinas totais e monoméricas, estas não foram suficientes para alterar a capacidade antioxidante das frações retidas, que não apresentaram diferença significativa entre as diferentes condições de processo.

O balanço de massa de cada processo é um dado importante que indica perdas (Tabela 4.13) e, portanto, pode auxiliar na identificação da melhor ou pior condição estudada. A análise de variância de dois fatores e o teste de Bonferroni aplicados às perdas de processos dos compostos bioativos indicaram interação entre os fatores e influência da temperatura somente para as antocianinas totais, indicando o processo no sistema polimérico a 35°C o que provocou a maior perda. Contudo esta perda de antocianinas não foi suficiente para afetar a atividade antioxidante.

Uma vez que as frações permeada (suco clarificado) e retida podem ser utilizadas como produtos ou ingredientes, a condição de processo ideal seria a

de menor perda dos compostos bioativos aliada à manutenção destes nas duas frações e ao rendimento do processo, determinado pelo fluxo de permeado.

Tabela 4.13 - Perdas dos compostos fenólicos e atividade antioxidante *in vitro* em função dos processos de microfiltração.

Parâmetros	Perdas nos processos			
	Membrana cerâmica		Membrana polimérica	
	25°C	35°C	25°C	35°C
<b>Fenólicos totais</b>	15%	14%	13%	15%
<b>Antocianinas totais</b>	19%	24%	19%	24%
<b>Antocianinas monoméricas</b>	24%	30%	24%	34%
<b>Atividade antioxidante (ABTS)</b>	14%	14%	14%	16%

Avaliando-se os resultados para os teores dos compostos bioativos e para a atividade antioxidante, verifica-se que o processo com a membrana polimérica a 35°C foi o que mais afetou as características das duas frações e que nas demais condições, as perdas foram similares.

Desta forma, a avaliação do rendimento do processo foi o parâmetro determinante, pelo qual se observou que a melhor condição, dentre os fatores estudados, foi a microfiltração do açaí em membranas cerâmicas a 35°C.

## 5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

A polpa do açaí verde apresentou teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante superiores aos obtidos na polpa de frutos de vez e inferiores aos obtidos com os frutos maduros.

As antocianinas do açaí somente começaram a ser produzidas e armazenadas após o fruto estar totalmente desenvolvido, entre a metade o e final da maturação.

O uso da preparação enzimática RapidaseTF a 40°C, durante a etapa de maceração, aumentou a extração dos compostos fenólicos analisados, em 50% para os compostos fenólicos totais e em 60% para a classe das antocianinas, em relação à polpa obtida também a 40°C porém sem a adição da preparação enzimática.

A centrifugação da polpa de açaí como etapa de pré-tratamento mostrou-se eficiente para a condução da microfiltração, por reduzir em 90% os sólidos totais e em 68% o teor de polpa. Por outro lado, houve redução dos fenólicos totais em 34%, das antocianinas em 53% e da atividade antioxidante em 40%, o que, no entanto, não comprometeu a qualidade do produto em função dos teores consideráveis destes compostos no açaí centrifugado.

A temperatura de processo e o tipo de membrana utilizada na microfiltração da polpa de açaí centrifugada não influenciaram significativamente nos teores de compostos fenólicos e na atividade antioxidante das duas frações obtidas, com exceção do processo realizado em membrana polimérica a 35°C. O fluxo de permeado, por sua vez, foi fortemente afetado pela temperatura e pelo tipo de membrana utilizada, atingindo o maior valor médio com a membrana cerâmica a 35°C.

A microfiltração mostrou-se eficiente para a clarificação da polpa de açaí e ainda permitiu a obtenção de uma segunda fração, a retida. As frações obtidas apresentaram características distintas, porém igualmente ricas, tanto em relação à composição das mesmas como em relação ao potencial de aplicação industrial.

Os resultados obtidos no presente trabalho confirmam a potencialidade do açaí em termos de composição, bem como a viabilidade técnica da aplicação de novos processos na cadeia de processamento do açaí.

Diante dos resultados obtidos, sugere-se:

- Otimização do tratamento enzimático durante a etapa de maceração, aliando maior rendimento e maior qualidade da polpa, possibilitando a realização de um estudo de pré-viabilidade econômica da introdução deste tratamento na obtenção da polpa de açaí.
- Aproveitamento da torta obtida na etapa de centrifugação da polpa para o desenvolvimento de novos produtos e como matéria prima para a extração de compostos de interesse.
- Condução de processos de microfiltração da polpa do açaí em sistema de batelada alimentada e com diferentes fatores de concentração volumétrica.
- Avaliação microbiológica das frações obtidas durante a microfiltração.
- Uso das duas frações obtidas na microfiltração do açaí, retida e suco clarificado, no desenvolvimento de novos produtos. O suco clarificado poderia ser utilizado como base para geléias finas, repositores de sais, refrigerantes e a fração retida, em produtos tais como néctares prontos para o consumo, iogurtes, recheios e sorvetes.

- Avaliação da viabilidade econômica do uso da tecnologia de membranas no processamento integrado do açaí.

## 6. BIBLIOGRAFIA

1. ALEXANDRE, D.; CUNHA, R. L. & HUBINGER, M. D. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24 n. 1, p. 114-119, 2004.
2. ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; SAURA-CALIXTO, F. D.; RUFINO, M. S. M.; PÉREZ-JIMENEZ, J. Compostos com propriedades funcionais em frutas. **II Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita**, p. 179 – 187, 2007.
3. ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, p. 419-421, 2000.
4. ARRUDA, G. Suco de uva toma lugar do vinho de mesa nas vinícolas. **Gazeta Mercantil**, 17 mar. 2008, Caderno C. Disponível em: <<http://indexet.gazetamercantil.com.br/arquivo/2008/03/17/76/Suco-de-uva-toma-lugar-do-vinho-de-mesa-nas-vinicolas.html>>. Acesso em: 7 ago. 2008
5. ARUOMA, O. I. Methodological considerations for characterizing potencial antioxidant actions of bioactive components in plant foods review **Mutation Research**, v. 523-524, p.9-20, 2003.
6. BARBE, C. & DUBORDIEU, D. Characterisation and Purification of Cinnamate Esterase from *Aspergillus niger* Industrial Pectinase Preparation, **J. Sci. Food Agric.**, v.78, p. 471-478, 1998.
7. BARTOSZ, G.; JANASZEWSKA, A.; ERTEL, D. & BARTOSZ, M. Simple determination of peroxy radical trapping capacity. **Biochemistry and Molecular Biology Intern.**, v.46 n.3, p. 519 – 528, 1998.
8. BECKER, E. M.; NISSEN, L. R. & SKIBSTED, L. H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects review. **Eur. Food. Res. Technol.**, v. 219, p. 561-571, 2004.
9. BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A.; OLIVEIRA, P. A. & FADELLI, S. Stability and satbailization of the antocyanins from *Euterpe oleracea*, Mart. **Acta Alimentaria**, v.34 n.4, p. 371-377, 2002.
10. BOBBIO, F. O.; DRUZIAN, J. I.; ABRAO, P. A.; BOBBIO, P. A. & FADELLI, S. Identification and quantification of the anthocyanins from the fruit

of acai (*Euterpe oleracea* Mart.) **Ciencia-e-Tecnologia-de-Alimentos**, v. 20 (3), p. 388-390, 2000.

11. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E. & BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. – Wiss. u. – Technol.**, v. 28, p. 25 – 30, 1995.

12. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 01, de 07 de janeiro de 2000. Aprova o regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2000. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=7777> Acesso em 20 jan. 2007.

13. BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, metabolism and nutritional significance **Nutritional Reviews**, v.56 n. 11, p. 317-333, 1998.

14. BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York, New York: Academic Press, 1982. 181 p.

15. CARNEIRO, L.; SA, I.S.; GOMES, F. S.; MATTA, V. M. & CABRAL, L.M. C. Cold sterilization and clarification of pineapple juice by tangential microfiltration **Desalination**, v. 148, p. 93-98, 2002.

16. CASANO, A.; DRIOLI, E.; GALAVERNA G.; MARCHELLI, R.; DI SILVESTRO G. & CAGNASSO, P. Clarification and concentration of citrus and carrot juices by integrated membrane processes **Journal of Food Engineering**, v. 57, p. 153 – 163, 2003.

17. CASTREJÓN, A. J. D. R.; EICHHOLZ, I.; ROHN, S.; KROH, L. & HUYSKENS-KEIL, S. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*, L.) **Food Chemistry**, v. 109, p. 564-572, 2008.

18. CEVALLOS-CASALS, B. A. & CÍSNEROS-ZEVALLOS, L. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-flesh sweet potato compared to synthetic and natural colorants **Food Chemistry**, v. 86, p. 69-77, 2004.

19. CÓRDOVA-FRAGA T.; DE ARAÚJO, D.B.; SANCHEZ, T.A.; ELIAS, J;

JR. A. A. O.; BRANDT-OLIVEIRA, R.; SOSA, M. AND O. BAFFA. Euterpe oleracea (Açaí) as an alternative oral contrast agent in MRI of the gastrointestinal system: preliminary results. **Magnetic Resonance Imaging**, v. 22, p. 389-393, 2004.

20. CHENG, G. W. & BREEN, P. J. Activity of phenilalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit **J. Amer. Soc. Hort. Sci.**, v. 116 n° 5, p. 865-869, 1991.

21. CHERYAN, M. **Ultrafiltration and Microfiltration Handbook**. Lancaster: Technomic Publishing Company, 1998, 527 p.

22. CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 81, 0. 223S-229S, 2005.

23. CHITARRA, M. I. F. & CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. UFLA, Lavras, 2005, p. 785.

24. COHEN, K.O.; CHISTÉ, R.C.; MATTIETTO, R.A.; PAES, N.S.; OLIVEIRA, M.S.P. & DE SOUZA, H.A.L. Caracterização físico-química da polpa de açaí oriunda de cultivares de açazeiro BRS- Pará- Belém em diferentes meses de coleta. In: 7º Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 2007. Campinas. **7º Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 2007**.

25. COÏSSON, J.D.; TRAVAGLIA, F.; PIANA, G.; CAPASSO, M. & ARLORIO, M. *Euterpe oleracea* juice as a functional pigment for yogurt **Food Research International**, v.38, p. 893–897, 2005.

26. COLTATE, T. P., FROZAN *et al.* (Trad.) **Alimentos: A química de seus componentes**, 3ª ed., Ed. Artmed, Porto Alegre, 2004.

27. CONSTANT, P. B. Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea*, M.). **UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**, p. 112, 2003.

28. CÓRDOVA-FRAGA, T.; DE ARAÚJO, D. B.; SANCHEZ, T. A.; ELIAS, J ; Jr. A. A. O.; BRANDT-OLIVEIRA, R.; SOSA, M. & BAFFA, O. *Euterpe oleracea* (Açaí) as na alternative oral contrast agent in MRI of the gastrointestinal system: preliminary results **Magnetic Resonance Imaging**, v.22; p. 389-293, 2004.

29. DE BRITO, E. S.; DE ARAÚJO, M. C. P.; ALVES, R. E.; CARKEET,

C.; CLEVIDENCE, B. A. & NOVOTNY, J. A. Anthocyanins present in selected tropical fruits: Acerola, Jambolão, Jussara and Guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 9389-9394, 2007.

30. ESPERANCINI, M. S. T. Mercado brasileiro de bebidas. In: FILHO, V. G. W. (Ed.), Tecnologia de Bebidas matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação, mercado. Botucatu, SP: Editora Edgard Blücher, 1ª ed. 2005, p.21-50.

31. FONTES, S. R. & CAMINOTO, K. B. S. Microfiltração tangencial aplicada ao suco de açaí **VI CONGRESSO ÍBERO-AMERICANO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE MEMBRANAS**, 2007.

32. FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York, New York: Academic Press, 1982. 181 p.

33. FRANCIS, F. J. Pigmentos y otros colorantes. In: FENNEMA, O. R. (Ed.) **Química de los alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1993. p. 615 – 657.

34. FULEKI, T. & FRANCIS, F.J. Quantitative methods for anthocyanins 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries, **Journal of Food Science**, v.33, p. 72-77, 1968.

35. FULEKI, T. & FRANCIS, F.J. Quantitative methods for anthocyanins 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice, **Journal of Food Science**, v.33, p. 78-83, 1968.

36. GALVANO, F.; FAUCI, L.; LAZZARINO, G.; FOGLIANO, V.; RITIENI, A.; CIAPPELLANO, S.; BATTISTINI, N. C.; TAVAZZI, B. & GALVANO, G. Cyanidins: metabolism and biological properties **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 15, p. 2-11, 2004.

37. Galori, S.; Bilia, A. R.; Bergonzi, M. C.; Barbosa, W. L. R. and F. F. Vincieri. 2004. Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí palm). *Chromatographia*. 59 (11/12):739-743.

38. GAO, L. & MAZZA, G. Characterization, quantification, and distribution of anthocyanins and colorless phenolics in sweet cherries. **Journal Agric. Food Chem.**, v. 43, p. 343 – 346, 1995.

39. GEORGÉ, S.; BRAT, P; ALTER, P. & AMIOT, M.J. Rapid

determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1370-1373, 2005.

40. GIUSTI, M. M. & WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In WROLSTAD, R. E. (Ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: Wiley, 2001.

41. GRISEBACH, H. Biosynthesis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York, New York: Academic Press, 1982. 181 p.

42. HABERT, A. C., BORGES, C. & NOBREGA, R. **Processos de Separação com membranas**. E-pappers, 2006, p. 180.

43. HOMMA, A. K. O. & FRAZÃO, D. A. C. O despertar da fruticultura Amazônica in: **Fruticultura em revista**, Belém – PA, p. 16-20, nov. 2002.

44. HOUBIERS, C.; LIMA, J. C.; MAÇANITA, A. L. & SANTOS, H. Color Stabilization of malvidin 3-glucoside: self-aggregation of flavylum cation and copigmentation with Z-Chalcone form **J. Phys. Chem. B.**, v.102, p.3578-3585, 1998.

45. HUANG, D.; OU, B. & PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays – review **Journal Agric. Food Chem.**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

46. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. São Paulo, 1985.

47. JIAO, B.; CASSANO, A. & DRIOLI, E. Recent advances on membrane processes for the concentration of fruit juices: a review **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 303–324, 2004.

48. KLOPOTEK, Y.; OTTO, K. e BÖHM, V. Processing strawberries to different products alters contents of vitamin C, Total Phenolics, Total Anthocyanins, and Antioxidant Capacity **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5640-5646, 2005.

49. KROKNAI, B.; CSANÁDI, Z.; GUBCZOA, L. & BÉLAFI-BAKÓ, K. Preservation of antioxidant capacity and flux enhancement in concentration of red fruit juices by membrane processes. **Desalination**, v.228, p. 295-301, 2008.

50. LICHTENTH ALER1,R.; RODRIGUES, R. B.; MAIA, J. G. S.;

PAPAGIANNOPOULOS, M.; FABRICIUS, H. & MARX, F. Total oxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea*, Mart. (Açaí) fruits **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.56 (1), p. 53- 64, 2005.

51. LONGO, L.; SCARDINO, A. & VASAPOLLO, G. Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. **Inovative Food Science and Emerging Technologies**, v. XXXX 2007.

52. LU, Z.; NIE, G.; BELTON, P. S.; TANG, H. & ZHAO, B. Structure–activity relationship analysis of antioxidant ability and neuroprotective effect of gallic acid derivatives **Neurochemistry International** v.48 p.263–274, 2006.

53. MAGALHÃES, M. P.; GOMES, F. S.; MODESTA, R. C. D.; MATTA, V. M. & CABRAL, L. M. C. Conservação da água de coco verde por filtração em membrana. **Ciência e Tecnologia Aliment.**, v. 25 n. 1, p. 72-75, 2005.

54. MALIEN-AUBERT, C.; DANGELS, O. & AMIOT, J. Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra and intermolecular copigmentation. **J. Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 170-176, 2001.

55. MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C. and JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 79, p. 727-747, 2004.

56. MANHITA, A. C.; TEIXEIRA, D. M.; COSTA, C. T. Application of sample disruption methods in the extraction of anthocyanins from solid or semi-solid vegetables samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1129, p. 14 – 20, 2006.

57. MARKIS, P. Stability of anthocyanins in food In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York, New York: Academic Press, 1982. 181 p.

58. MATTA, V. M. Estudo da utilização dos processos de separação por membranas para a obtenção de suco de acerola clarificado e concentrado, **Universidade Estadual de Campinas Faculdade de Engenharia de Alimentos – Departamento de Tecnologia de Alimentos**, p. 182, 1999.

59. MATTA, V. M., MORETI, R. H. e CABRAL, L. M. C. Microfiltration and reverse osmosis for clarification and concentration of acerola juice **Journal of**

**Food Engineering**, v. 61, p. 477-482, 2004.

60. MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C. & MORETTI, R. H. Clarification of acerola juice by enzymatic treatment and microfiltration. **Alimentaria**, p.127 - 130, 2000.

61. MAZZA, G. & BROUILLARD, R. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solution. **Phytochemistry**, v. 29 n.4, p. 1097-1102, 1990.

62. MC CALLUM, J. L.; YANG, R.; YOUNG, C.; STROMMER, J. N.; TSAO, R. Improved high performance liquid chromatographic separation of anthocyanins compounds from grapes using a novel mixed-mode ion-exchange reversed-phase column. **Journal of Chromatography A**, v. 1148, p. 38 – 45, 2007.

63. MENEZES, E. M. S. Efeito da alta pressão hidrostática em polpa de açaí pré-congelada (*Euterpe oleracea*, Mart.). **UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO – INSTITUO DE TECNOLOGIA**, p. 83, 2005.

64. MONTEIRO, S. Açaí de fruta exótica a vedete de consumo **Frutas & Derivados**, ano 1, Ed. 2, p. 29-32, jun.2006.

65. MTHIZ-MIRET, N.; VAMOS, R.; HIRAOKA, M.; MONTAGNINI, F.; MENDELSON, R. O. The economic value of managing the açaí palm (*Euterpe oleracea*, Mart.) in the floodplains of the Amazon estuary, Par& Brazil **Forest Ecology and Management** v.87, p. 163- 173, 1996.

66. NASCIMENTO, R. J. S; COURI, S.; ANTONIASSI, R. & FREITAS, S. P. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e hexano. **Revista Bras. Frutic.**, v.30 n.2, p. 498-5002, 2008.

67. NOGUEIRA, O. L.; FIGUEIRÊDO, F. J. C. e MÜLLER, A. A.(Ed.) **Açaí**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2005. 137 p. (Embrapa Amazônia Oriental, Sistemas de Produção, 4).

68. OLIVEIRA JUNIOR, M. E. de; MANICA, I. **Principais países produtores de frutas no ano de 2005**. 15 dez. 2006. Disponível em: <[http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra\\_conteudo.asp?conteudo=14442](http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=14442)>. Acesso em: 7 ago. 2008.

69. OSAWA, Y. Copigmentation of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York, New York: Academic Press, 1982. 181

p.

70. PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P. AND TALCOTT, S. T. Juice matrix composition and ascorbic acid fortification affects on the phytochemical, antioxidant and pigment stability of *açaí* (*Euterpe oleracea* Mart.) **Food Chemistry**, v. 105, p. 28 - 35, 2007.

71. PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P. AND TALCOTT, S. T. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of *açaí* (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage **Food Research International**, v. 40, p. 620 – 628, 2007.

72. PALACIO, D. N. M. Concentração do suco clarificado de *açaí* por osmose inversa. **UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – ESCOLA DE QUÍMICA**, 73, 2008.

73. PATIL, G. e RAGHAVARAO, K. S. M. S. Integrated membrane process for concentration of anthocyanin **Journal of Food Engineering**, v. 78, 1233 – 1239, 2007.

74. PENHA, Edmar das Mercês, MATTA, V. M., BRAGA, N. C. A. S., CABRAL, L. M. C., MODESTA, R. C. D., FREITAS, S. C. Utilização do retentado da ultrafiltração do suco de acerola na elaboração de licor. Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. , v.19, p.267 - 276, 2001.

75. PORTER, M. C. Microfiltration In: PORTER, M. C (Ed) **Handbook of industrial membrane technology**. New Jersey, Noyes Publications, 1990, p. 62 – 135.

76. POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H. e TALCOTT, S. T. Phytochemical Composition and Pigment Stability of *Açaí* (*Euterpe oleracea* Mart.) **Journal of Food Chem.**, v. 52, p. 1539-1545, 2004.

77. RAMONA LICHTENTHALER Optimisation of the Total Oxidant Scavenging Capacity Assay and Application on *Euterpe Oleracea* Mart. (*Açaí*) Pulp and Seeds

78. RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M. and RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay **Free Radical Biology & Medicine**, Vol. 26, n<sup>os</sup> 9/10, p. 1231–1237, 1999.

79. REED, B.J., HENDRIX JR., C.M., HENDRIX, D.L. **Quality Control for Citrus Processing Plants**. 1986, Florida: Intercit, v1.
80. REYES, L. F. and CÍSNEROS-ZEVALLOS, L. Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple and red-flesh potatoes (*Solanum tuberosum L.*) **Food Chemistry**, v. 100, p. 885-894, 2007.
81. RHODES, M. J. C. Physiologically-active compounds in plant foods: an overview **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 55, p. 371-397, 1996.
82. RODRIGUEZ-SANOVA, L. E.; GIUSTI, M.M. & WROLSTAD, R. E. Color and Pigment stability of red radish and red-fleshed potato anthocyanins in juice model systems. **Journal of Food Science**, v. 64 n.3, p. 451-456, 1999.
83. ROGEZ, H. **Açaí: Preparo, Composição e Melhoramento da conservação**, EDUFPA, 2000. 288p.
84. RUFINO, M. S.M *et al.* Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical ABTS<sup>•+</sup>. **Comunicado Técnico (Embrapa Agroindústria Tropical)**,2007RUFINO
85. SANABRIA, N. & SANGRONIS, E. Caracterización del açaí o manaca (*Euterpe oleracea*, Mart.): um fruto del Amazonas. **Archivos Latinoamericanos de nutrición**, v.57 n.1, p. 1-6, 2007.
86. SCANDALIO, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defense (review). **Brazilian Journal of Medicine and Biological Research**, v. 38, p. 995-1014, 2005.
87. SCHAUSS, A. G.; WU, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; PATEL, D.; HUANG, D & KABABICK, J. P. Phytochemical and nutrient composition of freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea*, Mart. (Açaí) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 8598-8603, 2006.
88. SHADHIDI, F. e NACZK, M. **Food phenolics sources, chemistry, effects, applications**. Lancaster, Pennsylvania. Technomic Publishing Company Co. 1995. 331 p.
89. SHADHIDI, F. e NACZK, M. Extration and analysis of phenolics in food review **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95-111, 2004.
90. SILVA, F. T., JARDINE, J. G. & MATTA, V. M. Concentração de suco de laranja (*Citrus sinensis*) por osmose inversa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. , v.18, p.99 - 104, 1998.

91. SINGLETON, V. L. e ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.16, p.144-168, 1965.
92. SKREDE, G.; WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of Highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) **Journal of Food Science**, v. 65 n.2, p. 357–364, 2000.
93. SOOBRAATTEE, M. A.; NEERGHEEN, V. S.; LUXIMON-RAMMA, A. e ARUOMA, O. I., BAHORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions **Mutation Research**, v. 579, p. 200-213, 2005.
94. TYRAKOWASKA, B.; SOFFERS, A. E. M. F.; SZYMUSIAK, H.; BOEREN, S.; BOERSMA, M. G.; LEMANSKA, K.; VERVOORT, J. & RIETJENS, M. C. M. Tea antioxidant activity of 4-hydroxybenzoates. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 27, p. 1427-1436, 1999.
95. USHIKUBO, F. Y.; WATANABE, A. P. e VIOTTO, L. A. Microfiltration of umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) juice using polypropylene membrane **Desalination**, v. 200, p. 549-551, 2006.
96. USHIKUBO, F. Y.; WATANABE, A. P.; VIOTTO, L. A. Effects of operating conditions and enzyme treatment on fouling and polarized layer formation during umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) juice microfiltration
97. VAILLANT, F., CISSE, M., CHAVERRI, M., PEREZ, A., DORNIER, M., VIQUEZ, F. AND DHUIQUE-MAYER, C. Clarification and concentration of melon juice using membrane processes **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.6, p. 213– 220, 2005.
98. VAILLANT, F.; MILLAN, A.; DORNIER, M.; DECLOUX, M. e REYNES, M. Strategy for economical optimization of clarification of pulpy fruit juices using cross flow microfiltration **Journal of Food Engineering**, v. 48, p. 83-90, 2001.
99. VALKO, M. RHODES, C. J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M. & MAZUR, M. Free radical, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160, p. 1-40, 2006.
100. VERSARI, A.; BIESENBRUCH, S.; BARBANTI, D.; FARNELL, P. J. & GALASSI, S. Effects of pectolytic enzymes on selected phenolic compounds in strawberry and raspberry juices. **Food Research International**, v.30 n. 10, p.

811-8117, 1997.

101. WADA, M.; KIDO, H.; OHYAMA, K.; ICHIBANGASE, T.; KISHIKAWA, N.; OHBA, Y.; NAKASHIMA, M. N.; KURODA, N. & NAKASHIMA, K. Chemiluminescent screening of quenching effects of natural colorants against reactive oxygen species: Evaluation of grape seed, monascus, gardênia and red radish extracts as multi-funcional food additivies. **Food Chemistry**, v. 101, p. 980-986, 2007.

102. WEISBURGER, J. H. Mechanisms of action of antioxidants as exemplified in vegetables, tomatoes and tea **Journal and Chemical Toxicology**, v. 37, p. 943-948, 1999.

103. WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W. & LEE, J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. **Trends in Food Science & Tecnology**, v. 16, p. 423-428, 2005.

104. WU, X.; BEECHER, G. R.; HOLDEN, J. M.; HAYTOWITZ, D. B.; GEBHARDT, S. E. & PRIOR, R. L. Concentration of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, p. 4069-4075, 2006.

105. YU, J.; LENCKI, R. W. Effect of enzyme treatments on the fouling behavior of apple juice during microfiltration **Journal of Food Engineering**, v.63, p. 413–423, 2004.

106. ZULETA, A.; ESTEVE, M. J.; FRASQUET, I &FRÍGOLA, A. Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain **Food Chemistry**, v. 103, p. 1365-1374, 2007.