



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

**EFEITO DE DIFERENTES PROCESSOS DE SANITIZAÇÃO DE FRUTOS DE AÇAÍ
SOBRE A SUA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL**

VALERIA SALDANHA BEZERRA

Rio de Janeiro

Fevereiro de 2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

**EFEITO DE DIFERENTES PROCESSOS DE SANITIZAÇÃO DE FRUTOS DE AÇAÍ
SOBRE A SUA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL**

VALERIA SALDANHA BEZERRA

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Instituto de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciência dos Alimentos.

Orientadores:

Prof^a. Dr^a. Lourdes Maria Corrêa Cabral

Prof. Dr. Otniel Freitas-Silva

Rio de Janeiro

Fevereiro 2016

B574

Bezerra, Valeria Saldanha

Efeito de diferentes processos de sanitização de frutos de açaí sobre a sua qualidade microbiológica, físico-química e sensorial / Valeria Saldanha Bezerra. – Rio de Janeiro : UFRJ, 2016.

200 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, 2016.

Orientadores: Lourdes Maria Corrêa Cabral e Otniel Freitas-Silva.

1. Branqueamento. 2. Ozonização. 3. Cloração. I. Cabral, Lourdes Maria Corrêa. II. Freitas-Silva, Otniel. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos. IV. Título.

CDD 547.215

**EFEITO DE DIFERENTES PROCESSOS DE SANITIZAÇÃO DE FRUTOS DE AÇAÍ
SOBRE A SUA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL**

VALERIA SALDANHA BEZERRA

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Instituto de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciência dos Alimentos.

Aprovada em 19 / 02 / 2016

Lourdes Maria Corrêa Cabral, Dr^a, EMBRAPA (Orientadora)

Otniel Freitas-Silva, Dr., EMBRAPA (Co-orientador)

Daniel Perrone Monteiro, Dr., Instituto de Química/UFRJ

Maria Alice Zarur Coelho, Dr^a, Escola de Química/UFRJ

Marcelo Elias Fraga, Dr., UFRRJ

Daniela de Grandi Castro Freitas, Dr^a, EMBRAPA

Fevereiro 2016

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo privilégio da vida e do crescimento.

Aos meus pais Ailton Bezerra (*in memoriam*) e Maria da Conceição Quintão Bezerra, pelo amor, pelos exemplos e incentivo incondicional aos meus projetos de vida pessoal e profissional.

Ao meu amado filho Pedro Henrique, pelo amor, companheirismo e compreensão das ausências em sua vida.

Ao meu amado companheiro e amigo Carlos Augusto, pelo amor irrestrito e pela capacidade da transformação da distância física em compreensão e confiança.

À minha família, pelo apoio, incentivo e carinho em todos os momentos.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária por conceder a oportunidade de aprimoramento profissional pelo curso de doutorado.

À professora Lourdes Maria Corrêa Cabral pela orientação, acolhimento, auxílio e palavras de incentivo.

Ao professor pesquisador Otniel Freitas-Silva pela orientação, pela amizade em todas as horas, e principalmente pela confiança.

Ao pesquisador Eduardo Henrique Miranda Walter da Embrapa Agroindústria de Alimentos pelo compartilhamento do mundo da microbiologia de alimentos.

Aos amigos e colegas do Amapá, que mesmo de longe sempre estiveram perto, pelo incentivo e apoio.

À pesquisadora Edna Maria Oliveira que me acolheu em seu espaço, compartilhando sua amizade e carinho.

Aos meus novos amigos e colegas da Embrapa Agroindústria de Alimentos e UFRJ, sendo impossível nomear a todos, e que agora sempre estarão perto, mesmo distantes, pelo recebimento caloroso, carinho e companheirismo sem par.

Aos pesquisadores Antonio Gomes, Rosemar Antoniassi, Ronoel Godoy, pelo auxílio e compartilhamento de seus laboratórios.

À equipe da Embrapa Agroindústria de Alimentos: Simone, Ana Paula, Vanessa e Ivan, Marianna, Érika, Henriqueta Thalita, Andressa, Caetano, Marcos, Agnelli, Filé, Chorão, Manuela, Allan, Cláudia, José Carlos, Celma Rivanda e Andréa pelo apoio e atenção.

Aos técnicos da Embrapa Amapá, Leandro Damasceno, Adinomar Barbosa, Adjard Loureiro, Raimundo Nonato, Marcos Daniel e Daniel Montagner por serem os meus braços fortes distantes.

Aos pesquisadores da Embrapa Amapá, Dr. Nagib Jorge Melém Júnior pela amizade e orientação acadêmica, Dr^a. Ana Cláudia Lira e sua equipe pela ajuda e cooperação.

À Chefiar das Embrapas Amapá e Agroindústria de Alimentos, pelo apoio irrestrito.

Às pós-doutorandas Alexandra Mara Mamede e Ana Paula Gil, pela amizade, ajuda, e pelo compartilhamento luxuoso das teorias e tensões.

Dos estagiários e bolsistas, Vanessa, Izabella, João Pedro, Lorraine, Élida, Ana Lígia e Ingrid, pelo ajuda, convívio e compartilhamento de sonhos e experiências.

À UFRJ, pelo privilégio de estudar nesta Universidade.

Ao PPGCAL e seus Professores, que me receberam de maneira tão especial.

Ao Governo do Estado do Amapá, pela Secretaria de Ciência e Tecnologia e Fundação Tumucumaque, pelo apoio financeiro.

RESUMO

BEZERRA, Valeria Saldanha. Efeito de diferentes processos de sanitização de frutos de açaí sobre a sua qualidade microbiológica, físico-química e sensorial.

O açaí batido é um dos principais alimentos componentes da dieta tradicional da população amazônica, sendo fonte de energia, fibra e compostos fenólicos importantes como as antocianinas de potencial poder antioxidante. O processamento do fruto é realizado regionalmente de forma semi-artesanal e sem aplicação de tratamento térmico, representando potencial perigo biológico ao consumidor, pois a contaminação natural do fruto é aumentada em toda a cadeia de comercialização até o processamento, e conseqüentemente transmitida ao açaí batido. A adequação de processo de sanitização do fruto para este tipo de processador deve levar em consideração suas condições estruturais, assim como a conservação da qualidade nutritiva do fruto e do perfil sensorial do açaí batido, característico do produto tradicionalmente consumido. Neste sentido estudaram-se: i) processos térmicos por branqueamento a 80 °C e a 90 °C por 10s e não-térmicos por ozonização aquosa (4 mg.L⁻¹ O₃ por 5min) e cloração (150 mg.L⁻¹ por 15min) aplicados em frutos de açaí inoculados com microrganismos indicadores de patogenicidade, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*, ii) os impactos dos processos de descontaminação microbiana dos frutos na composição química e nas características sensoriais. Os resultados microbiológicos obtidos evidenciaram que ozonização aquosa não foi eficaz como tratamento de sanitização de frutos de açaí inoculados, nas condições do estudo, com desempenho semelhante à simples lavagem com água clorada ou destilada. Na ozonização também houve o comprometimento das características físico-químicas e nutricionais do fruto e da coloração do produto açaí batido em relação ao açaí tradicionalmente consumido, mas dentro dos limites de padrões regulamentados para polpa integral de açaí, sendo aceito sensorialmente. O

branqueamento dos frutos a 80 °C por 10s não alcançou resultados satisfatórios quanto à redução da contaminação por *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., demonstrando o mesmo desempenho sanitizante que a lavagem dos frutos por simples cloração ou lavagem com água destilada. Frutos branqueados a 80 °C conservaram a maioria dos seus componentes nutricionais, tendo a qualidade sensorial do seu produto processado final preservada em relação ao açaí tradicional e com intenção de compra também sinalizada positivamente pelos consumidores. Já o tratamento de branqueamento a 90 °C por 10s apresentou-se superior aos demais, sendo considerado um novo parâmetro para o branqueamento na sanitização de frutos de açaí, combinado com o resfriamento em água clorada a 50 mg.L⁻¹, evitando a infiltração e internalização do patógeno no fruto e aumentando a garantia da oferta de um produto final mais seguro aos consumidores. Frutos branqueados a 90 °C apresentaram menores teores no teor de compostos fenólicos, notadamente das antocianinas monoméricas, em relação aos frutos processados sem tratamento térmico. Entretanto, tais frutos permaneceram com teores ainda significativamente elevados quando comparados a outras fontes alimentares, além de terem sido sensorialmente aceitos e com intenção de compra positiva por consumidores tradicionais de açaí batido.

Palavras-chave: branqueamento, ozonização, cloração

ABSTRACT

Bezerra, Valeria Saldanha. Effect of different sanitizing processes on açai berries on their microbiological, physical-chemical and sensory quality.

The açai beverage is a major food component of the traditional diet of the Amazonian population, representing a source of energy, fiber and important phenolic compounds such as anthocyanins, a potential antioxidant agent. The fruit processing for local consumption is carried out regionally by artisanal way, without the use of heat treatment, representing potential biological hazard to the consumer, since the natural contamination of fruit can be increased throughout the product chain from harvesting to marketing and consequently transmitted to the açai beverage. The adequacy of fruits sanitation processes for this type of regional processor that sells açai beverage should take into consideration their structural conditions, as well as the preservation of nutritional quality of the fruit and sensorial profile of açai beverage, characteristic of the product traditionally consumed. In this way it was studied in this work: i) blanching at 80 °C and 90 °C for 10s, and non-thermal aqueous ozonation (4 mg.L⁻¹ O₃ for 5min) and chlorination (150 mg.L⁻¹ 15min) applied in açai fruits artificially inoculated with pathogenic microorganisms indicators, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*; ii) the impacts of sanitizing procedures on fruits nutritional composition and sensory aspects. The results concerning microbiological aspects showed that aqueous ozonation was not effective as a treatment for sanitizing açai fruits artificially inoculated, with performance similar to simple washing with chlorinated water or distilled water. In addition, aqueous ozonation implicated on the physical-chemical and nutritional characteristics of the fruits and the color of the açai beverage against the açai traditionally consumed, but within the limits of standards regulated for the whole pulp of açai, also the beverage presented sensory acceptance by consumers. Blanching of fruits at 80 °C for 10s did not reduce satisfactory the contamination by *Escherichia coli* and *Salmonella* spp.,

this treatment demonstrated the same performance of chlorination or washing by distilled water. Fruits blanched at 80 °C retained most of their nutritional compounds with the sensory quality of processed product preserved, when compared to traditional açai beverage and its purchase intention was also signaled positively by consumers. The treatment at 90 °C for 10s was superior to others, being considered a new parameter for blanching in the sanitization of açai fruits, combined with cooling in chlorinated water to 50 mg.L⁻¹, avoiding infiltration and internalization of the pathogen in the fruit and increased the guarantee of supply of a safer final product for consumers. This treatment showed lower levels in phenolic content, particularly of monomeric anthocyanins in relation to fruit processed without heat treatment. However, these fruits still contained high levels of anthocyanins when compared to other foods. Fruits treated at 90 °C were also sensory accepted and had positive intent to purchase by traditional consumers of açai.

Key-words: blanching, ozonation, chlorination

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Os resultados parciais deste trabalho foram publicados na forma de resumos em eventos científicos e artigos científicos em revistas indexadas, conforme descrito a seguir:

Resumos:

BEZERRA, V. S. ; CABRAL, L. M. C. ; COELHO, E. A. A. **Influence of açai fruits (*Euterpe oleracea* Mart.) conservation on the acceptance of açai drink.** 10th Pangborn Sensory Science Symposium. Anais... Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

BEZERRA, V.; FREITAS-SILVA, O.; OLIVEIRA, A.; CABRAL, L.; DAMASCENO, L. **Colorimetric change of assai (*Euterpe oleracea* Mart.) after preservation and thermal processing of the fruit.** 17th World Congress of Food Science and Technology. Anais... Montreal: IUFoST, 2014.

BEZERRA, V. S.; WALTER, E. H. M.; FREITAS-SILVA, O.; SMITH, V. DE O.; COSTA, S. D. de O.; CABRAL, L. M. C. **Eficiência de branqueamento, cloração e ozonização em frutos de açai inoculados com *Listeria monocytogenes*.** 61^a Reunião Anual da Sociedade Interamericana de Horticultura Tropical. Anais... Brasília, DF: Embrapa, 2015.

Artigo científico aceito pelo periódico *Journal of Food Processing and Preservation* em 19.02.16 (ANEXO 1):

Manuscrito ID JFPP-09-15-0958 intitulado "Sensory analysis and consumers studies of açai beverage after thermal, chlorine and ozone treatments of the fruits".

Artigos científicos publicados em periódicos indexados:

COELHO, C. C. S.; FREITAS-SILVA, O.; CAMPOS, R. S.; BEZERRA, V. S.; CABRAL, L. M. C. Ozonização como tecnologia pós-colheita na conservação de frutas e hortaliças: uma revisão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** v.19, n.4, p.369–375, 2015

(ANEXO 2).

BEZERRA, V. S. ; WALTER, E. H. M. ; FREITAS-SILVA, O. ; MELLO, V. F.; CABRAL, L. M. C. Adesividade e sobrevivência de *Salmonella* spp. na superfície de frutos de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Higiene Alimentar**, v. 29, p. 3014-3018, 2015 **(ANEXO 3).**

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABTS 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CLAE cromatografia líquida de alta eficiência

DP desvio padrão

EMB *eosin methylene blue*

FAO/WHO Food and Agricultural Organization/World Health Organization

HE heктоen entérico

LDL *low density lipoprotein*

ORAC capacidade de absorção de radicais de oxigênio

R coeficiente de correlação

SEBRAE Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas

SENAC Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial

SENAI Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial

SESC Serviço Social do Comércio

SESI Serviço Social da Indústria

TE trolox equivalente

TEAC *trolox equivalent antioxidant capacity*

UFC unidades formadoras de colônia

XLD *xylose lysine deoxycholate*

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Palmeira açai com vários estipes (A) e fruto maduro aderido às ráquias do cacho (B) | 27 |
| Figura 2. Detalhe de fruto de açazeiro em corte transversal. | 28 |
| Figura 3. Principais áreas de ocorrência de açai nos estados do Pará (A) e Amapá (B). | 29 |
| Figura 4. Estrutura de processadoras tipo semi-artesal (A) e agroindústrias de pequeno porte (B) | 33 |
| Figura 5. Fluxograma de processamento de açai batido conforme legislação (PARÁ, 2007a, 2012) (A) e da maneira tradicional (sem tratamento térmico) (B). | 35 |
| Figura 6. Produção dos fenilpropanoides lignanas, ligninas, suberinas, cutinas, estilbenos, flavonoides e taninos a partir da fenilalanina. | 42 |
| Figura 7. Estrutura química das principais classes de polifenólicos não-flavonoides. | 43 |
| Figura 8. Esqueleto carbônico de algumas classes de flavonoides importantes, tendo em comum o núcleo flavano. | 44 |
| Figura 9. Estrutura básica do cátion flavano | 47 |
| Figura 10. Principais antocianidinas em relação ao aumento da intensidade das cores vermelho e azul. | 48 |
| Figura 11. Estrutura molecular encontradas em solução aquosa com diferentes valores de pH. química das principais classes de polifenólicos não-flavonoides. Cátion flavano (AH^+), (A) base quinoidal, (B) carbinol ou pseudo base, (C) chalcona. | 51 |
| Figura 12. Reação do radical APPH durante o ensaio ORAC. | 53 |
| Figura 13. Reação do radical ABTS na presença de compostos oxidantes durante o ensaio ABTS. | 54 |
| Figura 14. Representação de um (A) sólido no espaço CIE $L^* a^* b^*$ e (B) diagrama de cromaticidade $a^* b^*$ | 66 |
| Figura 15. Coleta dos frutos de açai em área ribeirinha no município de Mazagão (AP). | 72 |
| Figura 16. Etapas de higienização do fruto de açai: (A) mesa de catação; (B) lavagem; (C) retirada de sujidades. | 73 |
| Figura 17. Cultura dos microrganismos utilizados nos ensaios de sanitização: Salmonella Brazil (A), Escherichia coli (B) e Listeria monocytogenes (C). | 74 |
| Figura 18. Detalhes do ensaio de inoculação por gotejamento (A) e imersão (B) dos frutos de açai e secagem a 37 °C (estufa incubadora) (C) e a temperatura ambiente (fluxo laminar) (D). | 77 |
| Figura 19. Medição da temperatura da superfície do fruto de açai | 79 |

| | |
|---|-----|
| Figura 20. Branqueamento dos frutos de açaí a 80 e 90 °C (A), com imersão dos frutos em água aquecida (B) e posterior resfriamento em água clorada (50 mg.L ⁻¹) por 2min (C)..... | 80 |
| Figura 21. Aparato do processo de ozonização aquosa de frutos de açaí (A) e de neutralização do ozônio residual (B) para análises microbiológicas..... | 82 |
| Figura 22. Esquema de ozonização aquosa (A), recipiente de sanitização (B), difusão do ozônio na água pré-ozonizada (C), ozonização aquosa dos frutos (D), mensuração fotométrica da concentração de O ₃ (E) e conversão do ozônio residual com iodeto de potássio (F). | 83 |
| Figura 23. Fluxograma do primeiro ensaio microbiológico com frutos de açaí inoculados com <i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> e <i>L. monocytogenes</i> e tratamentos termicamente (branqueamento a 80 °C e a 90 °C) e não-térmicamente (cloração e ozonização aquosa) e com água destilada (controle). 85 | 85 |
| Figura 24. Fluxograma do segundo ensaio microbiológico com frutos de açaí inoculados com <i>Salmonella</i> spp. e <i>Escherichia coli</i> e tratados por branqueamento a 90 °C com resfriamento em diferentes soluções aquosas..... | 87 |
| Figura 25. Frutos de açaí sendo friccionados (A) e solução de recuperação após homogeneização (B)..... | 89 |
| Figura 26. Fluograma do ensaio físico-químico com frutos de açaí tratados por branqueamentos a 80 °C e 90 °C, ozonização aquosa e cloração (controle). | 91 |
| Figura 27. Extração do óleo da polpa de frutos de açaí liofilizados (A), extrato lipídico (B), separação dos ésteres metílicos (C), esterificação (D) e amostras para injeção em cromatógrafo. | 96 |
| Figura 28. Preparo do extrato antociânico por microcentrifugação (A), evaporação por ar comprimido (B), ressuspensão em vial para compor a solução de injeção (C) e acomodação no cromatógrafo (D)..... | 99 |
| Figura 29. Curva analítica de cianidina-3-O-glicosídeo (mg.100g ⁻¹). | 100 |
| Figura 30. Curva analítica de ácido gálico (mg.L ⁻¹) | 101 |
| Figura 31. Curva analítica da concentração de Trolox (µM)..... | 103 |
| Figura 32. Curva analítica da concentração de Trolox (µM)..... | 104 |
| Figura 33. Quadro de explicitação da análise sensorial (A) e condições do local dos testes (B) 106 | 106 |
| Figura 34. Processamento dos frutos de açaí em açaí batido com aplicação das BPFs. | 108 |
| Figura 35. Amostras-teste de açaí batido codificadas e amostra-padrão apresentadas de forma de blocos completos balanceados no teste de comparação múltipla..... | 109 |
| Figura 36. Amostra-teste codificada e apresentada de forma monádica..... | 110 |

| | |
|---|-----|
| Figura 37. Leitura dos atributos de cor do açaí batido após tratamentos térmicos e não-térmicos por colorímetro no sistema CIELCh . | 111 |
| Figura 38. Teste de compatibilidade entre cepas de Salmonella spp. em TSA e detalhe da ausência de zona de inibição de crescimento. | 114 |
| Figura 39. Ensaio de verificação de temperatura na superfície do fruto de açaí imerso em água quente a 80,2 °C, 88,9 °C e 94,8 °C | 115 |
| Figura 40. Comparação da redução logarítmica alcançada em frutos de açaí inoculados com Salmonella spp., branqueados a 90 °C e resfriados em diferentes fontes de águas com a redução logarítmica por branqueamento a 90 °C e resfriamento com água destilada (ensaio #1) (linha pontilhada). | 124 |
| Figura 41. Comparação da redução logarítmica alcançada em frutos de açaí inoculados com E. coli, branqueados a 90 °C e resfriados em diferentes fontes de águas com a redução logarítmica por branqueamento a 90 °C e resfriamento com água destilada (ensaio #1) (linha pontilhada). | 125 |
| Figura 42. Cromatograma indicando os picos atribuídos aos ácidos graxos em polpas de frutos de açaí liofilizados após tratamentos de: (A) cloração (controle), (B) branqueamento a 80 °C, (C) branqueamento a 90 °C e (D) ozonização. | 133 |
| Figura 43. Antocianinas totais de polpa de frutos de açaí liofilizados após tratamentos de cloração a 150 mg. L ⁻¹ (controle), branqueamentos a 80 °C e 90 °C e ozonização aquosa a 4 mg. L ⁻¹ | 137 |
| Figura 44. Formação e transformação de radicais intermediários na degradação da molécula de ozônio. | 139 |
| Figura 45. Mecanismo de degradação das antocianinas na presença de ozônio | 140 |
| Figura 46. Cromatograma CLAE indicando os picos atribuídos às antocianinas monoméricas (1) cianidina-3-O-glicosídeo e (2) cianidina-3-O-rutinosídeo em polpas de frutos de açaí liofilizados após tratamentos de cloração a 150 mg.L ⁻¹ (controle). | 141 |
| Figura 47. Teores de antocianinas monoméricas (A) cianidina-3-O-glicosídeo e (B) cianidina-3-O-rutinosídeo em polpas de frutos de açaí liofilizados após tratamentos de cloração a 150 mg.L ⁻¹ (controle), branqueamentos a 80 °C e 90 °C e ozonização aquosa a 4 mg.L ⁻¹ . | 142 |
| Figura 48. Impacto do branqueamento a 80 °C e 90 °C e ozonização aquosa (4 mg.L ⁻¹) nos teores de antocianinas totais e monoméricas (cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutinosídeo) em relação ao tratamento clorado (controle). | 144 |
| Figura 49. Fenólicos totais (mgEAG.100g ⁻¹) de polpas de frutos de açaí liofilizados após tratamentos de cloração a 150 mg.L ⁻¹ (controle), branqueamentos a 80 °C e 90 °C e ozonização aquosa a 4 mg.L ⁻¹ . | 146 |

| | |
|---|-----|
| Figura 50. Capacidade antioxidante (TEAC) de frutos de açaí liofilizados após tratamentos de cloração a 150 mg.L ⁻¹ (controle), branqueamentos a 80 e 90 °C e ozonização aquosa a 4 mg.L ⁻¹ | 148 |
| Figura 51. Atividade antioxidante graficamente representada pela área sobre a curva (AUC) relativa à fluorescência das amostras de frutos de açaí liofilizados após tratamentos térmicos e não térmicos pelo tempo de análise..... | 149 |
| Figura 52. Capacidade antioxidante (ORAC) de frutos de açaí liofilizados após cloração a 150 mg.L ⁻¹ (controle), branqueamentos a 80 °C e 90 °C e ozonização aquosa a 4 mg.L ⁻¹ | 150 |
| Figura 53. Correlação linear entre antocianinas totais de frutos tratados (térmicos e não-térmicos) e atividade antioxidante pela captura do radical livre ABTS•+ (TEAC)..... | 152 |
| Figura 54. Perfil dos consumidores de açaí entrevistados pelo teste de comparação múltipla (A) e teste afetivo (B), resultados expressos em porcentagem. | 153 |
| Figura 55. Teste de comparação múltipla para percepção de açaí batido após tratamento dos frutos a 80 °C, 90 °C, ozonização aquosa (4 mg.L ⁻¹) e água clorada (150 mg.L ⁻¹ - controle). Nota 5 representa nenhuma diferença da amostra padrão (linha tracejada)..... | 155 |
| Figura 56. Histograma de frequência absoluta observada no teste de comparação múltipla de amostras-teste de açaí batido vindos de frutos branqueados (80 e a 90 °C), ozonizados (4 mg.L ⁻¹) e clorados (150 mg.L ⁻¹ controle). | 156 |
| Figura 57. Atributos do teste de aceitação entre açaís batidos após branqueamento dos frutos a 80 e 90 °C..... | 159 |
| Figura 58. Dendograma em distância Euclidiana entre médias de notas de atributos do teste de aceitação entre açaís batidos após branqueamento dos frutos a 80 e 90 °C. A Linha Fenon ou linha de corte foi representada pela linha tracejada | 160 |
| Figura 59. Intenção de compra por consumidores de açaí batido processado a partir de frutos branqueadas a 80 e 90 °C. | 161 |
| Figura 60. Frequência relativa da intenção de compra de amostras-teste de açaí batido vindos de frutos branqueados a 80 e 90 °C..... | 162 |
| Figura 61. Correlação linear entre o teor antocianinas totais de frutos tratados (térmicos e não-térmicos) e o ângulo hue (h°) de suas respectivas bebidas..... | 165 |
| Figura 62. Diferença de cor ΔE* entre bebidas após tratamentos dos frutos por branqueamento a 80 e 90 °C, ozonização aquosa 4 mg. L-1 e o tratamento por cloração (150 mg.L-1). Diferença de cor facilmente distinguível (ΔE < 3,0) na linha tracejada. Pequena diferença de cor (ΔE < 1,5) na linha pontilhada. | 167 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1. População de <i>Salmonella</i> spp. recuperada de frutos de açaí. | 112 |
| Tabela 2. Temperaturas medidas na superfície dos frutos de açaí durante processamento térmico por branqueamento. | 115 |
| Tabela 3. Concentração da suspensão de inóculo e contagem dos microrganismos recuperados de frutos de açaí inoculados por gotejamento para ensaio #1 (tratamentos térmicos e não-térmicos) e ensaio #2 (branqueamento a 90 °C e resfriamento). | 116 |
| Tabela 4. Reduções logarítmicas (log UFC.mL ⁻¹) relativas a tratamentos térmicos e não térmicos de frutos de açaí inoculados com microrganismos..... | 118 |
| Tabela 5. Redução logarítmica de <i>Salmonella</i> spp. e <i>Escherichia coli</i> inoculados em frutos de açaí tratados termicamente (90 °C) e resfriados em diferentes fontes de água por 2min..... | 123 |
| Tabela 6. Valores de umidade (%), pH e acidez total titulável (% ácido cítrico) em polpas de frutos de açaí liofilizados após tratamentos térmicos e não-térmicos..... | 127 |
| Tabela 7. Valores de proteína bruta total (%), lipídeos totais (%) e cinzas (%) de polpas de frutos de açaí liofilizados após tratamentos térmicos e não-térmicos. | 128 |
| Tabela 8. Teores de carboidratos totais (%), valor energético total (%) e atividade de água de polpas de frutos de açaí liofilizados após tratamentos térmicos e não-térmicos..... | 131 |
| Tabela 9. Perfil dos ácidos graxos (%) em polpa de frutos de açaí liofilizados após tratamentos de cloração a 150 mg.L ⁻¹ (controle), branqueamentos a 80 °C e 90 °C e ozonização aquosa a 4 mg.L ⁻¹ | 134 |
| Tabela 10. Atributos do teste hedônico de aceitação de açaís batidos processados após tratamentos térmicos dos frutos por branqueamento a 80 e 90 °C..... | 158 |
| Tabela 11. Valores L*, a*, b*, C* e h° de açaí batido após tratamentos térmicos (branqueamento a 80 e 90 °C) e não-térmicos (150 mg.L ⁻¹ cloro e 4 mg.L ⁻¹ água ozonizada) dos frutos | 162 |

ÍNDICE DE QUADROS

| | |
|---|-----|
| Quadro 1. Composição química e valor energético de frutos e polpa processada de açaí..... | 38 |
| Quadro 2. Composição de ácidos graxos em diferentes produtos de açaí | 39 |
| Quadro 3. Efeito do ozônio sobre os parâmetros de qualidade sensorial e nutricional..... | 63 |
| Quadro 4. Limites da composição em ácidos graxos para características de identidade de óleo de oliva..... | 135 |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 23 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 25 |
| 2.1 Açaí | 27 |
| 2.1.1 Botânica..... | 27 |
| 2.1.2 Produção de frutos, mercado e consumo..... | 28 |
| 2.1.3 Processamento do açaí..... | 31 |
| 2.1.3.1 Açaí batido..... | 32 |
| 2.2 Composição | 36 |
| 2.2.1 Compostos bioativos e atividade antioxidante..... | 41 |
| 2.2.1.1 Compostos fenólicos..... | 41 |
| 2.2.1.1.1 Análise de compostos fenólicos..... | 45 |
| 2.2.1.2 Antocianinas e atividade antioxidante..... | 47 |
| 2.2.1.2.1 Análise de antocianinas..... | 50 |
| 2.2.1.2.2 Análise da atividade antioxidante..... | 52 |
| 2.3 Aspectos microbiológicos | 54 |
| 2.3.1 Contaminação do fruto de açaí..... | 54 |
| 2.3.2 Microrganismos indicadores de qualidade..... | 55 |
| 2.3.2.1 <i>Salmonella</i> spp..... | 56 |
| 2.3.2.2 <i>Escherichia coli</i> | 56 |
| 2.3.2.3 <i>Listeria monocytogenes</i> | 57 |
| 2.3.3 Processos sanitizantes..... | 58 |
| 2.3.3.1 Processamento térmico..... | 58 |
| 2.3.3.1.1 Branqueamento..... | 59 |
| 2.3.3.2 Processamentos não-térmicos..... | 61 |
| 2.3.3.2.1 Cloração..... | 61 |
| 2.3.3.2.2 Ozonização..... | 62 |
| 2.4. Aspectos qualitativos e sensoriais | 64 |
| 2.4.1 Cor..... | 64 |
| 2.4.1.1 Espaços da cor..... | 65 |
| 2.4.2 Análise sensorial..... | 67 |
| 2.4.2.1 Métodos afetivos ou hedônicos..... | 69 |
| 2.4.2.2 Métodos discriminativos..... | 70 |
| 2.4.2.3 Métodos descritivos..... | 70 |
| 3 OBJETIVOS | 71 |

| | |
|--|-----------|
| 3.1 Objetivo Geral | 71 |
| 3.2 Objetivos Específicos | 71 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS | 72 |
| 4.1 Frutos de açaí | 72 |
| 4.2 Microrganismos-teste | 74 |
| 4.2.1 Preparo do inóculo | 75 |
| 4.3 Adequação e otimização de metodologia | 76 |
| 4.3.1 Teste de modo de inoculação e aderência..... | 76 |
| 4.3.2 Teste de compatibilidade entre cepas..... | 78 |
| 4.3.3 Teste de temperatura na superfície do fruto | 78 |
| 4.4 Métodos de sanitização do fruto | 79 |
| 4.4.1 Tratamento térmico..... | 80 |
| 4.4.1.1 Branqueamento | 80 |
| 4.4.2 Tratamentos não-térmicos..... | 81 |
| 4.4.2.1 Cloração | 81 |
| 4.4.2.2 Ozonização aquosa | 82 |
| 4.5 Avaliações microbiológicas | 84 |
| 4.5.1 Frutos sanitizados por tratamentos térmico e não-térmicos | 84 |
| 4.5.2 Frutos sanitizados combinando branqueamento a 90 °C e resfriamentos..... | 86 |
| 4.5.2.1 Combinação de branqueamento a 90 °C e resfriamento com água clorada..... | 88 |
| 4.5.2.2 Combinação de branqueamento a 90 °C e resfriamento com água ozonizada..... | 88 |
| 4.5.3 Análises microbiológicas | 88 |
| 4.6 Avaliação da composição | 90 |
| 4.6.1 Frutos sanitizados por tratamentos térmicos e não-térmicos | 90 |
| 4.6.2 Liofilização dos frutos | 91 |
| 4.6.3 Composição..... | 92 |
| 4.6.3.1 Umidade | 92 |
| 4.6.3.2 pH | 92 |
| 4.6.3.3 Acidez total titulável | 93 |
| 4.6.3.4 Proteína bruta total | 93 |
| 4.6.3.5 Lipídios totais | 94 |
| 4.6.3.6 Cinzas..... | 94 |
| 4.6.3.7 Carboidratos totais | 95 |
| 4.6.3.8 Valor Energético Total | 95 |
| 4.6.3.9 Atividade de água..... | 95 |
| 4.6.3.10 Ácidos graxos | 95 |
| 4.6.3.11 Antocianinas | 97 |

| | |
|---|------------|
| 4.6.3.11.1 Extração das antocianinas | 97 |
| 4.6.3.11.2 Antocianinas totais..... | 97 |
| 4.6.3.11.3 Antocianinas monoméricas..... | 98 |
| 4.7 Atividade antioxidante | 100 |
| 4.7.1 Fenólicos totais..... | 100 |
| 4.7.2 Captura do radical livre ABTS•+ (TEAC)..... | 102 |
| 4.7.3 Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio (ORAC)..... | 104 |
| 4.8 Avaliação sensorial e da cor | 105 |
| 4.8.1 Análise sensorial..... | 105 |
| 4.8.1.1 Recrutamento de avaliadores..... | 105 |
| 4.8.1.2 Apresentação da amostra..... | 106 |
| 4.8.1.3 Condução dos testes..... | 106 |
| 4.8.1.4 Frutos sanitizados por tratamentos térmico e não-térmicos..... | 107 |
| 4.8.1.5 Processamento dos frutos em açaí batido | 107 |
| 4.8.1.6 Teste de comparação múltipla | 108 |
| 4.8.1.7 Teste de aceitação | 109 |
| 4.8.1.8 Intenção de compra..... | 110 |
| 4.8.2 Análise da cor | 110 |
| 4.9 Análise estatística..... | 111 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 112 |
| 5.1 Adequação e otimização da metodologia | 112 |
| 5.1.1 Teste de modo de inoculação e aderência..... | 112 |
| 5.1.2 Teste de compatibilidade entre cepas..... | 114 |
| 5.1.3 Teste de temperatura na superfície do fruto..... | 114 |
| 5.2 Avaliações microbiológicas..... | 116 |
| 5.2.1 Inóculo | 116 |
| 5.2.2 Frutos sanitizados por tratamentos térmico e não-térmicos..... | 117 |
| 5.2.3 Frutos sanitizados combinando branqueamento a 90 °C e resfriamentos | 122 |
| 5.3 Composição | 127 |
| 5.3.1 Umidade | 127 |
| 5.3.2 pH..... | 127 |
| 5.3.3 Acidez total titulável..... | 128 |
| 5.3.4 Proteína bruta total..... | 128 |
| 5.3.5 Lipídeos totais | 129 |
| 5.3.6 Cinzas..... | 130 |
| 5.3.7 Carboidratos totais | 130 |

| | |
|--|------------|
| 5.3.8 Valor Energético Total..... | 131 |
| 5.3.9 Atividade de água..... | 131 |
| 5.3.10 Ácidos graxos..... | 132 |
| 5.3.11 Antocianinas..... | 137 |
| 5.3.11.1 Antocianinas totais..... | 137 |
| 5.3.11.2 Antocianinas monoméricas..... | 141 |
| 5.4 Atividade antioxidante | 145 |
| 5.4.1 Fenólicos totais..... | 145 |
| 5.4.2 Captura do radical livre ABTS•+ (TEAC)..... | 147 |
| 5.4.3 Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio (ORAC)..... | 149 |
| 5.5 Avaliação sensoriais e da cor | 152 |
| 5.5.1 Análise sensorial..... | 152 |
| 5.5.1.1 Perfil dos avaliadores..... | 152 |
| 5.5.1.2 Teste de comparação múltipla..... | 155 |
| 5.5.1.3 Teste de aceitação..... | 157 |
| 5.5.1.4 Intenção de compra..... | 161 |
| 5.5.2 Análise de cor..... | 162 |
| 6. CONCLUSÕES..... | 168 |
| 7. DESENVOLVIMENTOS FUTUROS | 169 |
| 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 170 |
| Anexo 1: Artigo aceito pelo <i>Journal of Food Processing and Preservation</i> | 192 |
| Anexo 2: Artigo publicado na <i>Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental</i> | 193 |
| Anexo 3: Artigo publicado no periódico <i>Higiene Alimentar</i> | 194 |
| Anexo 4: Aprovação do projeto de avaliação sensorial na Plataforma Brasil | 195 |
| Anexo 5: Termo de Consentimento Livre Esclarecido TCLE..... | 196 |
| Anexo 6: Ficha de informações pessoais | 198 |
| Anexo 7: Ficha de avaliação do teste de comparação múltipla..... | 199 |
| Anexo 8: Ficha de avaliação do teste de aceitação e intenção de compra..... | 200 |

1 INTRODUÇÃO

O açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma fruta nativa da floresta amazônica sendo produzida em áreas nativas, manejadas ou cultivadas (MALCHER; CARVALHO, 2011). O consumo mundial de seu produto processado na forma de polpa de açaí pasteurizada e congelada teve um grande impulso devido à sua reputação como “super-alimento” pela presença de antocianinas e sua capacidade antioxidante (SCHAUSS, 2010; TREVISAN et al., 2015).

O mercado consumidor interno regional amazônico, bastante tradicional e peculiar, tem preferência pelo produto processado sem tratamento térmico para consumo imediato. Este processamento de forma semi-artesanal ocorre em pequenas processadoras, distribuídas nos centros urbanos denominadas “amassadeiras” ou “batedeiras”, com a venda do produto diretamente ao consumidor (CARVALHO, 2010). Entretanto, este alimento tão importante para a população amazônica possui na matéria-prima uma elevada carga microbiana que quando não tratada adequadamente é repassada para o produto final, açaí batido, principalmente os microrganismos patogênicos coliformes fecais, *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* (COHEN et al., 2011). Os cachos do açaí são fonte de alimento e abrigo para uma grande diversidade de pássaros e outros animais, então desde a colheita do fruto em plena floresta, passando pela operação logística de recolhimento dos frutos nas áreas ribeirinhas até a comercialização do açaí batido nos centros urbanos, existem inúmeras fontes de contaminação de natureza ambiental, animal e humana (SENAI/SEBRAE/SESI/SESC/SENAC, 2013). Além disso, uma outra importante fonte de contaminação do fruto é a água utilizada durante todas as operações de processamento do fruto, pois mais de 50% dos municípios localizados na região amazônica brasileira não realizam a cloração simples da água (BRASIL, 2008a). No Brasil, a ingestão do açaí processado artesanalmente, sem tratamento térmico, tem sido relacionada a casos crescentes de doença de Chagas (STRAWN; SCHNEIDER; DANYLUK, 2011), pela contaminação dos frutos pelo

protozoário *Trypanosoma cruzi* (PEREIRA et al., 2009), agente causal da doença. Diante deste quadro, o Governo do Estado do Pará estabeleceu uma legislação preconizando a realização do branqueamento dos frutos a 80 °C por 10s nas processadores artesanais como medida para inativação do protozoário (PARÁ, 2012a). Muitos estudos estão sendo realizados para alcançar a segurança necessária ao açaí batido em relação ao protozoário. Mas, a alta contaminação microbiana encontrada nos frutos, principalmente nos períodos de entressafra, ainda é preocupante para a saúde do consumidor cotidiano e contumaz de açaí batido, que tem restrições sensoriais ao produto que é tratado termicamente por pasteurização.

A adoção de tecnologias mais eficazes na redução da contaminação microbiana dos frutos de açaí passa necessariamente pelo fator sócio-econômico dos processadores artesanais, principalmente quanto à estrutura física do empreendimento. Desta forma, os processos sanitizantes para estes processadores de açaí, considerados micro-empresendedores, devem ser eficazes para a redução dos perigos biológicos, de fácil implementação e principalmente ter um custo reduzido, para que não interfira no preço final do produto. Outro aspecto importante é que o tipo de processamento, mesmo melhorando a qualidade microbiológica, não pode interferir no perfil qualitativo sensorial do produto e influenciar na aceitabilidade pelo consumidor tradicional de açaí batido.

Neste sentido, este trabalho propôs estudar alternativas eficazes de tratamentos de sanitização de frutos de açaí, que sejam factíveis de implementação para o processador artesanal, e seu produto aceitável para o consumidor tradicional. Para tanto, utilizou-se tratamentos térmicos (branqueamentos a 80 °C e 90 °C por 10s) e não-térmicos (cloração e ozonização) dos frutos de açaí os quais foram submetidos a avaliação microbiológica e físico-química, além da análise sensorial do açaí batido processado.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A alta carga microbiológica presente nos frutos do açaí faz com que a sanitização seja um processo imprescindível na garantia da qualidade do açaí batido, processado artesanalmente sem qualquer tratamento térmico e consumido tradicionalmente na região Norte do Brasil (SENAI/SEBRAE/SESI/SESC/SENAC, 2013).

Os tratamentos sanitizantes para estes processadores de açaí, considerados micro empreendedores, devem ser eficazes quanto aos perigos biológicos, de fácil implementação no reduzido espaço estrutural que possuem e principalmente ter um custo reduzido, para que não interfira no preço final de seu produto. Na maioria das processadores artesanais de açaí do estado do Amapá, os frutos são somente lavados com água potável (MALCHER; AMARAL, 2009) e após o advento da transmissão da Doença de Chagas pelo consumo do açaí, o estado do Pará instituiu tratamento térmico dos frutos a 80 °C para inativação do protozoário *Trypanossoma cruzi*, agente etiológico desta doença (PARÁ, 2012a).

O açaí é reconhecidamente um alimento de propriedades nutricionais importantes e considerado fonte de energia devido ao seu alto teor de lipídeos (Quadro 1), além de apresentar uma elevada concentração de pigmentos antociânicos, que lhe conferem uma alta capacidade antioxidante (INÁCIO et al., 2013). Mas a configuração de seu fruto lhe concede uma elevada fragilidade, pois apresenta uma casca (epicarpo) muito fina que envolve o mesocarpo (polpa) com espessura de 1 a 2 mm, representando cerca de 5 a 15% do fruto, e onde se concentram os compostos nutricionais e bioativos (POMPEU; SILVA; ROGEZ, 2009)

Dependendo do tipo de processo de sanitização destes frutos, algumas perdas na qualidade físico-química dos frutos podem ocorrer. Tais perdas podem ser principalmente quanto às propriedades intrínsecas do fruto, relativas à sua composição centesimal, assim como características físico-químicas de seus pigmentos de natureza antioxidante e de seus componentes lipídicos.

O açaí batido é um dos principais produtos do fruto açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) sendo considerado o principal componente das refeições diárias da população mais carente de muitas comunidades amazônicas e um complemento alimentar da população de melhor poder aquisitivo (CARVALHO, 2010). Esta bebida também se tornou internacionalmente conhecida, sendo exportada para vários países por causa de seu sabor característico e peculiar aliado ao seu potencial poder antioxidante (YAMAGUCHI et al., 2015).

O fruto é transformado em açaí batido de forma semi-artesanal, para um comércio regional, com maceração dos frutos em pequenos equipamentos de processamento utilizando apenas água clorada para a sanitização dos frutos. Frutos de açaí também são processados em agroindústrias de médio e grande porte e transformados em polpa pasteurizada e congelada, sendo utilizada como matéria-prima para sucos, sorvetes e ingrediente para iogurtes, néctares, refrigerantes e bebidas energéticas (NOGUEIRA; FIGUEIRÊDO; MÜLLER, 2005; ROBINSON; BEREAU; FAHRASMANE, 2013). Estas polpas são comercializadas tanto no mercado interno amazônico, outras regiões do Brasil ou ainda exportadas.

A elevada carga microbiana presente no fruto de açaí aumenta gradualmente na cadeia de produção e deve ser minimizada para ser garantida a segurança do produto final para o consumidor. A atual legislação de âmbito estadual do Pará (PARÁ, 2012a) determina que o açaí batido produzido artesanalmente e vendido diretamente ao consumidor seja processado de frutos branqueados a 80 °C por 10s, para inativação do protozoário *Trypanosoma cruzi*, agente causal da Doença de Chagas Aguda. Outros estados amazônicos não estão sob esta determinação legal, e o açaí batido comercializado não possui nenhum tratamento térmico dos frutos.

A melhoria dos processos de sanitização dos frutos, tornando-os mais eficazes quanto à redução da carga microbiana, devem passar pela avaliação do impacto sobre as características sensoriais do produto final. E este é um dos maiores desafios, uma vez que as propriedades sensoriais como sabor, textura, qualidade e aparência do produto final constituem um importante papel na decisão

do consumidor (VIDIGAL et al., 2011). No caso específico de suco de frutas, os fatores sensoriais importantes especialmente sabor podem ser afetados por tratamentos térmicos (SUNG et al., 2014).

2.1 Açaí

2.1.1 Botânica

O açaizeiro espécie *Euterpe oleracea* (Mart.) pertence à família Arecaceae, subfamília Ceroxylineae, sendo reconhecidamente uma espécie nativa do Brasil (HENDERSON, 2000). Há evidências de que o centro de origem seja a região do estuário amazônico, precisamente entre o norte do estado do Maranhão e os arredores do município de Parintins (PA) (DUCKE, 1946). O açaizeiro é uma palmeira cespitosa, caracterizando-se pelo caule tipo estipe com diâmetro de 12-18 cm e altura de até 30 m, podendo apresentar vários caules na fase adulta formando touceira composta de até 45 estipes (OLIVEIRA; MOCHIUTTI; FARIAS NETO, 2009) (Figura 1A).



Figura 1. Palmeira açaí com vários estipes (A) e fruto maduro aderido às ráquulas do cacho (B)

Sua inflorescência é do tipo cacho formada por ráquis, que por sua vez, é composta de várias ráquulas onde estão inseridas milhares de flores dispostas em espiral que se transformam em centenas de frutos (Figura 1B). Os frutos são do tipo drupa globosa com leve depressão, com peso variando de 0,5 a 2,8 g e diâmetro de 1 a 2 cm. A cor do fruto é um fator varietal, podendo

apresentar coloração verde brilhante quando imaturo e evoluindo a violáceo na variedade açáí preto, e o açáí verde cujos frutos exibem cor verde escuro brilhante ou verde opaco quando alcança a maturidade (OLIVEIRA; MOCHIUTTI; FARIAS NETO, 2009; OLIVEIRA et al., 2002; TREVISAN et al., 2015).

O fruto de açáí é composto de epicarpo (parte mais externa do fruto) de cor violácea-púrpura quase negro e muito fino, seguido do mesocarpo com 1 a 2 mm de espessura, sendo que estas duas camadas representam a parte comestível do fruto (polpa), que dependendo da variedade e do grau de maturidade do fruto representa cerca de 5 a 15% do volume do fruto (POMPEU; SILVA; ROGEZ, 2009). Frutos totalmente maduros também são cobertos por uma cutícula de cera (DIAS et al., 2012), sendo considerada um fator de determinação visual do estágio de maturação dos frutos. O caroço de açáí possui uma camada fibrosa envolvendo um endocarpo duro, um embrião pequeno com um cotilédone apresentando endosperma abundante e ruminado (Figura 2), e de comportamento recalcitrante (OLIVEIRA; MOCHIUTTI; FARIAS NETO, 2009; ROGEZ, 2000).



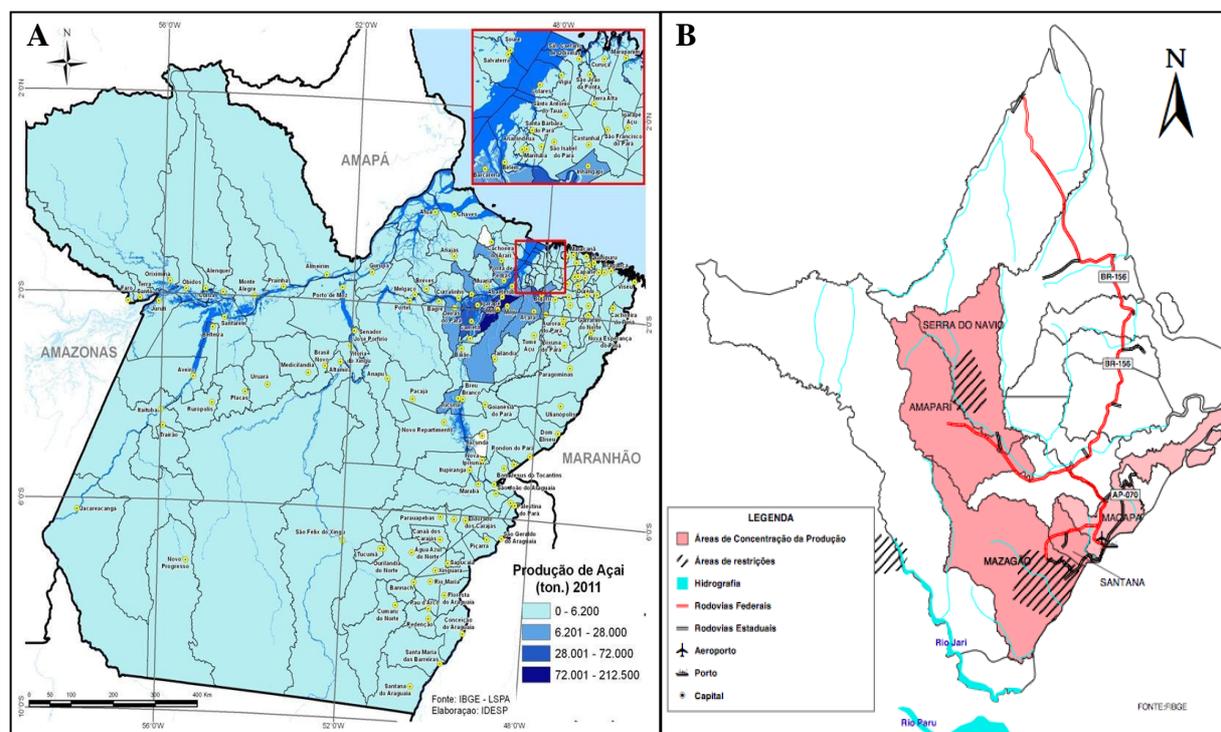
Fonte: (RABELO, 2013)

Figura 2. Detalhe de fruto de açazeiro em corte transversal.

2.1.2 Produção de frutos, mercado e consumo

O açazeiro é encontrado em campos localizados em áreas ribeirinhas e que se tornam inundáveis durante determinada época do ano (área de várzea), e em florestas inundadas ao longo das

margens dos rios (igapós), assim como em áreas sem interferência das marés, ocorrendo em terras brasileiras principalmente nos estados do Pará e Amapá (TREVISAN et al., 2015) (Figura 3A e B), sendo também encontrado na Guiana Francesa (ROBINSON; BEREAU; FAHRASMANE, 2013).



Fonte: (PARÁ, 2012b; SUFRAMA, 2003)

Figura 3. Principais áreas de ocorrência de açaí nos estados do Pará (A) e Amapá (B).

Esta palmeira representa um importante fator socioeconômico para a região amazônica, devido a um dos seus principais produtos, o açaí batido para o consumo imediato da população, assim como a polpa congelada industrialmente e o seu corante natural denominado antocianina, que é largamente empregado nas indústrias farmacêuticas, cosméticas e alimentícias (HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011). Quando a polpa de açaí é extraída sem a adição de água, obtém-se a polpa integral, que deve conter pelo menos 40% de sólidos totais, sendo utilizada para análises laboratoriais e também direcionada diretamente para mercados localizados longe dos centros de produção. As máquinas comerciais disponíveis não são capazes de realizar o processo de remoção da polpa de modo eficiente sem que haja a utilização da água (YAMAGUCHI et al.,

2015). O palmito também agrega relevância pelos valores de sua exploração, assim como o caule ou estipe na construção rústica de casas, pontes e cercas; as folhas na fabricação de coberturas e esteiras; e os caroços na produção de carvão vegetal, adubo orgânico, o uso da borra na produção de cosméticos; as fibras dos caroços em móveis, placas acústicas, xaxim, compensados, indústria automobilística, entre outros; e os caroços limpos na torrefação de café, panificação, extração de óleo comestível, fitoterápicos, ração animal e produção de biojóias (SENAI/SEBRAE/SESI/SESC/SENAC, 2013).

No Brasil, a produção de frutos nestes dois principais estados está bem definida, tendo no Pará uma produção mais volumosa no período de junho a agosto, e uma pequena safra no período de dezembro a março. No Amapá, a produção acontece no segundo semestre do ano, sendo o período compreendido entre julho a setembro, os meses de maior concentração da produção (MALCHER; CARVALHO, 2011). De acordo com Mintel (2015) citado por Silva et al. (2016), dos alimentos processados que apresentaram açaí em sua composição e que foram lançados no mercado global nos últimos 5 anos, 22% são representados por sucos, 12% bebidas energéticas e esportivas, 9% lanches, 7% sobremesas e sorvetes, 5% na categoria láctea e 3% em doces e balas. Estados Unidos (30%), Brasil (19%) e Canadá (8%) foram os países mais representativos no lançamento de produtos contendo açaí.

A produção nacional de frutos de açaí, levando-se em conta que o estado do Pará representa 80 a 90% da produção nacional (POLL et al., 2013), no ano de 2011 foi de 215,3 mil ton frutos gerando um movimento US\$ 700 mil, quando o preço da tonelada de açaí (US\$ 3,22 milhões) superou os preços da tonelada de soja e da castanha do Brasil, duas das principais commodities com alto volume de exportação (YAMAGUCHI et al., 2015). No ano de 2012, a produção de frutos alcançou 817,2 mil ton, sendo que o aumento foi relacionado tanto ao aumento da área de plantio em terra firme, quanto da produção de frutos em si, sendo avaliada em US\$ 1,2 bilhão (IBGE, 2013). No estado do Amapá, no ano de 2009, somente uma empresa exportou cerca de

US\$10,2 milhões em produtos de açaí, representando cerca de 5,6% do total de exportação do estado (CARVALHO, 2010).

No consumo interno, o estado do Pará apresentou um consumo per capita anual de 17,8 L, enquanto que na capital Belém onde o açaí representa o alimento mais popular, o consumo *per capita* foi de 10,4 L (IBGE, 2009), alcançando um consumo familiar anual de 102,1 L de açaí (SANTANA et al., 2014). Em estudo do perfil do consumidor de açaí na região metropolitana de Belém observou-se que quanto menor o salário recebido, maior a frequência do consumo de açaí, sendo que até um salário mínimo mantinha-se o consumo diário no período da safra (60,71%), e os consumidores que ganhavam entre 2 a 4 salários mínimos mantinham a frequência de consumir açaí entre duas a três vezes por semana (SANTANA; CARVALHO; MENDES, 2010). Mas no estado do Amapá, o consumo *per capita* de açaí no mesmo período foi de 24,4 L na capital Macapá (IBGE, 2009), sendo que no período de safra do fruto, quando o preço do açaí batido é bastante popular, o produto se torna o principal componente das refeições diárias da população mais carente (CARVALHO, 2010).

De acordo com Santana et al. (2014), o mercado varejista de açaí batido de Belém foi configurado em três segmentos: i) quitanda ou local onde o açaí é despulpado e vendido diretamente ao consumidor, representando 37% do mercado; ii) microempreendedores com pontos de venda com marca específica, participando em 40%, e iii) segmento supermercado, atualmente composto de redes de supermercados, praças de alimentação em shoppings e pontos de venda em que o açaí é o produto principal, que a partir de 2002 conquistaram 23% deste mercado.

2.1.3 Processamento do açaí

Um dos principais produtos processados do fruto do açaí é o **açaí batido** ou simplesmente açaí, definido como a polpa extraída com adição de água transformado semi-artesalmente e consumido diretamente pela população amazônica. O processamento do fruto realizado de forma

industrializada é denominada de **polpa** pasteurizada e congelada (BRASIL, 2000; SENAI/SEBRAE/SESI/SESC/SENAC, 2013). A polpa é exportada para toda a região nordeste, assim como para os estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Goiás e Brasília (FREGONESE et al., 2010) e para mercados internacionais como Estados Unidos, Japão, Itália e Holanda (HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011), obedecendo a legislação específica.

2.1.3.1 Açaí batido

Os padrões de identidade e qualidade mínimos específicos para polpa de açaí e o produto açaí foram definidos na Instrução Normativa Nº 01 (BRASIL, 2000), assim como os processos tecnológicos adequados para transformação do produto para consumo e a classificação do produto final. O produto açaí batido é classificado conforme a quantidade de água adicionada durante o processamento, na seguinte padronização: i) açaí grosso ou especial (tipo A) sendo a polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando acima de 14% de sólidos totais e uma aparência muito densa; ii) açaí médio ou regular (tipo B) é a polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando entre 11 a 14% de sólidos totais e uma aparência densa; iii) açaí fino ou popular (tipo C) é a polpa extraída com adição de água e filtração, apresentando de 8 a 11% de sólidos totais e uma aparência pouco densa (BRASIL, 2000).

O processamento é realizado em **processadoras semi-artesais** denominadas regionalmente como “batedeiras” ou “amassadeiras” (Figura 4A) ou em agroindústrias de pequeno porte (Figura 4B).



Fonte: (A) (BARTOLOMEU et al., 2013), (B) (GOMES, 2015).

Figura 4. Estrutura de processadoras tipo semi-artesal (A) e agroindústrias de pequeno porte (B)

De acordo com Malcher e Amaral (2009) e Santana et al. (2014), os empreendimentos artesanais operam na informalidade, atendendo a um pequeno número de consumidores, geralmente de baixa renda, tendo como única exigência que o açaí seja processado no mesmo dia. As “amassadeiras” paraenses apresentam capacidade de processamento diário variando entre 4 e 10 “rasas” (medida regional) de 14 kg de frutos por dia, produzindo cerca 36 L.dia^{-1} de açaí batido na entressafra e 90 L.dia^{-1} de açaí popular, ou açaí médio durante a safra. Nas principais cidades consumidoras no estado do Amapá, estes pequenos batedores semi-artesais processam de 2 a 20 rasas por dia em período de safra, obtendo em média $37,5 \text{ L.dia}^{-1}$ de açaí tipo médio (MALCHER; AMARAL, 2009).

Nas processadoras classificadas como **microempresas** ou agroindústrias de pequeno porte há uma maior preocupação com a qualidade do produto, incluindo aplicações de estratégias competitivas como serviços de entrega em domicílio e informações sobre a marca e o processo de fabricação (SANTANA et al., 2014). Sua capacidade de transformação é de cinco rasas de frutos na entressafra, produzindo 40 L.dia^{-1} de açaí batido, e 20 rasas na safra ou 160 L.dia^{-1} , em média (SANTANA; COSTA, 2008).

O segmento **supermercados** também processa e comercializa o açaí batido tipo popular e açaí médio, mas de melhor qualidade, com capacidade de processamento médio de cinco rasas na entressafra ou 35 L.dia⁻¹ e 25 rasas na safra ou 200 L.dia⁻¹ (SANTANA et al., 2014).

Em relação às diretrizes legislatórias, as agroindústrias de processamento de açaí são direcionadas pela Resolução nº 275 (BRASIL, 2002), que dispõe sobre o Procedimentos Operacionais Padronizados e as Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos.

Ao considerar a suspeita de ocorrência de surto de Doença de Chagas Aguda (DCA) transmitida por alimentos contaminados com *Trypanosoma cruzi*, inclusive o açaí (SILVA VALENTE; COSTA VALENTE; FRAIHA NETO, 1999), assim como de outras doenças de origem alimentar, publicou-se a Resolução RDC 218 (BRASIL, 2005) contendo os Procedimentos Higiênico-Sanitários para Manipulação de Alimentos e Bebidas Preparados com Vegetais, com o objetivo de complementar e aprimorar as ações de controle sanitário em unidades de comercialização e serviços de alimentação tais como lanchonetes, quiosques, barracas, ambulantes e similares, o que inclui o açaí. Com o advento da confirmação da contaminação oral de DCA veiculada pelo açaí (NÓBREGA et al., 2009; VALENTE et al., 2009) e a ausência de padronização de procedimentos para as processadoras de açaí batido e polpa, o estado do Pará elaborou Termos de Ajustamento de Conduta (TAC) para comprometimento do processador artesanal de açaí abtido em realizar o rastreamento da matéria-prima, peneiramento, cloração e processo de branqueamento dos frutos à temperatura de 80 °C durante 10s, como substituto do pasteurizador (PARÁ, 2007a) (Figura 5A), assim como para as agroindústrias, submetendo o suco de açaí ao processo de pasteurização, sob a temperatura de 80 °C a 90 °C, durante um mínimo de 10s, e imediatamente resfriamento no próprio trocador de calor (PARÁ, 2007b).

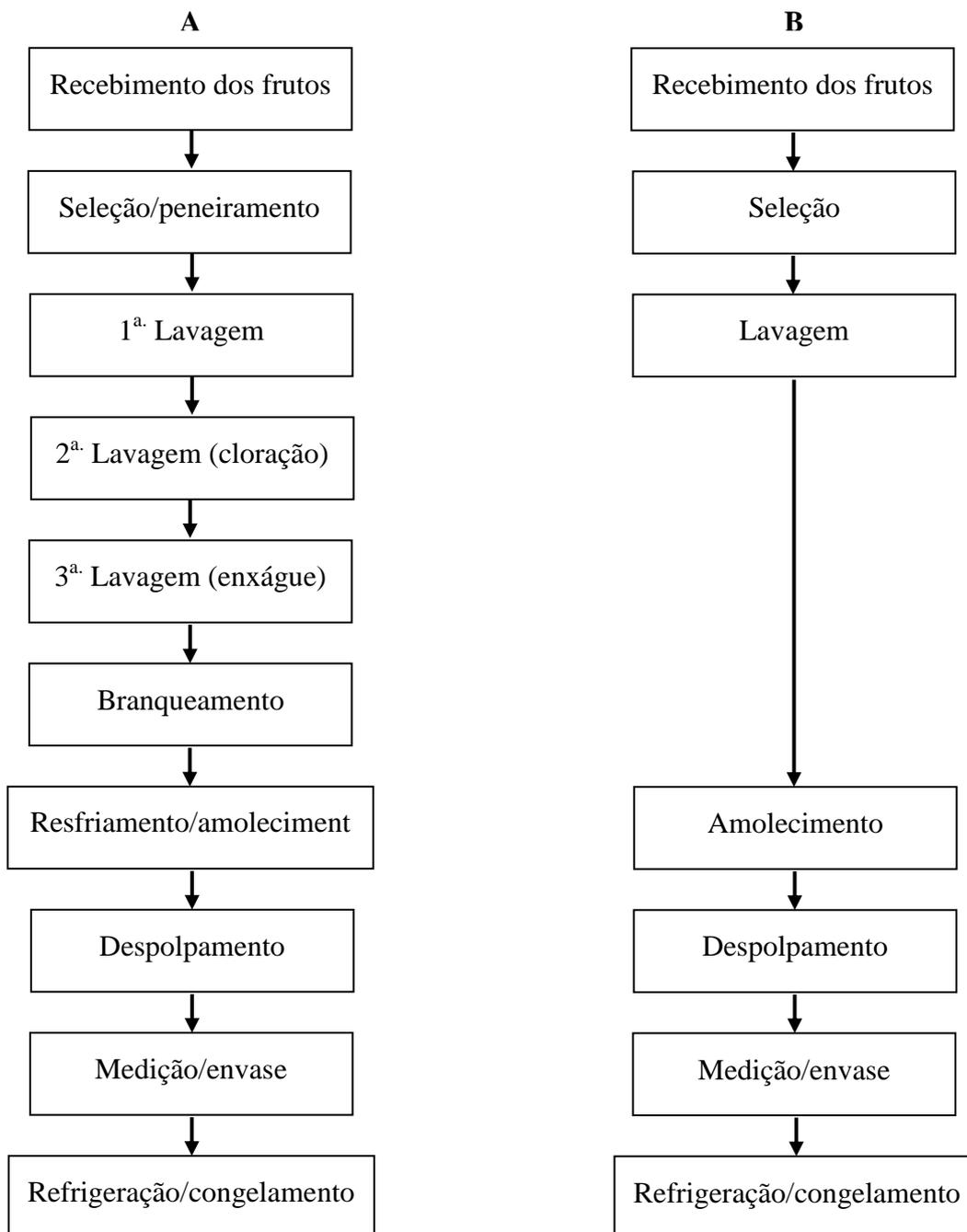


Figura 5. Fluxograma de processamento de açaí batido conforme legislação (PARÁ, 2007a, 2012a) (A) e da maneira tradicional (sem tratamento térmico) (B).

Em 2008, a Anvisa estabelece o Gerenciamento do Risco Sanitário na Transmissão de Doença de Chagas Aguda (BRASIL, 2008b) para melhoria da qualidade higiênico-sanitária do açaí, assim como recomendações aos processadores de açaí desde a colheita do fruto. E em 2012, o estado do Pará determina por legislação própria (PARÁ, 2012a) etapas imprescindíveis na prevenção dos

surtos com Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) e minimizando o risco sanitário durante o processamento artesanal de açaí, por meio de peneiramento dos frutos, uso de água potável durante as lavagens, sanitização com água clorada e branqueamento dos frutos a uma temperatura de 80 °C por 10s com imediato resfriamento e/ou amolecimento (Figura 5A). Malcher e Amaral (2009) ao estudarem a cadeia de comercialização do açaí nas principais cidades do estado do Amapá relataram que a grande maioria das processadoras artesanais não utilizavam água clorada durante a fase de sanitização dos frutos e nem água filtrada na fase de amolecimento do açaí. Outro fator importante foi a constatação da ausência de qualquer tratamento térmico dos frutos durante o processamento em açaí batido, apesar dos esforços dos órgãos competentes em transferir as técnicas sanitizantes conforme a nova realidade (BEZERRA, 2007) (Figura 5B).

2.2 Composição

Nos últimos anos, observou-se um aumento da exploração econômica de determinados produtos devido ao apelo pela inserção de alimentos mais saudáveis na dieta, e dentre estes, os alimentos que apresentem compostos com propriedades funcionais como a atividade antioxidante, pois auxiliam a proteger o organismo humano contra o estresse oxidativo, evitando e prevenindo uma série de doenças crônico-degenerativas (CANUTO et al., 2010). O açaí é considerado um alimento energético e benéfico à saúde, fonte de fibras, proteínas, vitamina E e ácidos graxos essenciais, como Ômega-6 e Ômega-9, além de minerais, como manganês, boro, cromo e cobre (ETO et al., 2010). A coloração arroxeada de seus frutos é devido à presença de antocianinas que apresentam um elevado poder antioxidante (FREGONESE et al., 2010), conferindo ao açaí a identificação de alimento funcional (POMPEU; BARATA; ROGEZ, 2009). Muitos autores relatam os benefícios à saúde trazidos pelo consumo de açaí, entre eles o aumento da capacidade antioxidante do plasma sanguíneo (MERTENS-TALCOTT et al., 2008), diminuição do estresse (NORATTO et al., 2011), efeitos anti-inflamatórios (KANG et al., 2011), melhoramento da função endotelial (MICHALSKA et al., 2010), agregação de plaquetas e melhoramento das

propriedades sobre a síndrome metabólica (UDANI et al., 2011), efeitos anti-alérgicos e propriedades anticancerígenas (HORIGUCHI et al., 2011). Por outro lado, Heirinch, Dhanji e Casselman (2011) relatam que as evidências científicas que promovem o açaí como um excepcional suplemento de saúde ainda são insuficientes e insatisfatórias, mas assinalam um promissor potencial em relação às atividades antiproliferativas e de cardioproteção.

A composição nutricional do açaí tem sido relatada em muitos estudos, mas infelizmente não tem havido muito consenso em relação aos resultados, principalmente quanto à metodologia (SCHAUSS et al., 2006a) e a matriz utilizada para análise (Quadro 1).

Quadro 1. Composição e valor energético de frutos e polpa processada de açaí.

| Variável | Polpa e frutos integrais (g.100g ⁻¹ MS) | | | Polpa (g.100g ⁻¹ MS) | | | Polpa (g.100g ⁻¹) | Polpa integral (g.100g ⁻¹) |
|---|---|-------------------|---------------------------|------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|--|
| | Neida & Elba (2007) | Schauss (2010) | Gordon et al (2012) | Fregonese et al (2010) | Rufino et al (2011) | Oliveira silva et al (2011) | Nascimento et al (2008) | Eto et al (2010) |
| pH | - | - | - | - | - | 4,30 | 5,0 | 3,4-4,4 |
| Umidade (%) | - | 3,4 | - | 90,01 | - | - | 89,18 | 93,4-95,0 |
| Sólidos totais (%) | - | - | - | 9,98 | - | 10,35 | - | - |
| Sólidos solúveis totais (°Brix) | - | - | - | - | - | - | 0,7 | 4,7-7,0 |
| Acidez total titulável (%) | - | - | 1,2 ¹ ±0,0 | 0,18 ² | - | 0,53 ² | 0,19 ² | - |
| Lipídeos (g.100g ⁻¹) | 33,1-49,4 | 32,5 | 48,0±4,0 | 36,47 | 20,82±1,60 | 31,07 | 4,61 | 3,6-5,4 |
| Proteínas (g.100g ⁻¹) | 13,8-15,9 | 8,1 | 12,0±0,0 | 8,84 | 6,27±0,31 | 9,45 | 0,17 | 0,6-0,7 |
| Fibras (g.100g ⁻¹) | 20,0-30,9 | 44,2 | - | 1,68 | - | - | - | - |
| Carboidratos (g.100g ⁻¹) | 31,6-48,8 | 52,2 | 36,0±4,0 | 3,61 | - | - | 5,63 | - |
| Calorias (kcal.100g ⁻¹) | - | 533,9 | - | 58,36 | - | - | - | - |
| Cinzas (%) | 2,2-5,2 | 3,8 | 4,0±0,0 | 0,30 | 1,99±0,17 | - | 0,41 | 0,3-0,3 |
| Cr (mg.100g ⁻¹) | 0,3-0,4 | - | - | - | - | - | - | - |
| Zn (mg.100g ⁻¹) | 0,6-0,2 | - | 2,1±0,0 | - | - | - | - | - |
| Fe (mg.100g ⁻¹) | 2,3-1,5 | 4,4 | 7,8±0,2 | - | - | - | - | - |
| Cu (mg.100g ⁻¹) | 1,0 | - | - | - | - | - | - | - |
| Mn (mg.100g ⁻¹) | 9,0-1,3 | - | 13,3±0,1 | - | - | - | - | - |
| Na (mg.100g ⁻¹) | 6,6-9,0 | 30,4 | 6,8±0,7 | - | - | - | - | - |
| K (mg.100g ⁻¹) | 69,7-46,6 | - | 930±9,9 | - | - | - | - | - |
| Mg (mg.100g ⁻¹) | 7,9-11,2 | - | 172±0,3 | - | - | - | - | - |
| Ca (mg.100g ⁻¹) | 37,3-18,2 | 260,0 | 423±1,2 | - | - | - | - | - |
| P (mg.100g ⁻¹) | - | - | 186±1,6 | - | - | - | - | - |

¹ A acidez é expressa ácido málico (%). ² expressos ácido cítrico (%)

Em estudos anteriores, o produto açaí batido foi considerado pouco ácido com pH médio de 5,23 (ROGEZ, 2000), sendo que nos resultados relatados os valores variaram dentro do mesmo tipo de produto (Quadro 1), variações estas podendo ser decorrentes do estágio de maturação dos frutos,

pois ocorre uma leve alcalinização dentro dos meses de safra. O açaí é reconhecidamente um alimento altamente calórico em vários estudos (FREGONESE et al., 2010; NEIDA; ELBA, 2007), pois os teores de **lipídeos** relatados foram quantitativamente maiores do que os demais componentes da matéria seca. Também pode ser considerado um alimento fonte de fibras, sendo comparado aos teores encontrados na farinha de trigo integral ou do farelo de arroz (BELDA-GALBIS et al., 2015). Rogez (2000) relatou que o açaí batido, num volume de 1 L, constitui uma excelente contribuição em lipídeos, fibras, manganês, cobre e em cromo, pois contribui com valores superiores a 65% do valor recomendado. Também fornece valores notáveis de proteínas, cálcio, magnésio e potássio, com valores entre 25% e 65% dos valores recomendados. Mas é considerado pobre em fósforo, sódio, zinco e ferro, por contribuir com valores inferiores a 25% do valor recomendado. Os ácidos graxos componentes da fração lipídica do açaí merecem uma atenção especial (Quadro 2), pois ácidos graxos mono e poli-insaturados têm sido associados à redução do risco de cardiopatias, incluindo a hipertensão e a aterosclerose (BASU, 2006; SILVA et al., 2013).

Quadro 2. Composição de ácidos graxos em diferentes produtos de açaí

| Produto | Polpa e frutos integrais | | Polpa | Polpa | Óleo bruto | Extrato |
|--|---------------------------|------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | (g.100g ⁻¹ MS) | | (g.100g ⁻¹ MS) | (g.100g ⁻¹) | (g.100g ⁻¹ MS) | (g.100g ⁻¹ MS) |
| Ácido graxo (g.100g ⁻¹) | Neida & Elba (2007) | Rufino et al (2011) | Schauss (2010) | Nascimento et al (2008) | Silva et al. (2013) | |
| C _{16:0} palmítico | 23±0,1 | 25,3 | 24,1 | 26,2 | 20,4 | 20,7 |
| C _{18:0} esteárico | 1,3±0,0 | 1,4 | 1,6 | 1,8 | 1,3 | 1,3 |
| C _{16:1} palmitoleico | 5±0,1 | 5,4 | 4,3 | 4,9 | 3,4 | 3,5 |
| C _{18:1} oleico | 54,4±0,2 | 56,9 | 56,2 | 55,5 | 63,9 | 63,7 |
| C _{18:2} linoleico | 16±0,0 | 10,6 | 12,5 | 7,3 | 10,3 | 10,2 |
| C _{18:3} linolênico | 0,8±0,1 | 0,5 | 0,8 | 0,6 | 0,5 | 0,6 |

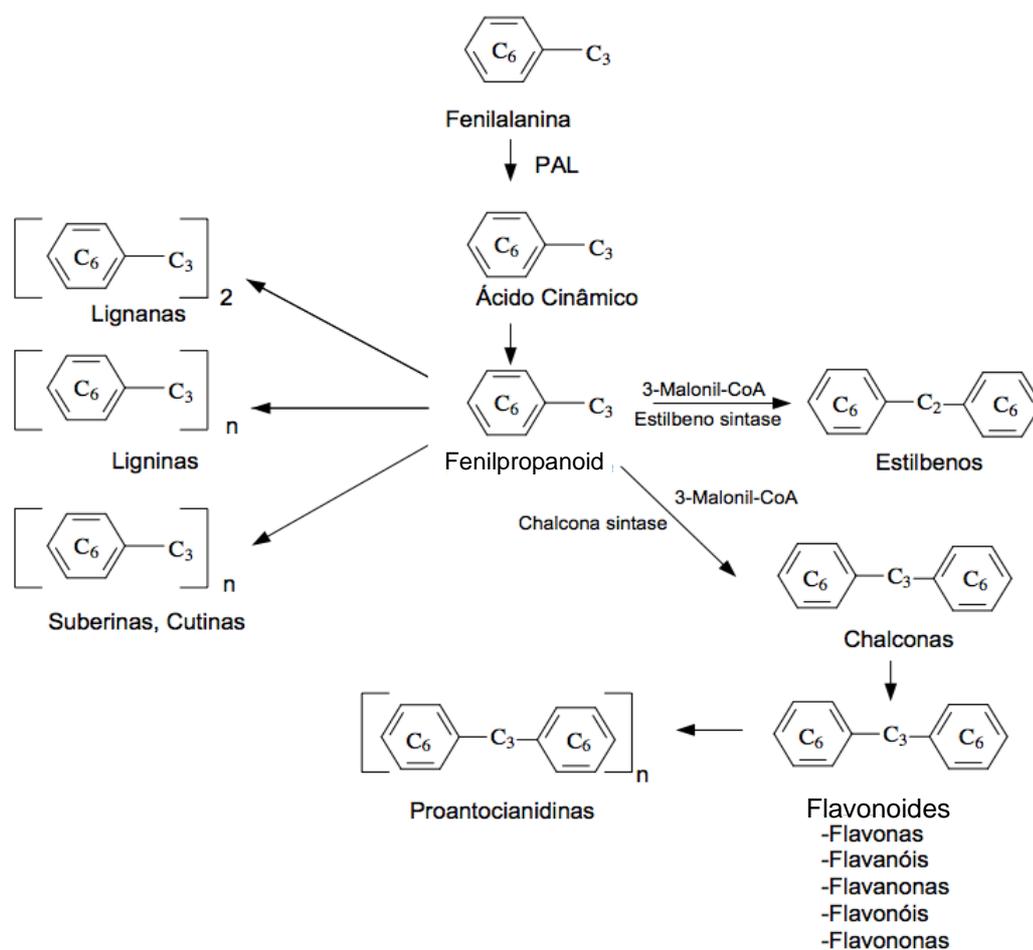
O ácido oleico (ômega 9) é encontrado em teores elevados na polpa de açaí (Quadro 2), variando de 54,4 % a 63,9% dos lipídeos, dependendo do produto de açaí estudado. Este ácido graxo é considerado um ácido graxo insaturado essencial e vital na síntese hormonal (FAVACHO et al., 2011). O ácido graxo linoleico (ômega 6), relatado em 10,6 a 16% dos lipídeos em polpas e frutos integrais de açaí (Quadro 2), participam da estrutura de membranas celulares, influenciando a viscosidade sangüínea, permeabilidade dos vasos, ação anti-agregadora, pressão arterial, reação inflamatória e funções plaquetárias. Estudos mostram que os efeitos causados pela substituição de gordura saturada por gordura monoinsaturada na dieta, leva à redução nos níveis de colesterol total e de LDL (*low density lipoprotein*), sem alterar significativamente os níveis de HDL (*high density lipoprotein*). O ácido graxo linolênico (ômega 3), encontrado de 0,5 a 0,8% da fração lipídica de polpa e frutos integrais de açaí (Quadro 2), é também o precursor primordial das prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos com atividade anti-inflamatória, anticoagulante, vasodilatadora e anti-agregante (MORAES; COLLA, 2006). Silva e Rogez (2013) observaram que os teores de ácidos graxos em óleo de açaí e em um extrato comercial eram bastante similares, mas as transformações e os processamentos do fruto em diversos produtos podem levar a perdas destes componentes essenciais ao organismo humano. Em análises de sucos clarificados e filtrados houve perda significativa de ácidos graxos mono e poli-insaturados encontrados naturalmente na fruta, havendo indução de consumidores a crer erroneamente que aqueles produtos excessivamente processados eram nutricionalmente similares ao suco de açaí original (SCHAUSS, 2010). Silva e Rogez (2013) ao estudarem estabilidade oxidativa do óleo bruto de açaí submetido a 60 °C observaram que os ácidos graxos poli-insaturados apresentam redução significativa ao longo da cinética de oxidação.

2.2.1 Compostos bioativos e atividade antioxidante

2.2.1.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos, incluindo os ácidos fenólicos, são metabólitos secundários de plantas e fungos, e tem a função de proteção contra luz UV, insetos, vírus e bactérias. Também existem plantas que possuem compostos fenólicos, como os ácidos cafeico e ferúlico, capazes de inibir o crescimento de outras plantas competidoras (alelopatia). Deste modo, acredita-se que estes compostos são fundamentais para que as plantas conquistem seu ambiente terrestre, como a lignina que está relacionada ao sistema vascular vegetal contribuindo para a rigidez de seus vasos (HELENO et al., 2015). A presença dos compostos fenólicos em vegetais é altamente variável qualitativamente e quantitativamente, sendo que alguns de seus compostos são ubíquos enquanto outros são restritos a algumas famílias ou espécies, e dentro de uma mesma espécie a variação destes compostos pode ser devida a fatores genéticos, assim como aos estádios de crescimento e maturação (CHEYNIER, 2005). Os compostos fenólicos também são responsáveis por algumas características sensoriais nos alimentos como a adstringência, amargor e aroma, além de conferir estabilidade oxidativa de produtos derivados de vegetais (CRUZ, 2008; SHAHIDI; NACZK, 1996). Aos compostos fenólicos tem-se reportado múltiplas funções biológicas, incluindo a atividade antioxidante, tendo os polifenóis como os principais agentes antioxidantes na dieta alimentar humana (ALSHIKH; DE CAMARGO; SHAHIDI, 2015). E nesta função, compostos fenólicos são capazes de prevenir o início da oxidação em cadeia pela eliminação dos radicais primários como radicais hidroxilas, decompor produtos primários de oxidação para espécies não radicais, e quelar metais íons prooxidantes (SHAHIDI; NACZK, 1996). Por estas características, o papel dos compostos fenólicos e polifenóis presentes nos alimentos tem sido reconhecido na prevenção de doenças cardiovasculares e de certos tipos de câncer, assim como redução da obesidade e gordura visceral e como anti-inflamatórios potenciais (CAMARGO et al., 2015).

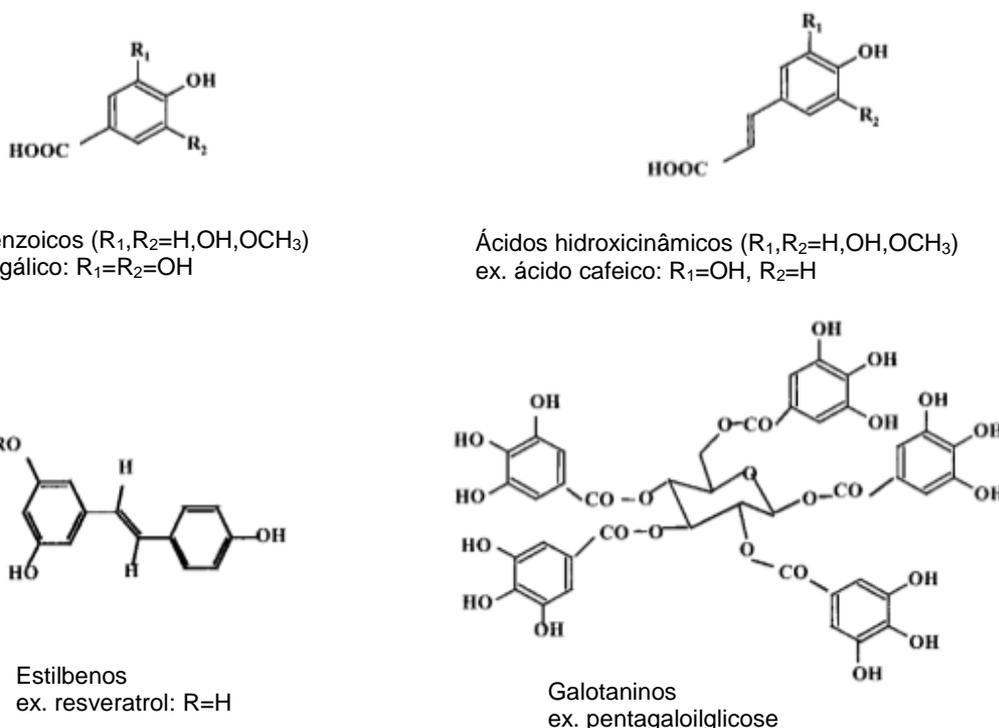
Os compostos fenólicos são derivados metabólicos dos aminoácidos L-fenilalanina e L-tirosina produzidos em células vegetais, mas ocorrendo em variadas classes e subclasses e em concentrações diferenciadas, dependentes de onde se encontram no vegetal. A fenilalanina amônia-liase (PAL) é a enzima chave na regulação da via metabólica convertendo a L-fenilalanina em ácido cinâmico e iniciando a biossíntese de fenólicos, sendo que as classes e subclasses serão determinados por fatores genéticos (CRUZ, 2008). Os fenólicos vegetais incluem os fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados dos ácidos benzoico e cinâmico), coumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos hidrolizáveis e condensados, lignanas e ligninas (NACZK; SHAHIDI, 2004) (Figura 6).



Fonte: (NACZK; SHAHIDI, 2004)

Figura 6. Produção dos fenilpropanoides lignanas, ligninas, suberinas, cutinas, estilbenos, flavonoides e taninos a partir da fenilalanina.

Os compostos não-flavonoides são uma classe heterogênea, composta em sua maioria de moléculas simples, tais como ácidos fenólicos que se subdividem em ácidos benzoicos e ácidos hidroxicinâmicos baseados em um esqueleto C1-C6 e C3-C6, respectivamente, e em estilbenos, mas também de moléculas mais complexas como galotaninos e ligninas, entre outras (CHEYNIER, 2005) (Figura 7).

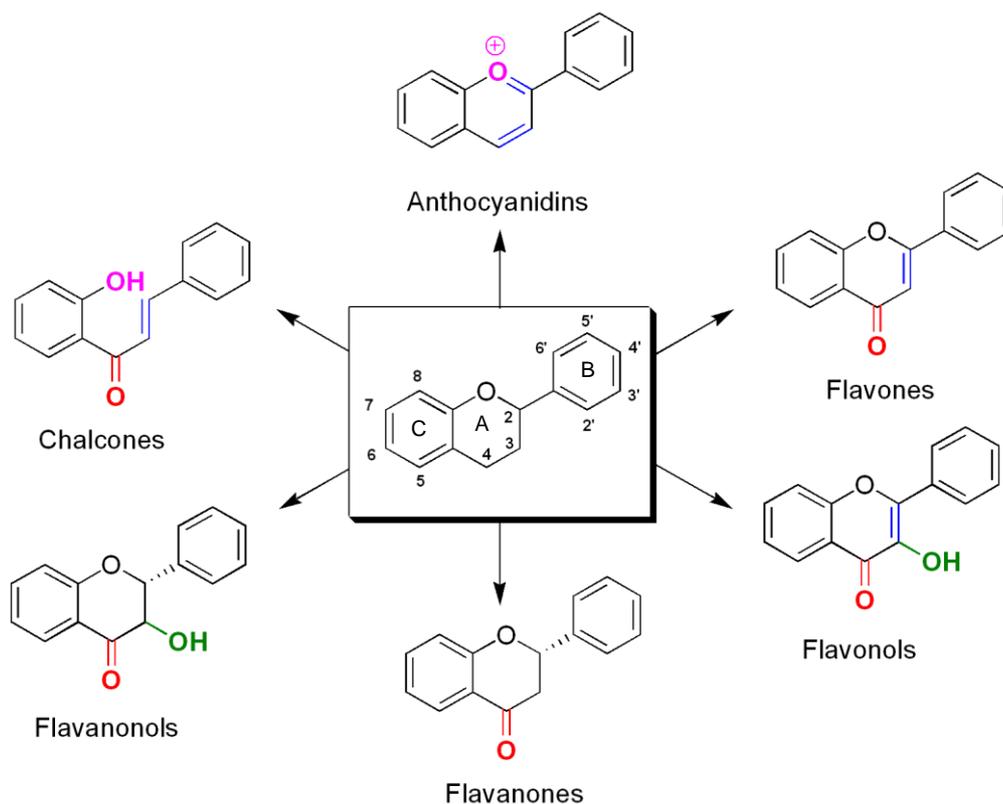


Fonte: (CHEYNIER, 2005)

Figura 7. Estrutura química das principais classes de polifenólicos não-flavonoides.

O grupo dos flavonoides apresenta um esqueleto carbônico básico $C_6-C_3-C_6$ característico deste agrupamento, consistindo de dois anéis fenólicos ligados por três carbonos compondo um heterociclo oxigenado denominado núcleo flavano (Figura 8). Os flavonoides são divididos em várias classes que diferem pelo estado oxidativo do núcleo flavano (anel heterocíclico C) (ex. antocianidinas, flavanonas, flavanois, flavonas, flavononois e chalconas). E dentro destas classes de flavonoides podem haver inúmeros padrões de substituições nos anéis A e B (ou adicionalmente glicosilação ou acilação) formando compostos específicos, às vezes com estruturas altamente complexas, sendo que mais de 4.000 tipos de flavonoides já foram

identificados em vegetais e este número está sempre aumentando (CHEYNIER, 2005; DAMODARAM; PARKIN; FENNEMA, 2010).



Fonte: (NATURSTOFFWIKI, 2015)

Figura 8. Esqueleto carbônico de algumas classes de flavonoides importantes, tendo em comum o núcleo flavano.

Neste grupo dos flavonoides encontram-se as **antocianinas** que é considerado um dos grupos de pigmentos de maior distribuição no reino vegetal, responsáveis por diversas cores nas plantas como azul, roxo, violeta, magenta, vermelho e laranja (DAMODARAM; PARKIN; FENNEMA, 2010). O açaí apresenta um teor consideravelmente elevado de compostos fenólicos, e entre estes uma variedade de antocianinas, flavonas e ácidos fenólicos, que lhe confere uma alta capacidade antioxidante *in vitro* (GORDON et al., 2012). O fruto é reconhecidamente uma substancial fonte de antocianinas, responsáveis pela cor violácea de seus frutos, além de conferir uma alta capacidade antioxidante (INÁCIO et al., 2013; LICHTENTHÄLER et al., 2005), maior do que

qualquer fruta ou vegetal que tenha sido analisado, incluindo mirtilos, morangos e framboesa (SCHAUSS et al., 2006a).

2.2.1.1.1 Análise de compostos fenólicos

Muitas dificuldades são listadas quando se trata de análise de componentes fenólicos, como a heterogeneidade de pesos moleculares e diversidade dos compostos, assim como pela ausência de técnicas de separação eficazes (CHEYNIER, 2005). A identificação individual de todos os compostos fenólicos não é possível, devido à sua complexidade química, podendo haver a determinação de modo individual em alguns casos, mas em amostras complexas pode ser mais útil determinar grupos de compostos semelhantes. Tradicionalmente, o termo “teor de fenólicos totais” é referente ao resultado obtido por métodos espectrofotométricos, especialmente o método de Folin–Ciocalteu (GARCÍA-GUZMÁN et al., 2015), mas outros métodos de determinação do teor de fenólicos totais são utilizados como as metodologias cromatográficas, como líquida de alta eficiência (CLAE) e eletroforese capilar, que permitem quantificar as concentrações de vários compostos fenólicos de forma mais individualizada (SHAHIDI; NACZK, 1996).

O método do reagente Folin-Ciocalteu foi inicialmente descrito para a análise de proteínas, levando a vantagem da atividade do reagente estar direcionada ao resíduo da tirosina, que contém um grupo fenol (FOLIN; CIOCALTEU, 1927). A metodologia de Folin-Ciocalteu ficou reconhecida e popularizada para quantificar fenólicos totais, tendo por base a transferência de elétrons em reações de oxidação/redução ocasionada pela mistura de dois oxidantes inorgânicos fortes como os ácidos fosfotungstíco ($H_3PW_{12}O_{40}$) e fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), que oxidam um grande número de substâncias reduzidas presentes na amostra, com monitoramento da mudança de absorvância durante uma reação colorida. Ou seja, o que realmente é avaliado é a capacidade de redução da amostra, o que não reflete a quantidade de fenólicos desta amostra (MARTINEZ-PERÍÑAN et al., 2011; STEVANATO; FABRIS; MOMO, 2004).



Também reconhece-se a falta de especificidade do método, pois várias substâncias não fenólicas tais como ácido ascórbico, glicose e frutose em sucos, frutos e hortaliças podem interferir na mensuração dos fenólicos totais (KANG et al., 2012). Georgé et al. (2005) propôs um método colorimétrico mais rápido, utilizando o mesmo reagente de Folin-Ciocalteu, para estimar o teor de polifenóis total de alimentos e bebidas, após a remoção dos interferentes redutores não fenólicos presentes na amostra.

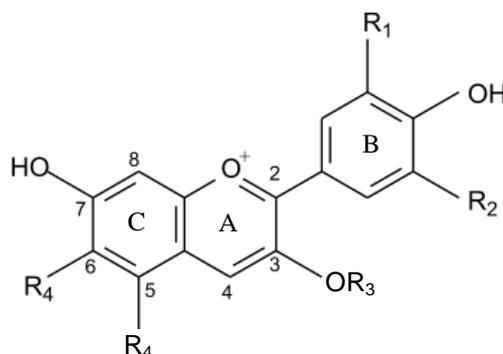
Vários métodos cromatográficos foram desenvolvidos para quantificação de compostos fenólicos em vegetais, baseados em diferentes princípios utilizados para determinar grupos estruturais diversos presentes nos compostos fenólicos. As técnicas cromatográficas líquida de alta eficiência (CLAE) e gasosa (CG) são as mais utilizadas para separação e quantificação de compostos fenólicos (NACZK; SHAHIDI, 2004), assim como para avaliação das interações entre os fenólicos com outros componentes da matriz (CRUZ, 2008). Mas muitos destes compostos fenólicos apresentam uma grande diversidade de estruturas que não são detectados quando analisados por CLAE, pois há uma ausência de padrões comerciais, levando geralmente a um teor de polifenol total subestimado (GEORGÉ et al., 2005). Mas a elucidação destas estruturas pode ser alcançada utilizando a combinação das técnicas cromatográficas CG e CLAE com a técnica de espectrometria de massa (NACZK; SHAHIDI, 2004).

García-Guzmán et al. (2015) relataram que alguns métodos eletroquímicos tem sido propostos para a caracterização de polifenóis em vinho, levando-se em consideração que todas as moléculas polifenólicas presentes no vinho são eletroquimicamente ativas, mas com restrições pois outros compostos com potenciais redox semelhantes podem apresentar interferências. O primeiro método eletroquímico descrito foi o de voltametria cíclica, para caracterização e quantificação dos compostos polifenólicos, seguido da análise por injeção de fluxo com detecção eletroquímica

para quantificação do teor de polifenólicos totais, além da voltametria de pulso diferencial (BLASCO et al., 2005; GAMELLA et al., 2006; ŠERUGA; NOVAK; JAKOBEK, 2011). Biosensores também foram propostos como uma ferramenta analítica eficaz para detecção de compostos fenólicos, com a vantagem de serem altamente seletivos, como o biosensor amperométrico e as nanopartículas imobilizadas em eletrodos de vidro ou de ouro (CHAWLA et al., 2012; GAMELLA et al., 2006).

2.2.1.2 Antocianinas e atividade antioxidante

A palavra antocianina deriva das palavras *anthos* (flor) e *kyanos* (azul) e representa o grupo de pigmentos de maior expressão e distribuição no reino vegetal. Pertencem ao grupo dos flavonoides apresentando o cátion *flavano*, em comum na estrutura básica 2-fenilbenzopirilium (Figura 9) (MAZZA; BROUILLARD, 1990), que se apresenta muito reativo pois é deficiente de elétrons (DAMODARAM; PARKIN; FENNEMA, 2010).



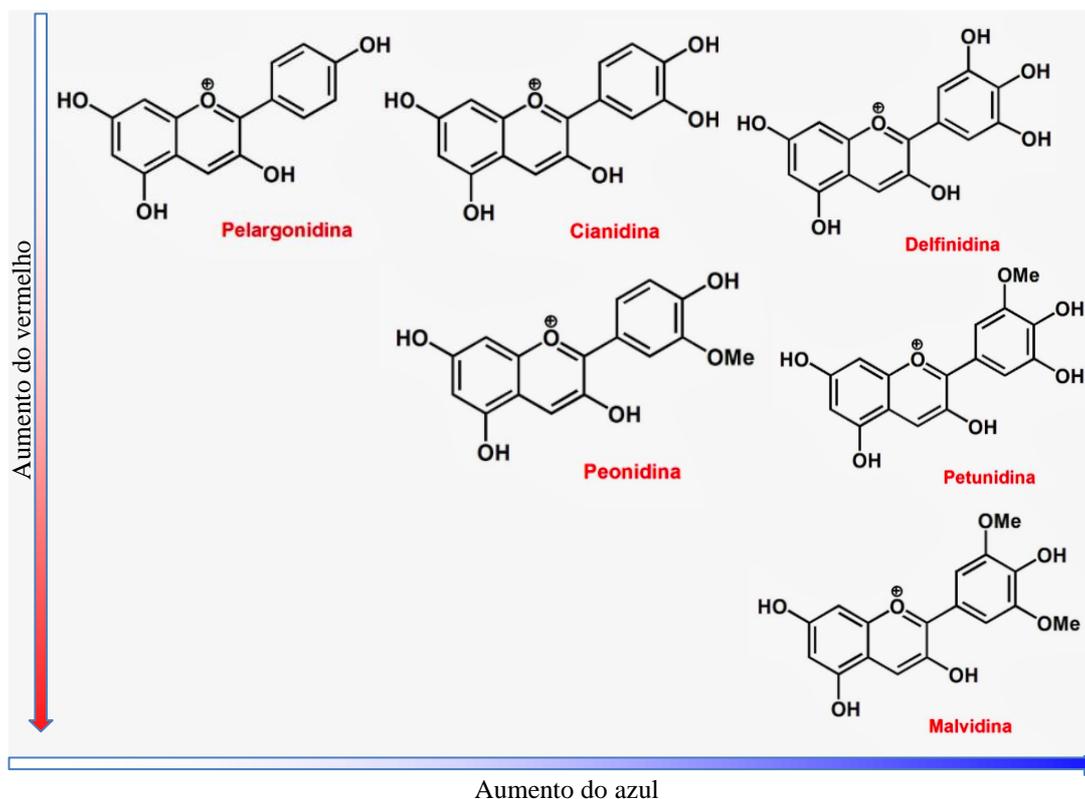
Fonte: (PASCUAL-TERESA; MORENO; GARCÍA-VIGUERA, 2010)

Figura 9. Estrutura básica do cátion *flavano*

Já foram identificadas mais de 500 diferentes antocianinas em plantas, 23 antocianidinas das quais somente seis são as mais comuns em vegetais vasculares: pelargonidina, peonidina, cianidina, malvidina, petunidina e delphinidina (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009). Os fatores que diferenciam as antocianinas entre si encontram-se: i) no número de grupos hidroxila e/ou nos grupos metoxi presentes; ii) na natureza, números, posição de ligação dos açúcares na molécula;

iii) no natureza e números de ácidos alifáticos ou aromáticos que estão ligados aos açúcares da molécula; iv) o pH (MAZZA; BROUILLARD, 1990).

Os açúcares estão ligados às antocianinas pelos grupos hidroxila OH-, sendo que os mais comumente encontrados são glicose, rarnose, galactose, arabinose, xilose, di e tri sacarídeos formados como glicosídeos desses açúcares. As antocianinas quando se encontram livres destes açúcares são chamadas de antocianidinas ou agliconas, sendo que muitas ocorrem com maior frequência na natureza (DAMODARAM; PARKIN; FENNEMA, 2010) (Figura 10).



Fonte: (DAMODARAM; PARKIN; FENNEMA, 2010)

Figura 10. Principais antocianidinas em relação ao aumento da intensidade das cores vermelho e azul.

As mesmas antocianinas podem ter diferentes cores, dependendo do pH e a concentração da solução e a presença de copigmentos. Em pH 1, o cátion *flavano* é a espécie predominante e contribui para as cores vermelhas e púrpuras, e em pH variando de 2 a 4, as formas quinoidais azuis são predominantes, enquanto valores de pH 5 a 6,2 somente as duas espécies sem cor são

observadas: pseudobase carbinol e chalcona. Em meios com pH acima de 7, as antocianinas são degradadas dependendo de seus grupos substituintes (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

A estabilidade das antocianinas é altamente influenciada pelas substituições que podem ocorrer do anel B (Figura 9), e também pela presença de grupos hidroxilas e metoxilas que diminuem a estabilidade da aglicona em meio neutro. Por outro lado, a presença de derivados de monoglicosídeos e a maioria de diglicosídeos conferem mais estabilidade em condições de pH neutro, pois as moléculas de açúcares evitam a degradação de intermediários instáveis em ácido fenólico e compostos aldeídos (FLESCHHUT et al., 2006).

O fenômeno da co-pigmentação com antocianinas acontece quando outros compostos orgânicos (co-pigmentos) sem cores formam moléculas ou complexos que mudam a cor, podendo até mesmo aumentar sua intensidade, sendo um dos principais mecanismos de estabilização da cor. O cátion *flavano* pobre em elétrons e altamente reativo torna-se estável quando são associados com co-pigmentos, como o ácido clorogênico que são sistemas ricos em *p*-elétrons (MAZZA; BROUILLARD, 1990).

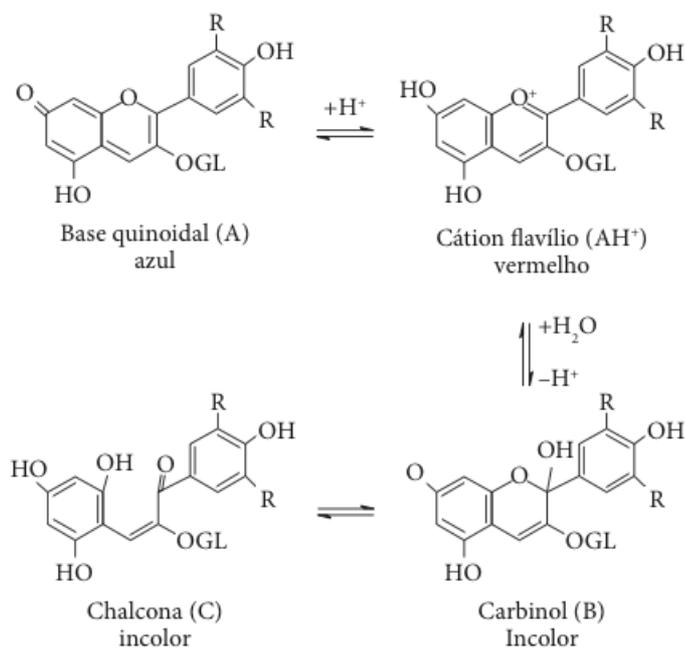
As antocianidinas e antocianinas apresentam uma elevada atividade antioxidante pela capacidade de captura de radicais livres do meio pela doação do átomo de hidrogênio fenólico, sendo que já foi observado uma correlação linear positiva entre capacidade antioxidante e o teor de antocianinas em mirtilos, framboesas pretas e vermelhas e morangos (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009)

As principais antocianinas encontradas em frutos de açaí, em quantidades consideráveis, foram cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo (GOUVÊA et al., 2012). Outras antocianinas monoméricas também foram relatadas como cianidina-3-O-sambubiosídeo, pelargonidina-3-O-glucosídeo, e peonidina-3-O-glucosídeo em menores concentrações (SCHAUSS et al., 2006a). A polpa de açaí apresenta valores de atividade antioxidante relativamente altos (48,6 $\mu\text{mol Trolox equivalentes.mL}^{-1}$) quando comparados a outros frutos reconhecidamente ricos em antocianinas

como mirtilos, morangos, framboesas, amoras, oxococo e suco de uva (DEL POZO-INSFRAN; BRENES; TALCOTT, 2004; TONON; BRABET; HUBINGER, 2010).

2.2.1.2.1 Análise de antocianinas

As antocianinas podem ser avaliadas quantitativamente por metodologias baseadas em espectrofotometria e cromatografia. Dados bibliográficos mostram que o teor de antocianinas totais são determinados mais frequentemente pelos métodos baseados no efeito clareador de SO₂ e no pH diferencial, sendo que ambos apresentam certos desvios dos resultados reais, pois o primeiro superestima o teor de antocianinas, enquanto o segundo subestima devido à conversão incompleta das formas antociânicas copigmentadas (PRODANOV et al., 2005). O método do pH diferencial foi proposto para caracterização qualitativa dos extratos antociânicos, baseado principalmente em mensurações do espectro do visível das mudanças estruturais do cromóforo das antocianinas entre os pH 1,0 e 4,5. A técnica de avaliação quantitativa de antocianinas em amostras pela mudança de absorbâncias foi primeiramente introduzida utilizando valores de pH de 3,4 e 2,0 (SONDHEIMER; KERTESZ, 1948), sendo seguido por vários autores que propuseram valores de pH de 1,0 e 4,5 e as absorbâncias medidas em dois comprimentos de onda, 700 nm e comprimento de máxima absorção ($\lambda_{\text{máx}}$), que pode variar de 510 a 550 nm em função das antocianinas presentes na amostra (FULEKI; FRANCIS, 1968; GIUSTI; WROLSTAD, 2001). Com esta metodologia, as antocianinas monoméricas sofrem uma modificação estrutural reversível em função do pH, pois em pH 1,0 temos a forma colorida e em pH 4,5 a forma hemiquetal incolor (Figura 11) e esta diferença de absorbâncias é proporcional à concentração do pigmento (LEE; DURST; WROLSTAD, 2005).



Fonte: (LEVI et al., 2004)

Figura 11. Estrutura molecular encontradas em solução aquosa com diferentes valores de pH. química das principais classes de polifenólicos não-flavonoides. Cátion *flavano* (AH⁺), (A) base quinoidal, (B) carbinol ou pseudo base, (C) chalcona.

A identificação das antocianinas individuais por técnica cromatográfica líquida (CLAE), eletroforese capilar e espectrometria de massa foram relatadas, onde o teor da aglicona e os padrões de glicosilação são estabelecidos, assim como para quantificação (CANUTO et al., 2016). A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tem sido utilizada para quantificação de antocianinas em uvas, vinho, sucos, frutos e flores, mas esta técnica separa e quantifica somente as formas antociânicas monômeras e oligômeras individuais onde a polimerização das antocianinas ainda não foi iniciada (PRODANOV et al., 2005). Vários sistemas CLAE foram testados para a detecção de antocianinas (MERKEN; BEECHER, 2000), assim como o acoplamento de diferentes técnicas instrumentais formando os instrumentos hifenados ou técnicas de segunda ordem, como por exemplo, a cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massas ou detecção na região UV-Vis através de um sistema de arranjo de diodos, permitindo

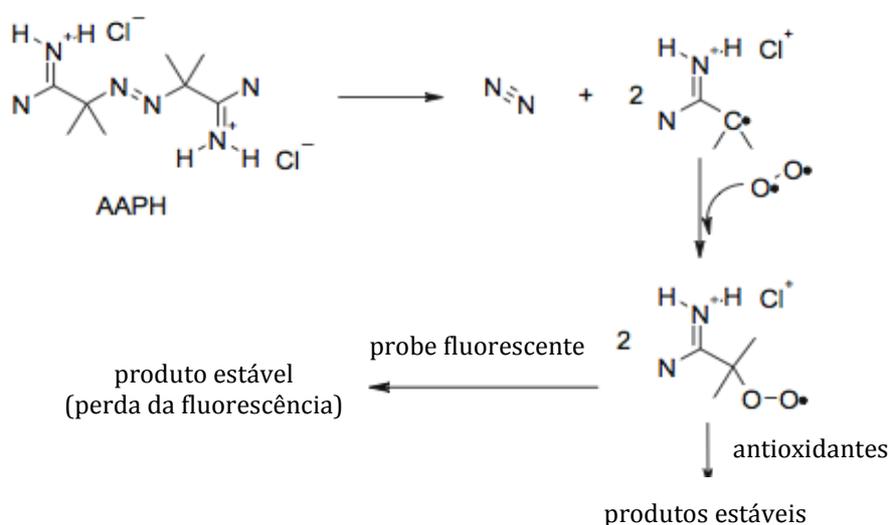
a obtenção de informações de melhor qualidade por correlação de diferentes respostas (CANUTO et al., 2016; MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008).

2.2.1.2.2 Análise da atividade antioxidante

Os métodos para avaliação da capacidade antioxidante podem ser classificados basicamente em dois grupos: métodos baseados na transferência do átomo de hidrogênio e métodos baseados na transferência de elétrons (HUANG; OU; PRIOR, 2005). A capacidade antioxidante total de produtos alimentares tem sido objeto de vários estudos *in vitro*, mas ainda não há método oficial padronizado, sendo então recomendado que as avaliações sejam realizadas em várias condições de oxidação e diferentes métodos de mensuração (FRANKEL; MEYER, 2000; ZULUETA; ESTEVE; FRÍGOLA, 2009). Nos ensaios baseados na transferência de átomos de hidrogênio, o antioxidante e o substrato competem pelos radicais peroxil produzidos termicamente pela decomposição de compostos azo. Já nos ensaios baseados na transferência de elétrons mede-se a capacidade de um antioxidante na redução de um oxidante, que quando reduzido leva à mudança de fluorescência do meio. A intensidade da fluorescência produzida é correlacionada com a concentração de antioxidantes da amostra (ZULUETA; ESTEVE; FRÍGOLA, 2009).

Os métodos baseados na transferência de átomos de hidrogênio incluem os métodos de capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC), *total radical-trapping antioxidant parameter* (TRAP), inibição de oxidação de LDL induzida, capacidade de captura do radical oxy total (TOSCA), branqueamento-Crocin e quimioluminescência. Os métodos baseados na transferência de elétrons incluem os seguintes métodos: fenólicos totais por Folin-Ciocalteu, capacidade antioxidante equivalente Trolox (TEAC), poder antioxidante redutor do ferro (FRAP), potencial antioxidante total usando complexo-Cu²⁺ como oxidante, captura do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH[•]), captura do radical livre 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS^{•+}), captura do radical N,N-dimetil-p-fenilenediamina (DMPD^{•+}) e poder antioxidante redutor dos íons cobre (Cu²⁺) (GÜLÇİN, 2012).

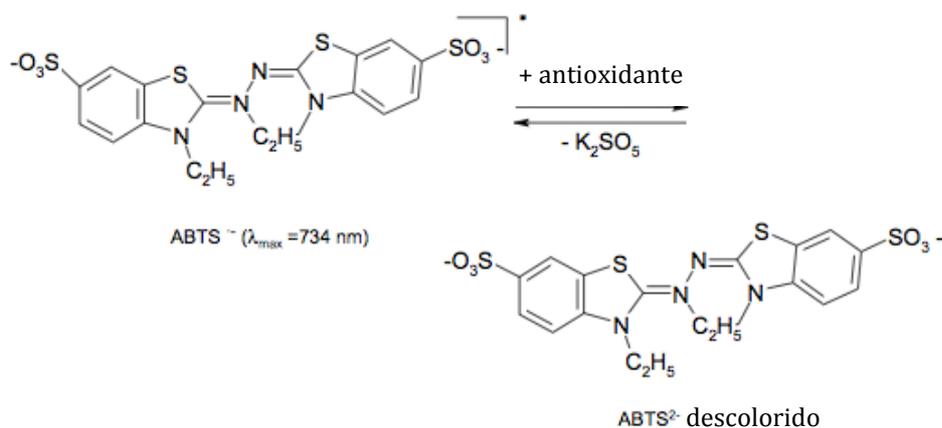
O método TEAC é o mais popular utilizando a transferência de elétron, pois é considerado um método barato e estável em pH, podendo ser utilizado para estudos do efeito do pH na atividade antioxidante. Mas, por outro lado, TEAC necessita de um fase anterior para gerar o radical livre $ABTS^{\cdot+}$, que não permanece estável por muito tempo. O método ORAC, baseado em transferência de átomos de hidrogênio, é o mais utilizado pois utiliza radicais livres biologicamente relevantes, além de possuir padronização permitindo a comparação entre laboratórios e conseguindo integrar grau e tempo das reações antioxidantes. Suas desvantagens maiores são a necessidade de equipamentos específicos, além de produzir dados variáveis em todo o processo, apresentando sensibilidade à mudanças de pH além de requerer longos períodos de tempo para quantificação dos resultados (ZULUETA; ESTEVE; FRÍGOLA, 2009). O método ORAC, basicamente, mede a diminuição da fluorescência de uma proteína como resultado de perda de sua conformação após sofrer um dano oxidativo de radicais peroxil (ROO^{\bullet}), ou seja mensura a habilidade dos antioxidantes presentes na amostra de proteger a proteína do ataque oxidativo (Figura 12).



Fonte: (ZULUETA; ESTEVE; FRÍGOLA, 2009)

Figura 12. Reação do radical APPH durante o ensaio ORAC.

O método TEAC ou ABTS é baseado na eliminação do cátion radical $ABTS^{\bullet+}$ pelos oxidantes da amostra a ser analisada. O radical $ABTS^{\bullet+}$ apresenta coloração azul-esverdeada com absorvância máxima a 645 nm, 734 nm e 815 nm (RE et al., 1999) (Figura 13). Desta forma, os compostos antioxidantes presentes no meio capturam o radical livre, havendo uma perda de coloração e então uma redução em absorvância, que corresponde quantitativamente à concentração do antioxidante presente na amostra (ZULUETA; ESTEVE; FRÍGOLA, 2009).



Fonte: (ZULUETA; ESTEVE; FRÍGOLA, 2009)

Figura 13. Reação do radical ABTS na presença de compostos oxidantes durante o ensaio ABTS.

2.3 Aspectos microbiológicos

2.3.1 Contaminação do fruto de açaí

Os frutos de açaí são altamente contaminados em termos microbiológicos. Os cachos do açaí são fonte de alimento e abrigo para uma grande diversidade de pássaros e outros animais. Desde a colheita do açaí em plena floresta, passando pela operação logística de recolhimento dos frutos nas áreas ribeirinhas até a comercialização da bebida nos centros urbanos, existem inúmeras fontes de contaminação de natureza ambiental, animal e humana (SENAI/SEBRAE/SESI/SESC/SENAC, 2013).

Uma das principais fontes de contaminação do fruto é a água, pois somente 49,4% dos municípios localizados na região amazônica brasileira realizam a cloração simples da água (BRASIL, 2008a). Os frutos *in natura* comercializados para a produção da bebida podem apresentar concentrações de coliformes fecais na ordem de $> 3,0 \log \cdot g^{-1}$ MS, bactérias de $7,05 \log \cdot g^{-1}$ MS, bem como $5,24 \log \cdot g^{-1}$ MS de bolores e leveduras (OLIVEIRA; FARIAS NETO; PENA, 2007), representando uma matéria prima já comprometida em termos de conservação. Os frutos podem apresentar uma carga bacteriana de $9,5 \log$ UFC. kg^{-1} fruto de bactérias mesófilas (AGUIAR; MENEZES; ROGEZ, 2013), além de relatos da presença de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. em frutos, assim como em produtos processados como polpas e bebidas de açaí (SANTOS; COELHO; CARREIRO, 2008). Bactérias mesófilas totais foram também encontradas em bebidas prontas em concentrações entre 2 a $7 \log$ UFC. g^{-1} (FARIA; OLIVEIRA; COSTA, 2012; SILVA et al., 2009), mas geralmente em maior número na bebida processada de forma artesanal, consumida regionalmente, e onde não há aplicação de nenhum tratamento térmico (COHEN et al., 2011; OLIVEIRA; FARIAS NETO; PENA, 2007).

2.3.2 Microrganismos indicadores de qualidade

Microrganismos indicadores são utilizados na avaliação da qualidade microbiológica da água e posteriormente foram incorporados também na avaliação de alimentos. Estes microrganismos indicadores pertencerem a grupos ou espécies que, quando presentes em um alimento, fornecem informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre o estado de deterioração potencial daquele alimento, indicando as condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (LANDGRAF, 2008).

No passado, tomava-se por verdade que os sucos de frutas eram livres de patógenos alimentares devido aos seus relativos pH reduzidos (LIAO et al., 2007; SUNG et al., 2014). Entretanto, vários eventos de surtos foram causados pelo consumo de suco de frutas contendo patógenos resistentes

a pH ácido, como *Escherichia coli* O157:H7 e *Salmonella* spp. (CHOI et al., 2012; WILLIAMS; SUMMER; GOLDEN, 2005) indicando que sucos de frutas também poderiam se tornar fonte de patógenos (VODJANI; BEUCHAT; TAUXE, 2008). Embora a bactéria *Listeria monocytogenes* não tenha sido diretamente relacionada aos surtos de doenças de origem alimentar com sucos, ela foi identificada como uma bactéria patógena pertinente à segurança sanitária de sucos, juntamente com *Escherichia coli* O157:H7 e *Salmonella enterica*, pela legislação americana (GABRIEL; NAKANO, 2009).

2.3.2.1 *Salmonella* spp.

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreende bacilos Gram-negativos não produtores de esporos, podendo crescer em alimentos com atividade de água $a_w > 0,95$, pH $> 4,9$ e temperatura entre 8 °C a 45 °C. São anaeróbios facultativos e produzem gás a partir da glicose (exceto *S. typhi*) e são capazes de utilizar o citrato como fonte de carbono. A maioria tem mobilidade pela presença de flagelos peritríqueos. São amplamente distribuídas na natureza, tendo como principal reservatório natural o trato intestinal do homem, mas presente também nas aves, animais silvestres e domesticados (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Inúmeros relatos de surtos toxinfecção alimentar causados por *Salmonella* são conhecidos, nos mais vários tipos de alimentos, mas *Salmonella* foi considerada o principal organismo causador de surtos relacionados a sucos de laranja não pasteurizados, assim como sucos de várias frutas comercializados diretamente nas ruas (ANEJA et al., 2014). Salmonellae não são particularmente resistentes ao calor e podem ser eliminadas por tratamentos térmicos tais como várias combinações de tempo-temperatura utilizadas em pasteurização (ICMSF, 2001).

2.3.2.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli é um grande e diverso grupo de bactérias encontradas em uma variedade de ambientes, incluindo bioaerossóis, sendo a espécie predominante entre os diversos

microrganismos anaeróbios facultativos que fazem parte da flora intestinal de humanos e mamíferos e por isto utilizada como indicador de contaminação de origem fecal em água desde 1892 (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; LANDGRAF, 2008). Estes microrganismos pertencem à família *Enterobacteriaceae*, bacilos Gram-negativos, não-esporulados, capazes de fermentar a glicose com produção de ácido e gás e considerados anaeróbios facultativos (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Embora a maioria das cepas de *E. coli* sejam inofensivas, algumas causam sérias doenças aos humanos, sendo que *E. coli* O157:H7 está associada a casos de anemia, cólicas intestinais e diarreia sanguinolenta, podendo ser letal pela alta virulência, apresentando dose infecciosa extremamente baixa (<10 a 100 UFC), e sendo responsável por epidemias em muitas partes do mundo (ARMSTRONG; HOLLINGSWORTH; MORRIS, 1996; KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; KIM; RHEE, 2015).

2.3.2.3 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes é um patógeno Gram-positivo, anaeróbico facultativo crescendo a temperaturas de -0,4 °C a 45 °C, valores de pH 4,39 a 9,4, $a_w \geq 0,92$, móvel devido a flagelos peritricosos e não formadores de esporos (GANDHI; CHIKINDAS, 2007; ICMSF, 2001). Frequentemente encontrado em alimentos prontos para consumo minimamente processados e são capazes de crescer em ambientes muito hostis (FOOD SAFETY AUTHORITY OF IRELAND, 2005), com ou sem oxigênio, sob condições de refrigeração, além de poder desenvolver uma tolerância ácida (DAVIS; COOTE; O'BYRNE, 1996) e de formar biofilmes em quase todos os materiais utilizados na indústria (BELDA-GALBIS et al., 2015; SILVA; MARTINIS, 2013). Considerada uma bactéria ubíqua, *L. monocytogenes* já foi isolada de alimentos crus ou processados, água, água de esgoto, solo, vegetação em decomposição, silagem, animais selvagens e domésticos, e de humanos (CONCHA-MEYER et al., 2014; IVANEK; GRÖHN; WIEDMANN, 2006). Embora alguns relatos tenham ligado *L. monocytogenes* principalmente a contaminação láctea, cárnea e produtos de origem marinha, alguns surtos foram associados a

produtos vegetais frescos nos últimos anos (COSGROVE; CRONQUIST, 2011). Os serotipos mais comumente associados com casos clínicos humanos são: 1/2a (linhagem II) e serotipos 1/2b e 4b (linhagem I), sendo que a linhagem II é mais comumente isolada de alimentos e animais com listeriose, e a linhagem I está associada a surtos de listeriose em humanos (ORSI; BAKKER; WIEDMANN, 2011). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (FAO/WHO, 2004), *L. monocytogenes* é de grande importância para a saúde pública, sendo considerada um dos patógenos emergentes líderes associados a doenças transmitidas por alimentos. Nos EUA, é estimado que aconteçam 1.600 casos de listeriose por ano, levando a 250 mortes (SCALLAN et al., 2011). No Brasil, exemplares de *L. monocytogenes* foram isolados de diferentes fontes de alimentos e vegetais processados, mas muitos surtos e casos de listeriose não são diagnosticados e/ou não comunicados (REIS et al., 2011; SANT'ANA et al., 2012).

2.3.3 Processos sanitizantes

2.3.3.1 Processamento térmico

O processamento térmico envolve aquecimento de produto alimentar a uma temperatura que varia de 50 a 150 °C fundamentalmente para inativação de microrganismos e enzimas endógenas. É um processo dependente do pH, da carga microbiana inicial e do tempo de vida-de-prateleira almejado (REIN, 2005). As operações de processamentos térmicos são convencionalmente classificadas de acordo com a intensidade de calor aplicada: i) pasteurização 65 a 85 °C, ii) esterilização (110 a 121 °C), iii) tratamento de ultra alta temperatura (UHT) (140–160 °C) (KONG et al., 2007). Mas os processos térmicos também incluem esterilização comercial, operações para amaciamento de alimentos e pré-tratamentos térmicos tais como branqueamento, que são conduzidos antes do congelamento e enlatamento para inativação de bactérias e enzimas, além da retirada do ar aprisionado (TIJSKENS; SCHIJVENS; BIEKMAN, 2001). Durante a elevação da temperatura pode haver um aumento na atividade enzimática e no crescimento

microbiano até certo limite no qual o ponto de inativação se inicia. Alguns produtos processados termicamente como verduras e frutos frescos, por necessidade de controle de microrganismos para garantia da saúde pública, a aplicação de calor pode causar deterioração qualitativa severa, com a degradação da cor e textura, perda de nutrientes e de massa e diminuição de tamanho. Além do mais, os consumidores demandam alimentos que foram termicamente processados mas com um mínimo de perdas nutricionais quanto possível (AAMIR et al., 2013; KONG et al., 2007).

2.3.3.1.1 Branqueamento

O branqueamento é uma das mais importantes operações unitárias onde as verduras são aquecidas a uma dada temperatura objetivando a inativação de enzimas, induzindo mudanças texturais, preservando a cor, sabor e valores nutricionais. O aquecimento promove a remoção do ar aprisionado e dos gases metabólicos que se encontram dentro das células vegetais e os substitui por água, formando uma fase aquosa semicontínua que favorece o crescimento de cristais uniformes durante o congelamento e tornando o tecido menos deformável. O branqueamento industrial pode ser realizado em água ou vapor, por micro-ondas (RUIZ-OJEDA; PEÑAS, 2013), assim como gás aquecido (RAMESH et al., 2002). O branqueamento pode propiciar a pasteurização completa ou parcial, sendo que o branqueamento pela água envolve um processo de temperatura baixa-tempo longo (LTLT) ou de alta temperatura-tempo curto (HTST). A temperatura típica de branqueamento varia de 70 a 100 °C, e geralmente para verduras o tempo é de 1 a 10min a 75 a 95 °C, com vapor ou água quente, e a combinação tempo-temperatura dependente do tipo de alimento (PATRAS; TIWARI; BRUNTON, 2011). Os atributos sensoriais sabor, textura e cor são afetados pelo branqueamento, sendo que a qualidade do alimento é diretamente afetada pelo tipo e extensão do branqueamento, podendo reter alguns sabores e remover amargores indesejáveis (AAMIR et al., 2013). O branqueamento pode ter efeitos negativos em nutrientes tais como vitaminas e compostos fenólicos, pois são relativamente

instáveis quando submetidos a tratamentos térmicos (PATRAS et al., 2010; RAWSON et al., 2011).

Rogez et al (1996) relataram os primeiros trabalhos com tratamento térmico por branqueamento em frutos de açaí objetivando a redução da sua carga microbiana, que aumentou de 3 a 4 log UFC.g⁻¹ em relação à população inicial, após 40 h da colheita dos frutos. A temperatura de aquecimento da água variou de 80 a 100 °C em tempos de imersão do fruto de 0 a 360 s, além do uso de vapor, utilizando frutos de açaí colhidos na safra e na entressafra. Os autores concluíram que o binômio tempo-temperatura mais eficaz na redução microbiana foi o de 80 °C por 10s, nas condições estudadas, principalmente no açaí de safra quando a carga microbiana é relativamente menor que aquela encontrada nos frutos durante o período de entressafra. A eficiência máxima do branqueamento nestas condições também foi condicionada a tratamentos prévio como lavagem e posterior como a pasteurização do suco. O branqueamento do açaí nestas condições foi particularmente indicado pelo fato dos pigmentos presentes nas camadas mais externas serem melhor preservados, devido à pequena espessura da polpa permitindo o planejamento de tratamento por curtos períodos de tempo, e a conservação da energia acumulada nos frutos não se perde, pois a temperatura da água de resfriamento é inferior a do branqueamento (ROGEZ, 2000). Pelo fato da bebida açaí estar comprometida pela contaminação do *Trypanosoma cruzi* (PEREIRA et al., 2009), a pasteurização da polpa processada e do suco em escala industrial foi institucionalizada como um método preventivo de inativação do protozoário que poderia possivelmente estar presente. Para os processadores artesanais do estado do Pará, o processamento térmico por branqueamento do fruto pelo binômio tempo-temperatura 80 °C, 10s foi indicado como preventivo da doença de Chagas, levando em consideração as condições estruturais destes estabelecimentos (PARÁ, 2007a, 2012a). Em relação à influência do branqueamento sobre os compostos fenólicos de açaí (*E. oleracea*) e juçara (*E. edulis*), suas polpas integrais foram tratadas termicamente a 80 °C por 1, 5, 10, 30 e 60min, na presença e

ausência de oxigênio, sendo que a elevada degradação polifenólica observada, principalmente de antocianinas com formação de chalconas, foi em decorrência do tempo de exposição ao calor (SADILOVA; CARLE; STINTZING, 2007).

2.3.3.2 Processamentos não-térmicos

2.3.3.2.1 Cloração

O cloro é provavelmente o produto sanitizante mais comumente utilizado, podendo ser encontrado na forma de gás de cloro, hipoclorito de cálcio e hipoclorito de sódio. Muitos estudos têm sido realizados sobre a eficácia do cloro na descontaminação de produtos alimentares (BEUCHAT, 1998; OLAIMAT; HOLLEY, 2012; PHUA et al., 2014) e redução de vários patógenos em produtos agrícolas (GOODBURN; WALLACE, 2013; WARRINER et al., 2009). Mas, o uso de lavagens com água clorada tem se tornado um crescente desafio, pois existem preocupações em relação à saúde pública pela liberação de vapores clorídricos durante o processo de sanitização, a formação de subprodutos que são compostos carcinogênicos tais como trihalometanos com potenciais efeitos adversos à saúde, assim como o impacto negativo deste produto ao meio ambiente (PARISH et al., 2003; RAMOS et al., 2013; RICO et al., 2007). Entretanto, os benefícios do uso do cloro na indústria alimentar se sobrepõem às preocupações sobre a potencial produção de subprodutos prejudiciais (RAMOS et al., 2013). Estudos tem demonstrado que as lavagens com água clorada podem diminuir a carga bacteriana a valores variando de 1 log UFC.g⁻¹ a 3,2 log UFC.g⁻¹, dependendo do método de inoculação, da concentração de cloro, do tempo de contato e da bactéria alvo (BAUR et al., 2005; BELTRÁN et al., 2005; CASTEEL; SCHMIDT; SOBSEY, 2008; HUA; RECKHOW, 2007). Para que sanitização com água clorada seja eficaz, a concentração de cloro deve estar de 50 a 200 mg.L⁻¹ em tempo de contato crescentes, mas em não menos que 1min (BEUCHAT, 1998; RICO et al., 2007). Relatos de contagem média de mesófilos em hortaliças prontas para consumo

apresentaram $5,4 \times 10^6$ a $3,7 \times 10^7$ UFC.g⁻¹ após 24h de embaladas, indicando que a contaminação ainda continuava relativamente alta nos produtos embalados, após lavagens com água (clorada, em sua maioria), levantando questões sobre quais patógenos poderiam ainda estar presentes (DE GIUSTI et al., 2010). Alguns fatores podem limitar a eficácia do cloro como sanitizante, como a degradação pela matéria orgânica (RICO et al., 2007), o fenômeno da internalização de patógenos dentro do tecido vegetal, (GOMES; MOREIRA; CASTELL-PEREZ, 2011), a formação de biofilme por bactérias e a consequente redução no processo de descontaminação de *E. coli* (FETT, 2000), assim como a condição de hidrofobicidade das superfícies vegetais (WHIPPS et al., 2008). Após vários ensaios sobre desinfecção de alimentos utilizando água clorada com concentrações variando de 100 a 200 mg.L⁻¹, por tempos de imersão variando de 5 a 10min, em temperaturas diversas e microrganismos alvo diferentes, Beuchat (1998) concluiu que mesmo em diferentes concentrações de cloro, a redução logarítmica típica é de < 2 log, sendo necessário que outras tecnologias sejam desenvolvidas para garantir a segurança dos alimentos.

2.3.3.2.2 Ozonização

O gás ozônio (O₃) foi descoberto pelo químico suíço Christian Friedrich Schönbein em meados do século XIX, relatando que se tratava de uma forma alotrópica do oxigênio, sendo claramente identificado em sua composição triatômica. Apresenta-se como um gás incolor em temperatura ambiente e em baixas concentrações, adquirindo uma coloração azulada em altas concentrações; possuindo odor penetrante e sendo facilmente detectável em concentrações muito baixas (0,01 a 0,05 mg.L⁻¹) (COELHO et al., 2015; FREITAS-SILVA; MORALES-VALLE; VENÂNCIO, 2013). O ozônio tem sido utilizado como agente conservante de alimentos desde 1909, mas tinha a desvantagem de ter um custo mais alto em relação a outras substâncias como, por exemplo, o cloro. Em 1982, o ozônio foi declarado como substância reconhecidamente segura (GRAS – “Generally Recognized as Safe”) pelo FDA (Food and Drug Administration) somente

como sanificante para água engarrafada, e posteriormente sua utilização foi estendida aos alimentos (FREITAS-SILVA; VENÂNCIO, 2010; KIM; YOUSEF; DAVE, 1999). O ozônio se destacou pela elevada capacidade de desinfecção e esterilização, principalmente em relação ao cloro, devido à sua eficácia em baixas concentrações, necessitando de pouco tempo de contato e sua decomposição em produtos não tóxicos. Apresenta um elevado potencial de oxidação (2,07 mV) sendo considerado o segundo mais poderoso agente oxidante perdendo apenas para o flúor (3,06 mV) (RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999; SILVA et al., 2011). Novas tecnologias de utilização do ozônio tem sido relatadas em diferentes áreas de aplicação, como no tratamento de efluentes domésticos e industriais, processos de branqueamento de celulose e tratamento de água potável, entre outros, assim como nas áreas de processamento de alimentos e agricultura, principalmente após a aprovação para o uso em alimentos também no Canadá, Japão e Europa, e no Brasil pela Anvisa (O'DONNELL et al., 2012; ROZADO et al., 2008). O ozônio tem sido considerado efetivo contra um grande espectro de microrganismos, incluindo vírus, bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, esporos e fungos (ALEXANDRE et al., 2011). Mas elevadas concentrações de O₃ podem promover perdas de nutrientes ou alterar a qualidade sensorial dos alimentos, devido a danos oxidativos resultando na produção de odor desagradável e alteração na coloração do alimento (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999) (Quadro 3).

Quadro 3. Efeito do ozônio sobre os parâmetros de qualidade sensorial e nutricional

| Alimento | Forma de aplicação do O ₃ | População microbiana alvo | Atributos de qualidade sensorial e nutricional | Referências |
|------------------|---|--|--|------------------------------|
| Pêssegos | 0,6 g m ⁻³ O ₃ gasosos por 4 semanas; condições de armazenagem de 5 °C e 90% de umidade relativa | Redução do crescimento de micélio e esporulação de fungos | Aumento da perda de água após 5 semanas de armazenagem; nenhuma alteração na respiração e nas taxas de produção de etileno, sem lesões fitotóxicas | Palou et al. (2002) |
| Morango | 1,5 µL L ⁻¹ O ₃ gasoso, armazenadas durante 3 dias a 2 °C | Redução da incidência de podridões por <i>Botrytis cinerea</i> | Redução da perda de peso, e amolecimento dos frutos tratados, resultando em perda de aroma de fruta | Nadas et al. (2003) |
| Uva de mesa | 10.000 µL L ⁻¹ de O ₃ gasoso por 2h; 2.500 ou 5.000 µL L ⁻¹ de O ₃ gasoso por 1 h | Redução da contaminação por <i>Botrytis cinerea</i> | Redução em resíduos de fenhexamida, ciprodinila, pirimetanila e piraclostrobina; não alterou resíduos de iprodione e boscalida | Mlikota-Gabler et al. (2010) |
| Tomates fatiados | Aplicação de 0,4 mg L ⁻¹ O ₃ aquoso armazenados a 5 °C | Redução da contagem microbiana | Melhoria da firmeza, manutenção dos parâmetros de qualidade sensorial. Redução da vida de prateleira de 14 para 10 dias a 5 °C | Aguayo et al. (2013) |
| Banana | Imersão em 0,36 mg L ⁻¹ O ₃ aquoso por 10 min | Redução da contagem microbiana | Melhoria da qualidade com referência aos parâmetros microbiológico, físico-químico e sensorial | Alencar et al. (2013) |
| Mamão | 9,2 µL L ⁻¹ de O ₃ gasoso por 10, 20 e 30 min | Redução da contagem microbiana | Exposição prolongada reduz a concentração de vitamina C, não afeta a atividade antioxidante | Yeoh et al. (2014) |

Fonte: (COELHO et al., 2015)

O poder sanitizante do ozônio pode ser explicado pelo dano oxidativo do ozônio sobre as células bacterianas pela indução de espécies reativas de oxigênio (ROS) nas moléculas de lipídeos e proteínas incorporadas na membrana da célula bacteriana, levando a uma subsequente reação em cadeia de degradação de lipídeos, aumentando a fluidez da membrana, perturbado o equilíbrio osmótico celular e levando à ruptura da parede celular e morte da célula (ALWI; ALI, 2014; KEUTGEN; PAWELZIK, 2008). A inativação bacteriana também pode ser devida à oxidação dos grupamentos sulfidrilas de aminoácidos de enzimas e proteínas, decompondo as proteínas em peptídeos menores, mudando sua conformação e conseqüentemente inativando-a (AL-HADDAD; AL-QASSEMI; ROBINSON, 2005; TORLAK; SERT; ULCA, 2013). O ozônio também pode ser responsável pelo rompimento do DNA bacteriano por transformações em suas estruturas secundárias ou introduzindo mutações no código genético, alterando seu metabolismo e levando à morte celular (HUNT; MARIN, 1999; TORLAK; SERT; ULCA, 2013). A inativação bacteriana pelo rompimento da membrana celular é um mecanismo eficaz e não leva à resistência microbiana, e o ozônio ou seus produtos reativos não necessitam permear dentro das células para serem efetivos (TORLAK; SERT; ULCA, 2013). A combinação do processo de ozonização com outras técnicas sanitizantes tem evidenciado resultados eficazes e promissores, principalmente para o controle de fungos ao associar a ozonização aquosa ao tratamento térmico (KECHINSKI et al., 2012; SUNG et al., 2014), que pode ser implementado em pequenas agroindústrias e/ou setor supermercados, com melhores condições estruturais, conforme relatado por Santana et al. (2014).

2.4. Aspectos qualitativos e sensoriais

2.4.1 Cor

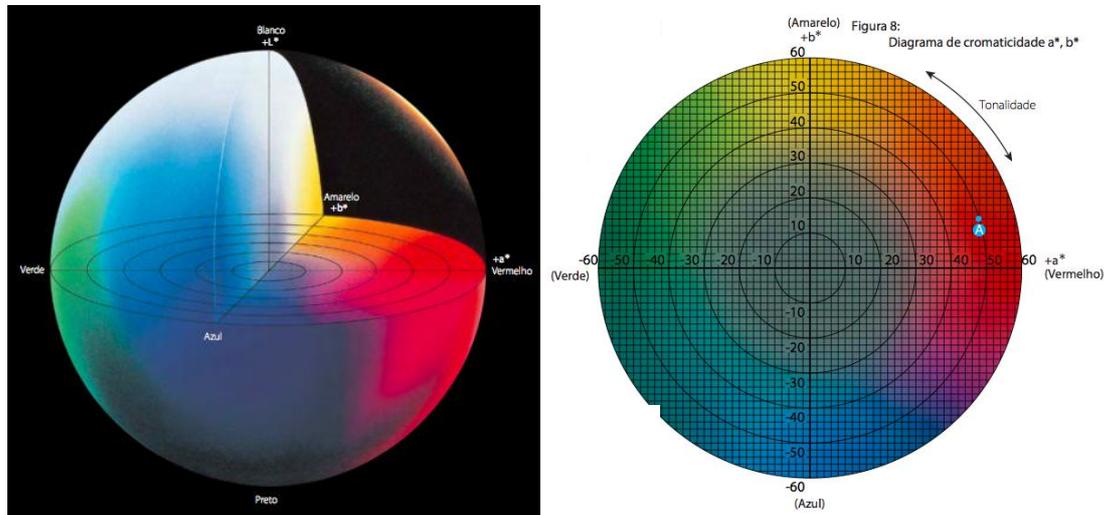
O primeiro atributo de um alimento a ser avaliado pelos consumidores é a sua cor, sendo portanto um importante componente de qualidade relevante para a aceitação deste alimento no mercado

(WU; SUN, 2013). Por definição, a cor é a resposta perceptiva mental de um espectro de luz visível, em função do poder luminoso e do comprimento de onda, que é refletido ou emitido de um objeto. Esta percepção da cor é considerada um fenômeno muito complexo pois depende da composição do objeto, pois a cor não é uma propriedade inerente do objeto que apenas reflete ou transmite a luz. Também depende de possíveis alterações que possam afetar a fonte desta luz, alterando também a cor do objeto (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2005). Nos alimentos, a aparência é um critério muito importante na tomada decisões de compra, sendo também utilizada em toda a cadeia de produção até a utilização final como fator de julgamento da qualidade de um produto. O atributo aparência é avaliado considerando vários fatores: tamanho, forma, cor, condição de frescor e a ausência dos defeitos visuais. A cor, em especial, é um atributo que fornece informações básicas de qualidade para a percepção humana, estando associada a fatores de qualidade como frescor, a maturidade, variedade e desejo, segurança alimentar, sendo um fator para a maioria dos sistemas de classificação de produtos alimentares (COSTA et al., 2011; KAYS, 1997, 1999; MCCAIG, 2002). A aparência é um dos primeiros critérios na tomada de decisões de compra de um alimento, e posteriormente os consumidores julgam atributos como sabor e aroma (IQBAL et al., 2010; PALLOTTINO et al., 2010). A influência da cor é tão profunda na percepção humana, que é capaz de causar mudanças nos estados fisiológico e emocional e pode formatar o que é percebido em outras modalidades sensoriais. Em estudos para identificar a influência interativa da cor no senso do tato, a interação entre cor e textura foi automática e imediata, e com efeito moderador sobre a percepção da textura (CHYLINSKI; NORTHEY; NGO, 2015).

2.4.1.1 Espaços da cor

Os espaços de cor orientados para humanos são correspondentes aos conceitos de matiz (Hue), sombra e tom baseados nas características intuitivas das cores. O espaço de cores $L^*C^*h^*$,

utiliza o mesmo diagrama que o espaço de cores $L^*a^*b^*$, porém utiliza coordenadas cilíndricas ao invés de coordenadas retangulares (Figura 14).



Fonte: (KONIKA MINOLTA, [s.d.])

Figura 14. Representação de um (A) sólido no espaço CIE $L^* a^* b^*$ e (B) diagrama de cromaticidade $a^* b^*$

Nesse espaço de cores, o L^* indica luminosidade, e é o mesmo L^* do espaço de cores $L^*a^*b^*$, o C^* indica o “croma” e o h é um ângulo de tonalidade. O valor de croma C^* é 0 no centro e aumenta conforme a distância deste. O ângulo de tonalidade h inicia-se no eixo $+a^*$ e é dado em graus; 0 seria $+a^*$ (vermelho), 90 seria $+b^*$ (amarelo), 180 seria $-a^*$ (verde) e 270 seria $-b^*$ (azul).

Os espaços instrumentais são usados para equipamentos de medição de cor ou colorímetros, e a maioria destes espaços são padronizados pela Comissão Internationale d'Eclairage (CIE) em condições padrões (iluminantes, observadores, e metodologia de espectros) (VISCARRA ROSSEL et al., 2006). Na medição da cor dos alimentos, o espaço de cores $L^* a^* b^*$ é o mais utilizado devido à distribuição uniforme das cores, e porque ele é perceptivamente uniforme ou seja, a distância Euclidiana entre duas cores diferentes, corresponde aproximadamente à diferença de cor percebida pelo olho humano (LEÓN et al., 2006). Os equipamentos de mensuração da cor, colorímetros, mais utilizados são o Konika Minolta; Hunter Lab e Dr. Lange, no entanto eles

têm a desvantagem de que a superfície a ser medida deve ser uniforme e de tamanho reduzido (DRLANGE, 1999; KONIKA MINOLTA, [s.d.]; MENDOZA; AGUILERA, 2004).

2.4.2 Análise sensorial

A qualidade de um alimento para consumo passa, obrigatoriamente, pelos fundamentos de três disciplinas: a físico-química com os aspectos nutricionais, a microbiologia e a sensorial. A qualidade percebida pelo consumidor e conseqüentemente, a tomada de decisão na escolha daquele determinado produto, é o fator que está mais intimamente relacionado com os aspectos da qualidade sensorial (DUTCOSKY, 2013). A análise sensorial é uma disciplina científica usada com os objetivos de: i) evocar, ou seja, preparar e servir amostras sob condições controladas para diminuição do erro, ii) medir a relação entre as características do produto e a percepção humana por meio dos dados coletados, iii) analisar os dados na forma estatística e iv) interpretar os dados e a informação estatística no contexto das hipóteses formadas e do conhecimento prévio para a tomada de decisão. A avaliação sensorial tem sido utilizada de forma crítica pelo setor industrial desde a fase de desenvolvimento do produto, passando pela produção até a manutenção da qualidade de vários tipos de produtos como gêneros alimentícios, cosméticos, têxteis, medicamentos, móveis e até automóveis. Entre as várias aplicações neste segmento, a análise sensorial funciona como uma ferramenta decisória na avaliação do efeito de alterações realizadas na matéria-prima ou do processamento tecnológico aplicado na matéria-prima sobre o produto final (CIVILLE; OFTEDAL, 2012; DUTCOSKY, 2013). Deste modo, a aplicação de processos de sanitização em matérias primas pode levar à mudanças na qualidade sensorial dos alimentos processados finais, podendo comprometer sua aceitação pelo consumidor (KAYS, 1999; WU; SUN, 2013).

O atributo textura de um alimento pode indicar sua qualidade, influenciando sobremaneira na sua aceitação e preferência pelo consumidor. É um atributo complexo que depende de algumas características químicas e físicas do produto. As propriedades e distribuição da água presente em

um alimento pode afetar sua estrutura e textura (FIGIEL; TAJNER-CZOPEK, 2006; SILVA et al., 2016). No caso do açaí batido a quantidade de água é altamente influenciável em sua classificação, preço, comercialização e aceitabilidade pelo consumidor tradicional (ROGEZ, 2000).

Atributos não-sensoriais também estão tornando-se importantes na escolha dos alimentos (VIDIGAL et al., 2011). Entre os fatores não-sensoriais mais analisados e que afetam o comportamento dos consumidores destacam-se a relação entre o alimento, saúde do consumidor e o conteúdo de substâncias naturais no alimento (ALLISON; GUALTIERI; CRAIG-PETSINGER, 2004). As qualidades nutricionais e relativas à saúde de um produto alimentício são, entretanto, intangíveis e invisíveis aos consumidores (SABBE et al., 2009; VAN TRIJP; VAN DER LANS, 2007), mas podem ajudar na escolha de produtos mais saudáveis (DRICHOUTIS et al., 2008), principalmente na aquisição de sucos de frutos tropicais (SABBE; VERBEKE; VAN DAMME, 2009).

Outro atributo extrínseco que afeta a aceitação de um produto é a influência do processo de tomada de decisão, pois quando consumidores decidem adquirir um determinado produto há uma combinação de desejos (utilidade, objetivos e valores pessoais) com crenças (expectativas, conhecimento, significados) (ANGIE et al., 2011). Durante uma tomada de decisão de compra de um determinado produto, consumidores com experiências emocionais ficam atados em seus desejos e crenças, como quanto aquele produto vai fazer por eles e se o produto irá ou não satisfazer as suas expectativas sobre o consumo (LI; JERVIS; DRAKE, 2015). Características individuais do consumidor também podem influenciar na compra de um produto, e deste modo o gênero, idade, nível de renda, atitude em questões de saúde, níveis de escolaridade e conhecimento podem decidir como uma imagem de um produto pode ser processada no momento da tomada de decisão (SHEPHERD; TOWLER, 2007; SHEPHERD et al., 1996).

O açaí, por apresentar em sua composição química um elevado teor de compostos fenólicos e conseqüentemente uma alta capacidade antioxidante, tem sua imagem ligada a um grande leque de benefícios à saúde (SILVA et al., 2016), principalmente no mercado exterior. No caso do mercado interno, principalmente na Região Norte, sua imagem está ligada como ingrediente essencial na alimentação diária da população local (TEIXEIRA et al., 2013). A introdução de etapas de sanitização do fruto durante o processamento do açaí batido, necessárias para assegurar a oferta de um produto mais seguro e por força de legislação (PARÁ, 2012a), pode comprometer a qualidade sensorial do produto final e sua aceitação pela população local. No entanto, deve-se levar em consideração que a qualidade sensorial é uma resposta individual, variando conforme as experiências, a expectativa, o grupo étnico e as preferências individuais, e por isto desenvolver um produto para consumidores do Norte brasileiro pode ser diferente de formular um produto para os da região Sul (MINIM, 2013). Além do mais, alguns estudos indicam a tendência de consumidores tradicionais de evitar novos produtos (neofobia), afetando a aceitação de produtos novos ou não-familiares (EL DINE; OLABI, 2009; SABBE et al., 2009).

A escolha de um método de análise sensorial está baseada na resposta a, pelo menos, um dos três questionamentos fundamentais: i) o produto é aceito/preferido pelos consumidores?, ii) existe diferença perceptível entre o produto em avaliação e algum produto convencional?, iii) quais os principais pontos de diferença entre os produtos e suas intensidades? As respostas destas questões permitem classificar o tipo de método sensorial a ser aplicado (DUTCOSKY, 2013; MINIM, 2013).

2.4.2.1 Métodos afetivos ou hedônicos

Para resolução da primeira pergunta utilizam-se técnicas subjetivas pelos métodos sensoriais afetivos ou hedônicos, que não requerem treinamento dos julgadores e são importantes para conhecimento da opinião dos consumidores sobre idéias, características específicas ou globais de um determinado produto, sendo também reconhecido como teste de consumidor. Estes tipos de

testes determinam qual o produto preferido e/ou, mais aceito por um determinado público-alvo, em função de suas características sensoriais, como por exemplo consumidores de açaí batido processado artesanalmente. Entre os vários testes afetivos (qualitativos e quantitativos) encontram-se os **testes de aceitação e de preferência**, que conseguem expressar quantitativamente a opinião sobre a preferência entre produtos e a disposição do consumidor em comprar o produto, respectivamente (MINIM, 2013).

2.4.2.2 Métodos discriminativos

Uma análise sensorial mais objetiva, que meça de forma quantitativa e qualitativa, a sensação ou a compreensão de um produto, utiliza os métodos discriminativos ou os métodos descritivos. Os métodos discriminativos respondem à segunda pergunta fundamental, sendo que os tipos de testes mais comuns são os testes triangulares, duo-trio ou escolha forçada, também conhecida por comparação pareada (MEILGAARD; CARR; CIVILLE, 2006), assim como comparação múltipla, ordenação, “A ou Não A” e “dois em cinco”. São, em geral, de fácil interpretação, requerem pouco tempo, e de baixo custo. Na indústria são normalmente utilizados para testar substituições de ingredientes quando o objetivo é manter a semelhança do produto original (MINIM, 2013).

2.4.2.3 Métodos descritivos

Os métodos descritivos conseguem obter máxima sensibilidade, reprodutibilidade e confiabilidade de resultados durante as análises, pois os testes devem utilizar equipe de avaliadores selecionados e treinados e permitem documentar os aspectos qualitativos e quantitativos sensoriais de um produto, respondendo assim à terceira pergunta fundamental (DUTCOSKY, 2013). Os aspectos qualitativos dos produtos incluem a aparência específica, aroma, sabor ou de textura, também conhecidos como **atributos**, e o aspecto quantitativo é a intensidade de cada um dos atributos. Diferentes métodos de análise descritivos são conhecidos,

diferindo principalmente quanto à escala: avaliação de atributos (teste de escala), perfil de sabor, perfil de textura, ADQ® (análise descritiva quantitativa), análise descritiva do perfil sensorial de produtos, perfil livre, tempo-intensidade e teste da amostra única (DUTCOSKY, 2013; MEILGAARD; CARR; CIVILLE, 2006).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de tratamentos sanitizantes em frutos de açaí e os efeitos nas suas propriedades físico-químicas, na qualidade sensorial e intenção de compra do produto processado açaí batido, para aplicação em processadoras artesanais.

3.2 Objetivos Específicos

- Adequar metodologia de inoculação bacteriana em frutos de açaí para garantia de aderência e sobrevivência da população microbiana necessária para testes de descontaminação.
- Avaliar a temperatura na superfície do fruto de açaí durante o processamento térmico por branqueamento.
- Avaliar a eficácia dos processos térmicos (branqueamentos a 80 e a 90 °C por 10s), e não-térmicos (cloração a 200 mg.L⁻¹ por 15min e ozonização aquosa a 4 mg.L⁻¹ por 10min) na sanitização dos frutos de açaí inoculados artificialmente com microrganismos indicadores *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*.
- Avaliar a eficácia do branqueamentos a 90 °C por 10s, seguido de resfriamento por 2m em água clorada (cloração a 50 e 200 mg.L⁻¹) e água ozonizada (4 a 5 mg.L⁻¹) na sanitização dos frutos de açaí inoculados artificialmente com microrganismos indicadores *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*.

- Comparar os impactos dos processos térmicos e não térmicos de sanitização dos frutos de açaí nas suas características físico-químicas.
- Determinar possível diferença sensorial entre produtos açaí batido de frutos sanitizados por tratamentos térmicos e não-térmicos quando comparados ao açaí batido tradicionalmente consumido e regionalmente sanitizado por cloração (150 mg.L^{-1} cloro por 15min).
- Determinar a aceitação e a intenção de compra dos produtos açaí batido após sanitização por branqueamento a 80 e a 90 °C por 10s por consumidores regionais de açaí tradicionalmente processados sem tratamento térmico.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Frutos de açaí

Frutos de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) foram colhidos manualmente no Campo Experimental da Embrapa Amapá no município de Mazagão (AP), sob cultivo, no período da madrugada. Os cachos foram colocados sobre lonas plásticas e os frutos foram debulhados manualmente, onde as maiores sujidades como folhas, ráquis e insetos maiores foram retirados (SENAI/SEBRAE/SESI/SESC/SENAC, 2013). No mesmo dia, os frutos foram transportados em caixas isotérmicas por barco pelo rio Mazagão e por estrada até o Laboratório de Alimentos da Embrapa Amapá em Macapá (AP) (Figura 15).



Figura 15. Coleta dos frutos de açaí em área ribeirinha no município de Mazagão (AP).

Para os **testes de adequação e otimização de metodologia e ensaios microbiológicos**, os frutos foram divididos em lotes de 250 g e acondicionados em sacos nylon-poli 25 x 30 cm (16 micra) de soldas laterais (TecMaq), embalados a vácuo (TecMaq TM-250) e transportados por avião em caixas isotérmicas até à Embrapa Agroindústria de Alimentos, no Rio de Janeiro (RJ), onde foram conduzidos os experimentos. Todos os testes foram realizados com frutos à temperatura ambiente. Os frutos de açaí foram pesados (Gehaka, B2000) e pré-lavados por três vezes em 200 mL de água potável. Em cada repetição dos ensaios foram empregadas 15 unidades de frutos íntegros, aproximadamente 20 g de frutos, por tratamento estudado.

Para os **ensaios físico-químicos e sensoriais**, os frutos foram enviados ao Laboratório de Alimentos da Embrapa Amapá na capital Macapá, onde foram divididos em lotes de 10 kg. Todo os lotes de frutos foram peneirados em mesa catadora em material inox, com espaçamento de 6 cm para retirada de pequenas sujidades e insetos ou parte destes (Figura 16A). Posteriormente, os frutos foram pré-lavados em 12 L de água potável por 15min em recipiente de polietileno (Figura 16B), sendo revirados a cada 5min e as sujidades sobrenadantes retiradas com peneira e posteriormente drenados (Figura 16C).

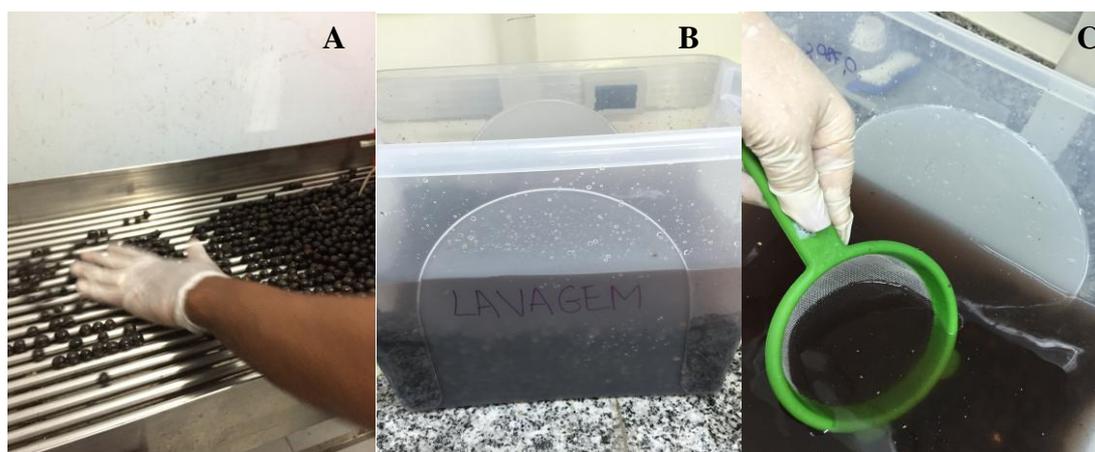


Figura 16. Etapas de higienização do fruto de açaí: (A) mesa de catação; (B) lavagem; (C) retirada de sujidades.

4.2 Microrganismos-teste

Para a elaboração dos inóculos foram preparadas misturas de 5 cepas de cada microrganismo-teste, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp., utilizados em ensaios de descontaminação distintos. Quatro cepas de *Salmonella* spp. foram disponibilizadas pela Fundação Oswaldo Cruz: *Salmonella* Choleraesuis ATCC 10708, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311 (fezes humanas), *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 (tecido animal) e uma cepa originada da coleção de trabalho da Embrapa a *Salmonella* Brazil, oriunda de açai (Figura 17A).

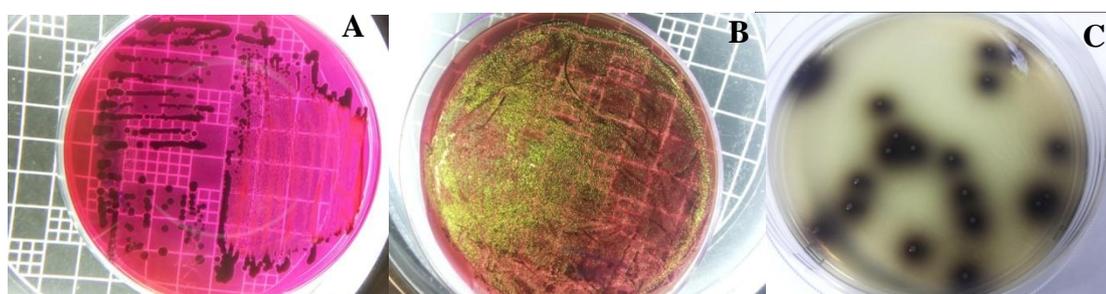


Figura 17. Cultura dos microrganismos utilizados nos ensaios de sanitização: *Salmonella* Brazil (A), *Escherichia coli* (B) e *Listeria monocytogenes* (C).

Cinco cepas de *Escherichia coli* foram doadas pela Fundação Oswaldo Cruz: ATCC 8739 (INCQS 00219) (fezes), ATCC 10799 (INCQS 00217), ATCC 11229 (INCQS 00032), ATCC 25922 (INCQS 00033) (material clínico) e ATCC 43893 (INCQS 00170) (leite de vaca). Cinco cepas de *Listeria monocytogenes* também foram doadas pela Fundação Oswaldo Cruz: *Listeria monocytogenes* 1/2a (CLIST 0305), *Listeria monocytogenes* 4b (CLIST 0586) e *Listeria monocytogenes* 1/2a (CLIST 2035 ATCC 19111) isoladas de em alface, *Listeria monocytogenes* 1/2b (CLIST 2169) origem humana (sangue de recém-nato) e *Listeria monocytogenes* 4b (CLIST 3436 SCOTT A). As cepas de *Salmonella* spp. (Figura 17A) e *Escherichia coli* (Figura 17B) que se encontravam liofilizadas foram repicadas em caldo BHI (5 mL, Oxoid) e incubadas em estufa

a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ sem agitação por 24h. As cepas de *Listeria monocytogenes* (Figura 17C) que estavam congeladas em frasco criogênico em glicerol foram repicadas em 5 mL de caldo TSB (Difco) e incubadas a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ por 24h. As culturas-estoque foram mantidas em tubos inclinados de TSA (Difco) e incubadas a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ por 24h e posteriormente estocadas em refrigerador a $8\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.2.1 Preparo do inóculo

Os inóculos dos microrganismos foram preparados a partir das culturas estoque elaboradas (JENSEN et al., 2015; LANG; HARRIS; BEUCHAT, 2004) sendo que as cepas de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* foram ativadas separadamente por três dias consecutivos em 5 mL de caldo BHI (Oxoid), enquanto as de *Listeria monocytogenes* foram ativadas em 5 mL de caldo TSB (Difco). Todas as cepas foram incubadas a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ por 24h, observando o crescimento das células por turvação do meio. Após o terceiro dia de ativação, os volumes dos tubos de vidro contendo as cepas ativadas de cada microrganismo-teste foram reunidos em tubos plásticos cônicos de 50 mL (tipo Falcon), totalizando cerca de 25 mL de suspensão de inóculo de cada microrganismo. Em seguida, as culturas foram centrifugadas a $2.000 \times g$, por 15min a temperatura ambiente (CT-500) por três vezes, tendo o sobrenadante descartado e o sedimentado lavado com 10 mL de água peptonada 0,1% (Difco) entre as centrifugações. As massas celulares resultantes foram ressuspensas em 10 mL de água peptonada 0,1% (Difco). A adição de água peptonada é realizada geralmente abaixo da concentração de proteína necessária para que haja a promoção da adesão do microrganismo na matriz (JENSEN et al., 2015).

As concentrações das suspensões contendo cada microrganismo foram quantificadas por enumeração das colônias e para isso alíquotas de 1,0 mL das suspensões obtidas foram retiradas e procedeu-se a diluição seriada em água peptonada 0,1% (Difco). Um volume de 0,1 mL de cada diluição foi cultivado em superfície de seus respectivos meios de cultura seletivos. Para contagem de *Salmonella* spp. foi utilizado o meio ágar Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) (Difco), para

Escherichia coli o meio ágar Eosin Methylene Blue (EMB) (Acumedia), assim como para *Listeria monocytogenes* o meio Oxford (Oxoid). As placas cultivadas foram incubadas a $37\text{ °C} \pm 0,5$ durante 24h para *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, e por 48 h para *Listeria monocytogenes*. As contagens foram realizadas manualmente e os resultados expressos em UFC.mL^{-1} .

Os frutos de açaí foram inoculados pontualmente com micropipetador, gotejando um volume total de 1,0 mL de inóculo nos frutos, garantindo que todos os quinze frutos recebessem uma gota de inóculo, até esgotar o volume total por amostra, composta de 15 frutos. Os frutos foram mantidos em fluxo laminar (Veco) durante 30min até a secagem do inóculo. Em seguida, quinze frutos inoculados com cada mistura dos microrganismos-teste foram submetidos à análise microbiológica. Desse modo, foi possível quantificar a concentração dos microrganismos-teste antes da aplicação dos tratamentos de sanitização (N_0).

4.3 Adequação e otimização de metodologia

4.3.1 Teste de modo de inoculação e aderência

Os tratamentos foram conduzidos conforme metodologia preconizada por Beuchat et al (2003) em aproximadamente 70 g de frutos de açaí (balança Gehaka, BG2000) inoculados com mistura de *Salmonella* spp. da seguinte forma: gotejamento de 1,0 mL de inóculo e secagem em fluxo laminar (temperatura ambiente); gotejamento de 1,0 mL de inóculo e secagem em estufa incubadora (Solab) a $37\text{ °C} \pm 0,5$ por 24h; imersão em suspensão de 2,0 mL inóculo com 18,0 mL água peptonada 0,1% e secagem em fluxo laminar (temperatura ambiente), imersão em 2,0 mL inóculo com 18,0 mL água peptonada 0,1% e secagem em estufa incubadora a $37\text{ °C} \pm 0,5$ por 24h .

Os tratamentos de gotejamento dos frutos foram realizados com o auxílio de micropipeta de 100 μL , aplicando gota a gota no fruto em placa de Petri (Figura 18A). Para avaliar os modos de secagem do inóculo, uma parte dos frutos inoculados foram mantidos nas placas de Petri dentro

do fluxo laminar (Figura 18C) e outros frutos inoculados foram transferidos para Erlenmeyers tampados com algodão estéril e levados até à estufa incubadora a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ (Figura 18D). Os tratamentos de imersão foram realizados em sacos plásticos esterilizados (19 x 30 cm, Whirl-Pak), contendo os frutos e adicionando 18,0 mL de água peptonada 0,1% e depois 2,0 mL de inóculo (Figura 18B). Os frutos foram mantidos imersos por um período total de 5min, com revolvimento a cada 1 minuto, quando a suspensão de inóculo foi drenada e os frutos transferidos ou para placa de Petri e mantidos em fluxo laminar (temperatura ambiente) (Figura 18C) ou para Erlenmeyers tampados com algodão esterilizados e levados à estufa incubadora a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ (Figura 18D).

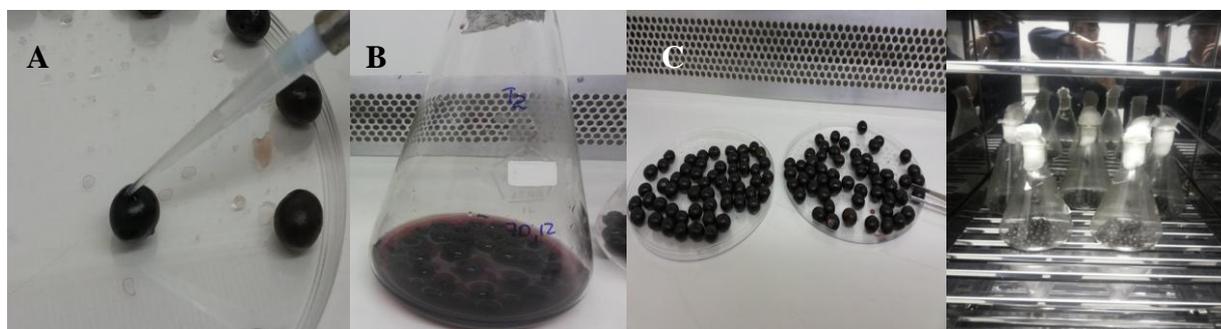


Figura 18. Detalhes do ensaio de inoculação por gotejamento (A) e imersão (B) dos frutos de açaí e secagem a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (estufa incubadora) (C) e a temperatura ambiente (fluxo laminar) (D).

Os frutos de cada tratamento após a etapa de secagem do inóculo em fluxo laminar ou estufa incubadora foram transferidos para sacos plásticos esterilizados (19 x 30 cm, Whirl-Pak) com 20,0 mL de água peptonada 0,1%, para recuperação das células. Os frutos foram delicadamente esfregados manualmente durante 1 minuto e o saco agitado por mais 30s. Alíquotas desta suspensão de recuperação dos frutos foram diluídas em série e plaqueadas em superfície (0,1 mL) em meios ágar XLD (Difco) e ágar HE (Hektoen entérico) (Acumedia), em duplicata, pois são considerados meios moderadamente seletivos para esta bactéria (VOETSCH et al., 2004). As placas de Petri foram incubadas a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ por 24h e as colônias características de *Salmonella* spp. contadas.

4.3.2 Teste de compatibilidade entre cepas

As cepas de cada microrganismo-teste foram avaliadas quanto ao efeito antagônico sobre a capacidade de inibição do crescimento de outras cepas. Conforme metodologia utilizada (BEUCHAT; WARD; PETTIGREW, 2001), cada uma das cinco cepas de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* foi ativada, a partir das culturas estoque anteriormente elaboradas (JENSEN et al., 2015; LANG; HARRIS; BEUCHAT, 2004), por três dias consecutivos em tubo de ensaio contendo 5 mL de caldo BHI (Oxoid) e incubadas a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ por 24h, observando o crescimento das células por turvação do meio. Foram reunidas em tubo plástico cônico de 50 mL (tipo Falcon) e centrifugadas por três vezes a $2.000 \times g$ por 15min a temperatura ambiente (CT-500), sendo posteriormente lavadas e ressuspensas em água peptonada 0,1% (Difco). As cepas foram avaliadas pelo método de estrias cruzadas em TSA (Difco) e incubadas por 24h a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$. A inibição das cepas foi avaliada pela observação de inibição do crescimento das colônias nas junções das estrias.

4.3.3 Teste de temperatura na superfície do fruto

Frutos de açaí foram imersos em água aquecida em banho-maria (Huber microprocessado Control MPC) com o auxílio de escumadeira de aço inox, às temperaturas de $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, monitoradas por termopack (Salcasterm 200). Foram realizadas 6 leituras de temperatura da superfície do fruto com termômetro infravermelho (InfraRed Thermometer TI-860) em períodos de tempo de 2s, 4s, 6s, 8s e 10s em cada temperatura da água (Figura 19).



Figura 19. Medição da temperatura da superfície do fruto de açai

O tempo de branqueamento dos frutos a 90 °C foi determinado pelo valor L (proporção letal) calculado (1s) (GAZE, 2006). Mas, levando-se em consideração que o processador artesanal teria dificuldades de cumprir este exíguo tempo, aliando ao relatado por Rogez et al. (1996), que preconizaram que o tempo de branqueamento deveria ser $\leq 10s$, optou-se pelo tempo de imersão de 10s.

4.4 Métodos de sanitização do fruto

Dois ensaios foram realizados separadamente, em momentos distintos.

No primeiro ensaio frutos de açai inoculados com *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* foram testados por tratamento térmico por branqueamentos a 80 e a 90 °C e por tratamentos não-térmicos por cloração e ozonização aquosa.

No segundo ensaio, o tratamento mais eficaz na redução microbiana observado no primeiro ensaio, o branqueamento de frutos a 90 °C por 10s, foi estudado com diferentes soluções aquosas para resfriamento, avaliando o fenômeno da infiltração microbiana em frutos inoculados com *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*.

4.4.1 Tratamento térmico

4.4.1.1 Branqueamento

Para as **análises microbiológicas** em escala laboratorial com amostras de 15 frutos, 500 mL de água destilada foram aquecidos em dois béqueres de 2 L, monitoradas por termômetro analógico de imersão total (HG) e utilizadas nos dois tratamentos térmicos: imersão dos frutos inoculados a 80 °C por 10s, como determinado pela legislação estadual (PARÁ, 2012a) e a 90 °C por 10s. A imersão dos frutos foi realizada com a ajuda de escumadeira de aço inox e os frutos foram drenados após o tempo de imersão e resfriados em 500 mL água destilada à temperatura ambiente por 2min e drenados. O tratamento controle consistiu de frutos não inoculados acondicionados em escumadeira de aço inox e imersos em 500 mL água destilada em béquer de polipropileno de 2 L, à temperatura ambiente por 15min e drenados.

Para as **análises físico-químicas e sensorial** em escala piloto, frutos pré-lavados (lote 10 kg) foram colocados em sacos de polietileno de alta densidade (PEAD) com tamanho de malha de 2,4 x 6,1 mm e imersos em água aquecida (Figura 20A).



Figura 20. Branqueamento dos frutos de açai a 80 e 90 °C (A), com imersão dos frutos em água aquecida (B) e posterior resfriamento em água clorada (50 mg.L⁻¹) por 2min (C).

Um lote foi imerso em água a 80 °C em autoclave (AV175), durante 10s (Figura 20B), conforme determinado por lei (PARÁ, 2012a), com monitoramento da temperatura em termômetro digital tipo espeto (ref. 6132, Inconterm). Os frutos foram rapidamente drenados e imersos em recipiente plástico contendo 12 L de água clorada (50 mg. L⁻¹) a temperatura ambiente durante 2min para resfriamento (Figura 20C). Outro lote de frutos pré-sanitizados foi branqueado a 90 °C durante 10s. Os frutos foram rapidamente drenados e imersos em recipiente plástico contendo 12 L de água clorada (50 mg. L⁻¹) a temperatura ambiente durante 2min para resfriamento e drenados.

4.4.2 Tratamentos não-térmicos

4.4.2.1 Cloração

Para as **análises microbiológicas** em escala laboratorial os frutos inoculados foram acondicionados em escumadeira de aço inox e imersos em 500 mL de solução clorada 200 mg.L⁻¹ utilizando-se água sanitária comercial (marca Globo, 2,0 a 2,5% cloro livre p/p) em béquer de 2 L por 15min, e depois os frutos foram drenados.

As concentrações iniciais e finais de cloro de todos os tratamentos de cloração foram determinadas pelo método colorimétrico DPD (APHA; AWWA; WEF, 2005)(APHA; AWWA; WEF, 2005).

Para as **análises físico-químicas e sensorial** em escala piloto, lote de 10 kg de frutos pré-lavados foram imersos em 12 L de água potável por 15min em solução clorada a 150 mg.L⁻¹ preparada com cloro comercial (marca Brilux, 2,0 a 2,5% de cloro livre p/p) e imediatamente enxaguados em 12 L de água potável e drenados, representando o tratamento controle. O uso de cloro comercial foi utilizado no intuito de simular as mesmas condições do processador semi-artesanal

4.4.2.2 Ozonização aquosa

Para as **análises microbiológicas** em escala laboratorial, 500 mL água destilada foram previamente ozonizadas a $4 \text{ mg.L}^{-1} \text{ O}_3$ por 5min em frasco Schott 1 L com aparelho ozonador (Ozone & Life 3.0 RM, Brasil) pelo método descarga corona (Figura 21A). O ozônio foi dissolvido em água através de uma pedra porosa difusora de gás. O residual de ozônio na água foi medido de acordo com os procedimentos prescritos pela Precision Labs, através do kit analítico fotométrico (K-7423) em conjunto com o Fotômetro (SAM Ozônio I-2019, Chemetrics). Após concluído o tempo de ozonização da água, os frutos foram imersos nesta solução aquosa a $4 \text{ mg.L}^{-1} \text{ O}_3$, em ozonização continuada (Figura 21B), e realizada a leitura de concentração inicial de O_3 . Após 10min de imersão em solução aquosa ozonizada, os frutos foram drenados com o auxílio de garfo de aço inoxidável e a concentração final de O_3 também foi mensurada.

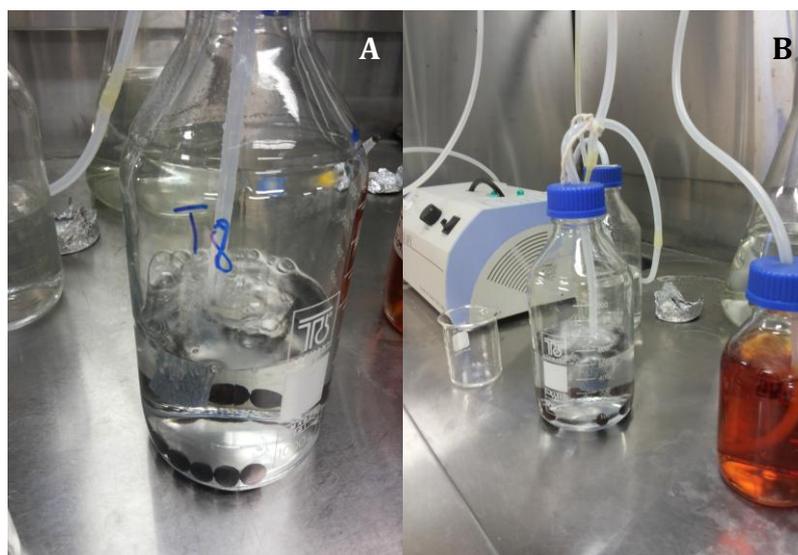


Figura 21. Aparato do processo de ozonização aquosa de frutos de açai (A) e de neutralização do ozônio residual (B) para análises microbiológicas.

Por se tratar de um gás prejudicial à saúde, o ozônio gerado durante o tratamento da água e dos frutos foi neutralizado antes de ser liberado na atmosfera (SILVA et al., 2007), borbulhando-o em 900 mL solução de iodeto de potássio KI 2% (Proquimios) em um frasco lavador de gás colocado

em série (Figura 21B). Na reação, o íon de iodeto se oxida a iodo através da ação do ozônio em uma solução de iodeto de potássio. O oxigênio atômico liberado a molécula de ozônio se reverte em oxigênio molecular (SILVA, et al., 2011).

Para as **análises físico-químicas e sensorial** em escala piloto, o ozônio foi gerado em ozonador (3.0 RM Ozone & Life[®]) pelo método corona (processo eletroquímico) acoplado a uma fonte de oxigênio super puro (> 99.5%) (White Martins Ltda.) (Figura 22A).

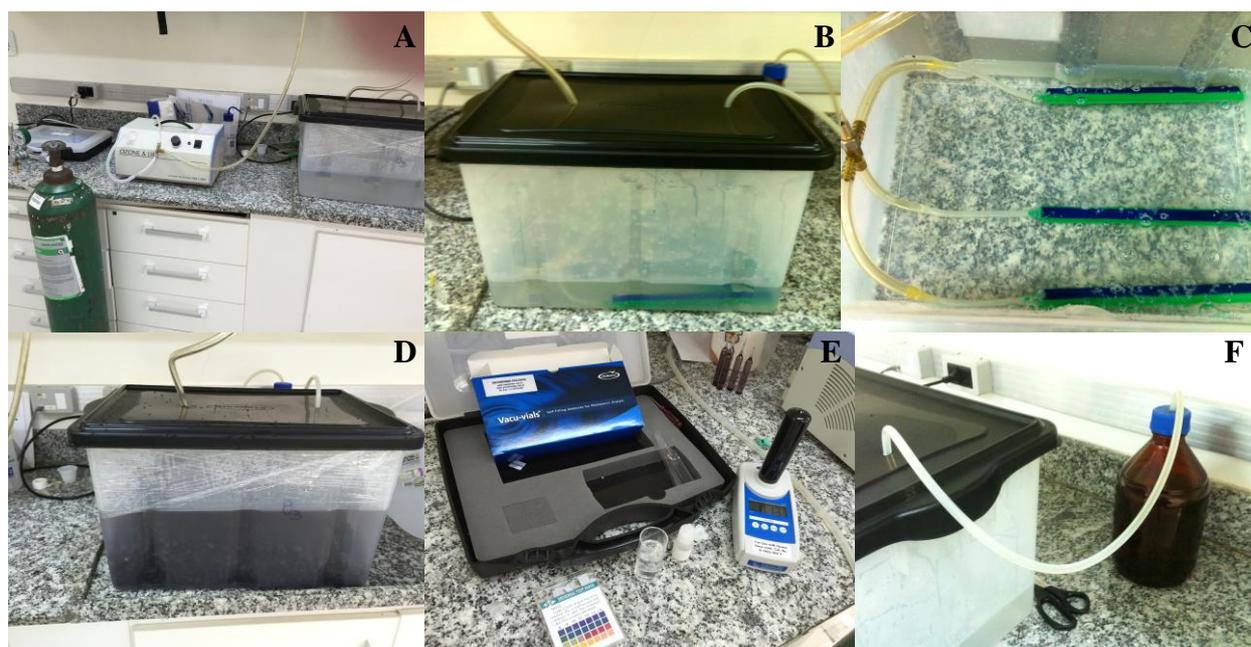


Figura 22. Esquema de ozonização aquosa (A), recipiente de sanitização (B), difusão do ozônio na água pré-ozonizada (C), ozonização aquosa dos frutos (D), mensuração fotométrica da concentração de O_3 (E) e conversão do ozônio residual com iodeto de potássio (F).

O tratamento de ozonização foi conduzido em recipiente de polietileno retangular, com fechamento hermético e borracha na junção da caixa para melhor vedação (Figura 22B). Os recipientes apresentavam dois orifícios na tampa, em cada um deles foi adaptada uma mangueira de silicone, para entrada do O_3 e a outra para a exaustão do gás (Figura 22B). Um volume de 12 L de água foi previamente ozonizada a 4 mg.L^{-1} por 5min em recipiente de polietileno por um difusor poroso (Figura 22C). Os frutos de açaí foram imersos nesta solução ozonizada, quando a concentração inicial de O_3 foi medida (Figura 22D). Após 10min de imersão, os frutos foram

drenados e a concentração final da água ozonizada foi novamente medida. O residual de ozônio na água foi medido com a mesma metodologia utilizada para a escala laboratorial (Figura 22D). O excesso de ozônio foi convertido novamente em oxigênio antes de ser liberado para a atmosfera (Figura 22E). Os experimentos com O₃ foram realizados de acordo com rigorosas normas de segurança e proteção.

4.5 Avaliações microbiológicas

Dois ensaios microbiológicos foram realizados separadamente, em momentos distintos.

4.5.1 Frutos sanitizados por tratamentos térmico e não-térmicos

Neste primeiro ensaio microbiológico, os frutos de açaí foram inoculados com *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* e sujeitos a tratamento térmico por branqueamento a 80 °C e a 90 °C por 10s e a tratamentos não-térmicos por cloração a 200 mg.L⁻¹ e ozonização aquosa 4 mg.L⁻¹ por 10min, separadamente, tendo como tratamento controle frutos lavados em água destilada (Figura 23).

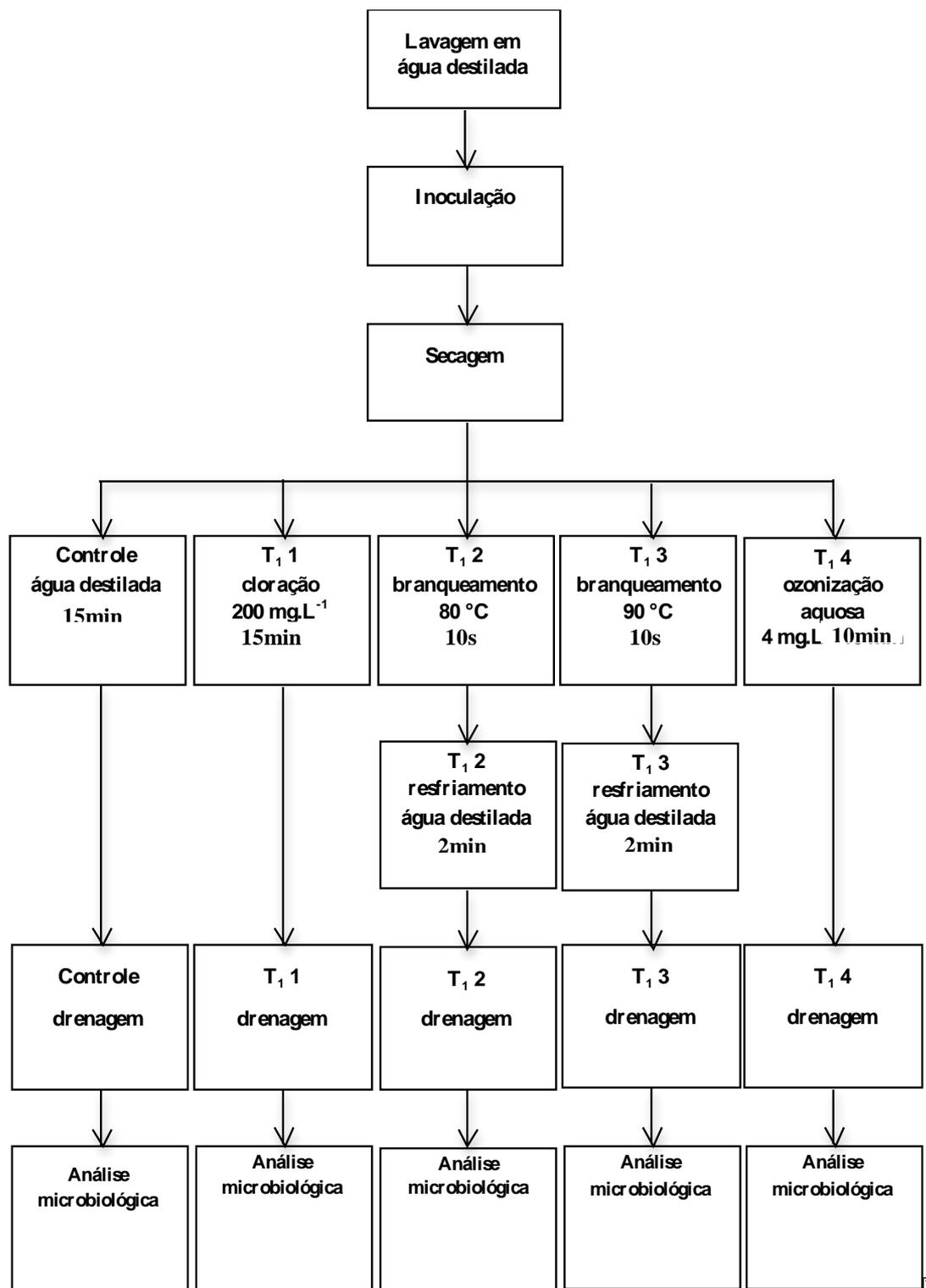


Figura 23. Fluxograma do primeiro ensaio microbiológico com frutos de açáí inoculados com *Salmonella* spp., *E. coli* e *L. monocytogenes* e tratamentos termicamente (branqueamento a 80 °C e a 90 °C) e não-térmicamente (cloração e ozonização aquosa) e com água destilada (controle).

4.5.2 Frutos sanitizados combinando branqueamento a 90 °C e resfriamentos

No segundo ensaio microbiológico, os frutos inoculados com *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* foram primeiramente branqueados a 90 °C por 10s (item 4.4.1.1) e posteriormente resfriados por 2min com diversas soluções aquosas diversas (Figura 24).

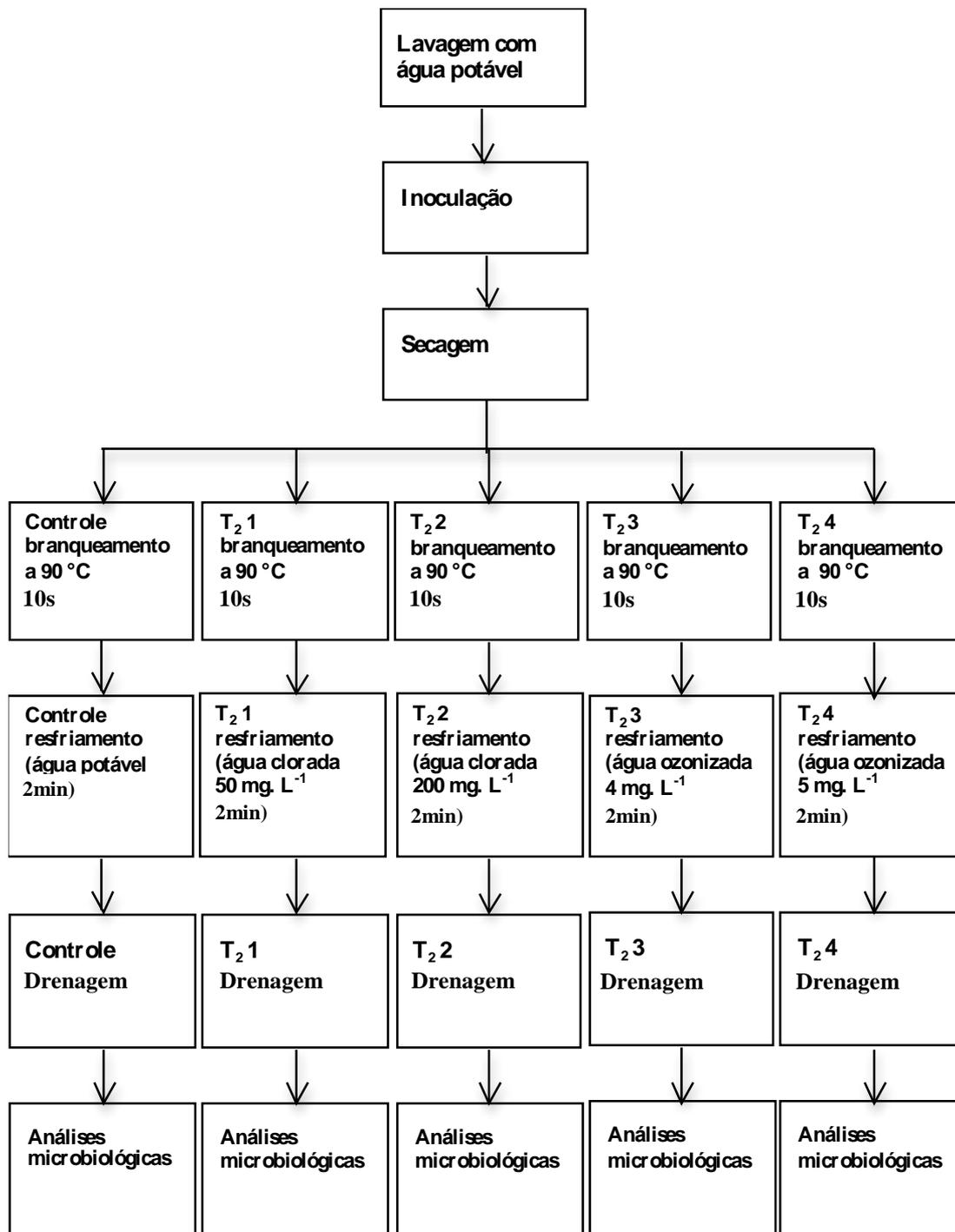


Figura 24. Fluxograma do segundo ensaio microbiológico com frutos de açáí inoculados com *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* e tratados por branqueamento a 90 °C com resfriamento em diferentes soluções aquosas.

O tratamento controle consistiu de branqueamento de frutos não inoculados acondicionados em escumadeira inox e branqueados a 90 °C por 10s em béquer de 2 L com resfriamento em água potável à temperatura ambiente por 2min, seguido de drenagem da água de resfriamento.

4.5.2.1 Combinação de branqueamento a 90 °C e resfriamento com água clorada

Frutos de açaí inoculados, branqueados a 90 °C e drenados foram resfriados em 500 mL de água clorada em concentrações de 50 mg.L⁻¹ e 200 mg.L⁻¹, separadamente, por 2min, conforme metodologia descrita para cloração (item 4.4.2.1) e depois drenados.

4.5.2.2 Combinação de branqueamento a 90 °C e resfriamento com água ozonizada

Frutos inoculados, branqueados a 90 °C por e drenados foram rapidamente resfriados por imersão em 500 mL de águas previamente ozonizadas (4 mg. L⁻¹ e 5 mg. L⁻¹) por 2min. A água foi previamente ozonizada por 5min conforme metodologia descrita para ozonização (4.4.2.2).

4.5.3 Análises microbiológicas

Os frutos de açaí inoculados e tratados nos dois ensaios microbiológicos foram colocados em sacos plásticos esterilizados (19 x 30 cm, Whirl-Pak) e 6 mL de água peptonada 0,1% (Difco) foram adicionados para recuperação do microrganismo, simulando o volume de água durante a confecção da açaí processado classificado como açaí batido fino (14 kg fruto: 4 L água) em processadoras semi-artesais (MALCHER; CARVALHO, 2011). Durante 1 minuto, os frutos foram friccionados levemente na casca, sob o saco esterilizado, evitando assim a retirada da polpa (Figura 25A). Depois o saco contendo fruto e a simulação do produto açaí batido foi revolvido durante trinta segundos para homogeneização da suspensão (Figura 25B).

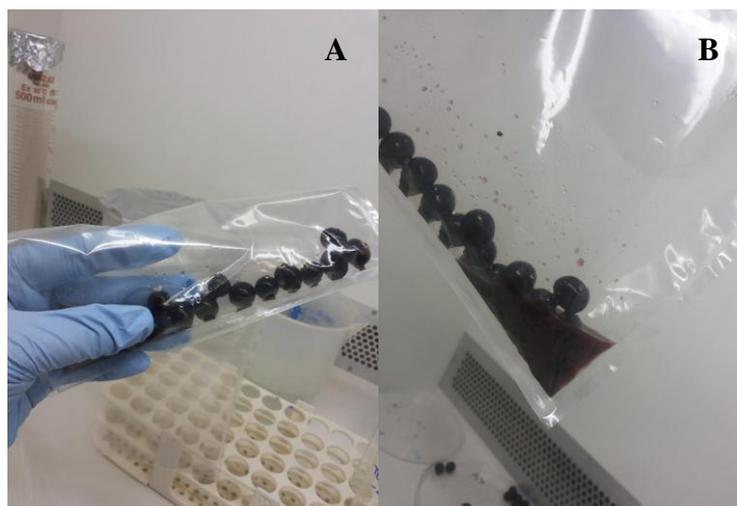


Figura 25. Frutos de açaí sendo friccionados (A) e solução de recuperação após homogeneização (B).

Alíquotas de 1,0 mL da suspensão obtida foram retiradas e procedeu-se a diluição seriada em água peptonada 0,1% (Difco). Os plaqueamentos em superfície (0,1 mL) em duplicata das suspensões foram efetuados nos meios respectivos para *Salmonella* spp. (XLD Difco), *Escherichia coli* (EMB Levini Neogen), e *Listeria monocytogenes* (Oxford Oxoid). As placas cultivadas foram incubadas a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ durante 24h para *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, e por 48h para *Listeria monocytogenes*. As contagens foram realizadas manualmente e os resultados expressos em UFC.mL^{-1} , representando a contagem microbiana recuperada após aplicação dos tratamentos de sanitização (N).

Três colônias isoladas de *Escherichia coli* foram submetidas à confirmação bioquímica pelos testes IMViC. A confirmação bioquímica de *Listeria monocytogenes* foi conduzida por API-Listeria (V1.2 bioMérieux) e de *Salmonella* spp. por API-20E (V4.1 bioMérieux).

4.6 Avaliação da composição

4.6.1 Frutos sanitizados por tratamentos térmicos e não-térmicos

Os frutos de açaí foram sujeitos a tratamentos térmicos por branqueamentos a 80 °C e a 90 °C por 10s e a tratamentos não-térmicos por ozonização aquosa 4 mg.L⁻¹ por 10min e cloração a 150 mg.L⁻¹ como tratamento controle, conforme fluxograma (Figura 26).

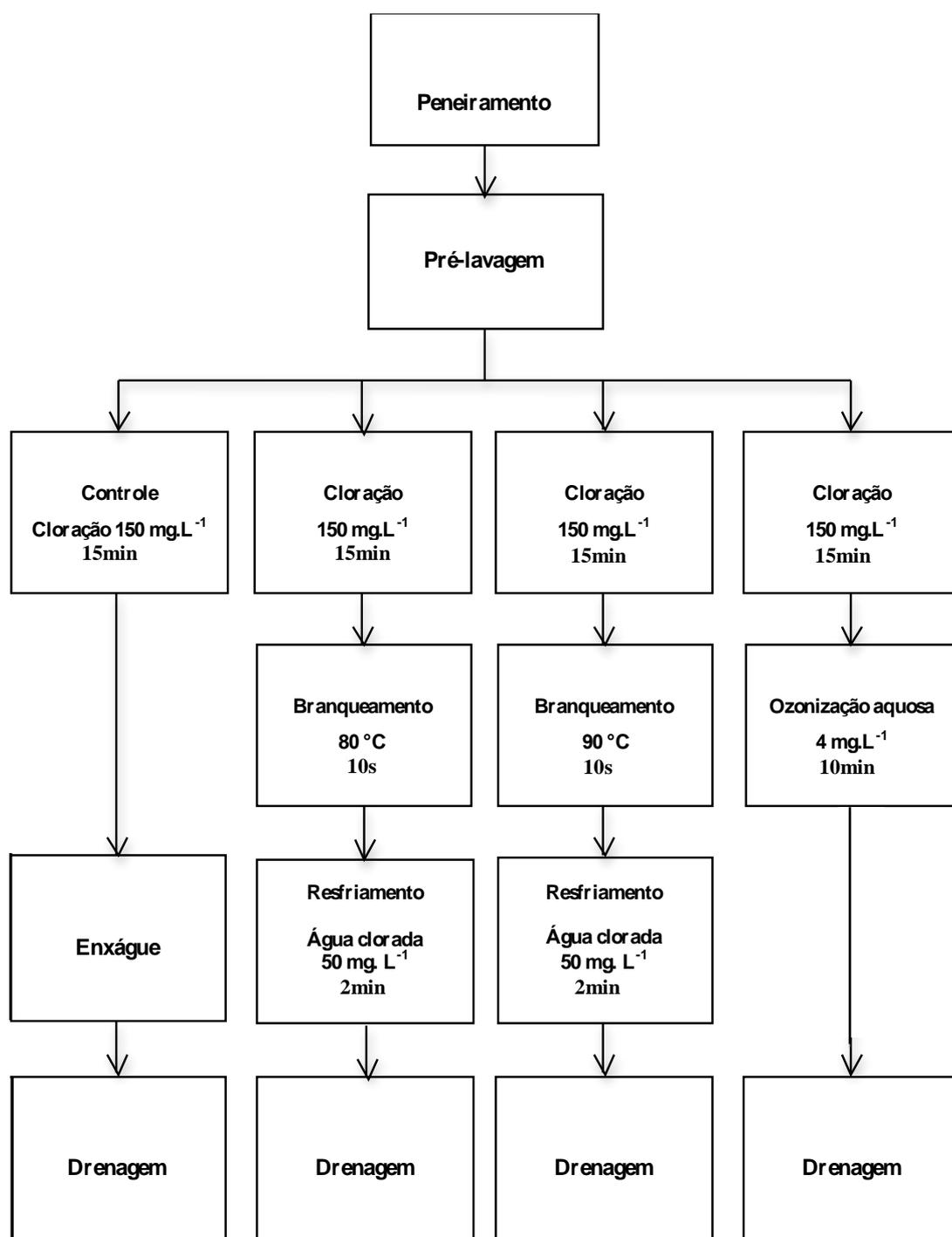


Figura 26. Fluograma do ensaio físico-químico com frutos de açai tratados por branqueamentos a 80 °C e 90 °C, ozonização aquosa e cloração (controle).

4.6.2 Liofilização dos frutos

De todos os lotes de frutos tratados conforme fluxograma (Figura 26) amostras de 500 g de frutos íntegros foram retiradas e colocados em freezer a -20 °C (Electrolux FFE) durante 24h. Os frutos

congelados foram liofilizados a $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 8h em liofilizador (Enterprise I Terroni) e posteriormente tiveram polpa (mesocarpo) e casca (epicarpo) retiradas manualmente e pesadas em balança analítica (Ohaus AdventurerTM AR3130 classe II). As polpas integrais liofilizadas foram acondicionadas novamente em sacos nylon-poli, fechados a vácuo e congeladas em freezer (Eletrolux FFE) e posteriormente transportadas para o Laboratório de Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro (RJ) para realização das análises físico-químicas, onde foram conservadas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.6.3 Composição

4.6.3.1 Umidade

A análise da umidade (UMI) da amostra foi realizada pela perda por dessecação por secagem direta em estufa (Fabbe 119) a 105°C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Pesou-se 1 g da polpa de frutos liofilizados em balança analítica (Shimadzu, AX200) em cápsula de porcelana previamente tarada e colocadas em estufa (Fabbe, modelo 119), a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3h. O cálculo da umidade foi realizada pela seguinte fórmula:

$$\text{Umidade \%} = 100 \left[\frac{100 \times (\text{massa final} - \text{massa inicial})}{\text{massa amostra}} \right]$$

4.6.3.2 pH

Para diluição da amostra, pesou-se 10 g da polpa de frutos de açaí liofilizados em balança analítica (Shimadzu, AX200) em um béquer e adicionou-se 100 mL de água destilada (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008) e procedeu-se as leituras utilizando um potenciômetro digital (Lucadema, modelo Luca-210).

4.6.3.3 Acidez total titulável

Pesou-se cerca de 2 g de polpa de frutos de açaí liofilizados em balança analítica (Shimadzu, AX200) e agitou-se com 50 mL de água destilada em agitador magnético. Titulou a solução contendo a amostra com solução de NaOH 0,1N (Vetec, PA) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). O cálculo da acidez total titulável (ATT) foi realizada pela seguinte fórmula:

$$ATT = \frac{V \times N \times f \times 100}{P} \times \text{mEq do ácido orgânico predominante, onde:}$$

ATT = porcentagem da acidez titulável em ácido cítrico (%)

V = volume da solução de NaOH gasto (mL)

N = normalidade da solução de NaOH (equivalentes.L⁻¹)

f = fator de correção da solução, 0,962

P = peso da amostra (g)

mEq = miliequivalente do ácido cítrico málico, 0,06705

4.6.3.4 Proteína bruta total

O teor de proteína bruta total (PBT) foi determinada através do Método Kjeldahl Clássico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008; NOGUEIRA; SOUZA, 2005) quantificando o nitrogênio em três etapas: digestão, destilação e titulação. O teor de proteína bruta foi calculado multiplicando-se o nitrogênio total pelo fator 6,25 (%N x 6,25). A amostra de polpa de frutos liofilizados foi pesada em torno de 0,15 g (Shimadzu, AX200). O nitrogênio presente na amostra foi determinado pela titulação do excesso de ácido bórico (Proquimios, PA) utilizado na destilação com hidróxido de sódio (NaOH) (Vetec, PA). Titulou-se o conteúdo do Erlenmeyer com ácido sulfúrico 0,05 mol.L⁻¹ (Vetec PA ACS ISO) até coloração rósea clara. O cálculo do teor de proteína bruta foi realizada pela seguinte fórmula:

$$\text{Proteína Bruta Total (\%)} = \frac{(V_A - V_B) \times M \times 2 \times f \times 0,014 \times 100 \times 6,25}{m}, \text{ onde:}$$

V_A = Volume (mL) da solução H₂SO₄ 0,05 mol.L⁻¹ gasto na titulação da amostra;

V_B = Volume (mL) da solução H_2SO_4 $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ gasto na titulação do branco;

M = Molaridade teórica da solução H_2SO_4 $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$

f = Fator de correção da solução H_2SO_4 $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$

0,014 = Fator de equivalência entre os conteúdos H_2SO_4 gasto na titulação e nitrogênio da amostra

Fator de conversão de nitrogênio em proteína = 6,25

m = massa (g) da amostra

4.6.3.5 Lipídios totais

Determinado pelo método de extração por Soxhlet utilizando éter de petróleo (Vetec PA) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Pesou-se 1 g (Shimadzu, AX200) da amostra em papel de filtro e transferiu-se para o aparelho extrator tipo Soxhlet (Tecnal, TE-044), adicionando-se éter de petróleo. Após a extração a quente, transferiu-se o balão contendo o resíduo extraído para uma estufa a 105°C (Fabbe, modelo 119), mantendo por cerca de uma hora. O cálculo do teor de lipídeos totais (LPT) ou do extrato etéreo total foi realizado pela seguinte fórmula:

$$\text{Lipídeos ou extrato etéreo total \%} = 100 \times \left[\frac{\text{massa (g) de lipídios}}{\text{massa (g) da amostra}} \right]$$

4.6.3.6 Cinzas

O teor de cinzas (CNZ) ou do resíduo por incineração foi determinado gravimetricamente em mufla (Quimis) a $550\text{-}570^\circ\text{C}$ por um período de 4 h (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Pesou-se em torno de 1 g (Shimadzu, AX200) de amostra em cápsula de porcelana previamente aquecida em mufla a $550\text{-}570^\circ\text{C}$, resfriada em dessecador até alcançar a temperatura ambiente e posteriormente pesada. Incinerou-se a amostra até a carbonização total com cálculo do teor de cinzas ou do resíduo foi realizado pela fórmula:

$$\text{Cinzas \%} = \left[\frac{\text{massa (g) cinzas}}{\text{massa (g) amostra}} \right]$$

4.6.3.7 Carboidratos totais

O teor de carboidratos totais (CBT) foi calculado por diferença segundo a Resolução RDC n° 360, de 23.12.2003 (BRASIL, 2003) pela seguinte fórmula:

Carboidratos totais (CBT) % = $100 - (\text{UMI} + \text{PBT} + \text{LPT} + \text{CNZ})$, onde:

UMI = umidade expressa em g

PBT = proteína bruta total expressa em g

LPT = lipídeos totais expressos em g

CNZ = cinzas expressos em g

4.6.3.8 Valor Energético Total

O valor energético total (VET) foi obtido aplicando-se os fatores de Atwater 4 kcal.g^{-1} para os valores de proteína bruta total; 9 kcal.g^{-1} para lipídios totais e 4 kcal.g^{-1} para carboidratos totais (ANDERSON et al., 1988; BRASIL, 2003) na seguinte fórmula:

Valor energético total (VET) kcal = $(\text{PBT} \times 4) + (\text{LPT} \times 9) + (\text{CBT} \times 4)$

4.6.3.9 Atividade de água

A avaliação da atividade de água (Aa) foi realizada por meio de medida direta em aparelho digital (Novasina, Lab Touch-Aw), com controle interno de temperatura a $25,2 \text{ }^\circ\text{C}$.

4.6.3.10 Ácidos graxos

Frutos de açaí liofilizados foram avaliados quanto ao perfil de ácidos graxos, com a extração do óleo realizada a frio com éter de petróleo, para posterior metilação pelo método Hartman e Lago (1973) e análise em cromatografia gasosa.

Para extração da fração lipídica, pesou-se 1 g de amostra em balança analítica (Mettler Toledo, AB204-S) em tubo cônico (tipo Falcon) de plástico de 50 mL e adicionou-se 30 mL de éter de petróleo (Vetec, PA), com agitação vórtex por 1min (Figura 27A).

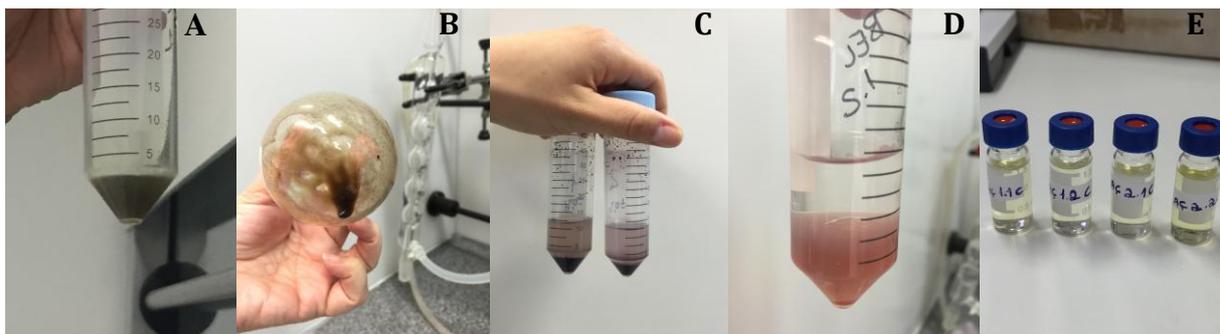


Figura 27. Extração do óleo da polpa de frutos de açáí liofilizados (A), extrato lipídico (B), separação dos ésteres metílicos (C), esterificação (D) e amostras para injeção em cromatógrafo.

Transferiu-se o extrato para balão previamente tarado e repetiu-se a extração por mais cinco vezes. Evaporou-se o éter em rota-evaporador Buchi RE121 e depois com N_2 (Figura 27B).

A preparação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos (FAME) se deu a partir da conversão (esterificação) dos lipídeos (Figura 27C), pois aqueles derivados tem ponto de ebulição menor para avaliação cromatográfica gasosa (HARTMAN; LAGO, 1973). O extrato foi saponificado com 1,5 mL de solução potassa metanólica 0,5 N (KOH Sigma-Aldrich, Metanol Merck) e esterificado com 4,5 mL de reagente de esterificação que contém cloreto de amônio (Merck) e metanol (Merck) (Figura 27D). Finalmente foi adicionado 10 mL hexano (Tedia) com formação de emulsão, que foi lavada com água destilada. O sobrenadante foi transferido para vial de cromatografia (Figura 27E).

A cromatografia em fase gasosa foi realizada em cromatógrafo gasoso modelo Agilent 7890 com detector ionização de chama, utilizando-se coluna capilar de sílica fundida de 60 m, 0,32 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de fase estacionária de ciano propil siloxano na temperatura inicial de 100 $^{\circ}\text{C}$, com programação de temperatura de 100 a 150 $^{\circ}\text{C}$ na taxa de aquecimento de 50 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, de 150 a 180 $^{\circ}\text{C}$, com rampa de 1 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, de 180 a 200 $^{\circ}\text{C}$, com taxa de 25 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e mantida a 200 $^{\circ}\text{C}$ por 15min. O injetor foi mantido a temperatura de 250 $^{\circ}\text{C}$ no modo de divisão de fluxo (*split*) na razão de 50:1. Foi injetado um volume de 1 μL de uma solução 2% em hexano 95%

(Tedia). A temperatura do detector de ionização de chama foi de 280 °C e o fluxo de gás de arraste (H₂) foi de 2,5 mL.min⁻¹ (medido a 40 °C). A identificação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos foi realizada por comparação dos tempos de retenção com padrões da NU CHEK (Elysian, MN) números 62, 79 e 87 e a quantificação foi realizada por normalização interna.

4.6.3.11 Antocianinas

4.6.3.11.1 Extração das antocianinas

A extração das antocianinas totais e monoméricas da polpa de fruto de açaí liofilizado foi realizada com ácido fórmico (marca Merck) 10% em metanol (Tedia PA HPLC/Spectro). (BRITO et al., 2007). Pesou-se 0,1 g de cada polpa de fruto liofilizado em balança analítica (Ohaus Adventurer™ AR2140, EUA) em tubos cônico de plástico (50 mL). Adicionou-se 2 mL de ácido fórmico 10% (Merck) em metanol (Tedia PA HPLC/Spectro). Os tubos foram agitados em vórtex durante 1min, colocados em banho-ultrassom (Ultrasson Plus 3LD) por 10min e depois centrifugados a 3.000 g (Hettich Zentrifugen Rotina 38R) por 10min (20 °C). O sobrenadante foi recolhido em balão volumétrico âmbar 10 mL. A extração foi repetida por seis vezes e os extratos foram combinados no balão volumétrico até alcançar o volume de 10 mL. Este extrato foi utilizado para análise de antocianinas totais por espectrofotometria e monoméricas por CLAE.

4.6.3.11.2 Antocianinas totais

As antocianinas totais foram quantificadas espectrofotometricamente pelo método do pH diferencial com leitura a 517 e 700 nm (ARAÚJO et al., 2008; GIUSTI; WROLSTAD, 2001; SANTIAGO et al., 2010). Foram avolumados 9 mL de extrato antociânico em solução de ácido fórmico 10 % (Merck) em metanol (Tedia PA HPLC/Spectro). Alíquotas de 2 mL de cada amostra foram retiradas e colocadas em balão âmbar de 25 mL (duplicatas). Uma replicata foi avolumada com tampão pH 1,0. Após 1min, avolumou-se a segunda replicata com tampão de pH

4,5. Após um intervalo de 30min após a adição do pH 1,0, realizou-se a leitura do extrato em cubeta de quartzo com caminho ótico de 1cm, em espectrofotômetro Specord 205-222A119, em dois comprimentos de onda (517 e 700 nm). As leituras do UV-Visível foram captadas pelo programa WinASPECT. O teor de antocianinas totais foi calculado pela seguinte equação:

$$A \text{ (mg.100g}^{-1}\text{)} = \frac{A_{517} - A_{700}}{m} \times 10 - \frac{(A_{517} - A_{700})_{4,5}}{m} \times 10 \times * 0,01669 \times \text{Vol (mL) diluição} \times 100$$

Onde:

A = Antocianinas totais (mg cianidina 3-O-glicosídeo.100g⁻¹ de amostra)

$$* 0,01669 = \frac{PM \text{ Cianidina-3-O-glicosídeo eq} \times 1000}{\epsilon} \times b = \frac{449,2 \times 1000}{26900} = 16,69 \text{mg.L}^{-1} = 0,01669 \text{ mg.mL}^{-1}$$

PM = Peso molecular da cianidina 3-O-glicosídeo = 449,2g .mol⁻¹

ϵ = absorvidade molar da cianidina 3-O-glicosídeo = 26900 L.mol⁻¹.cm⁻¹

b = caminho ótico 1cm

4.6.3.11.3 Antocianinas monoméricas

As antocianinas extraídas foram separadas e identificadas quanto às antocianinas monoméricas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) comparando tempos de retenção com padrões autênticos de cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-O-rutinosídeo (GOUVÊA et al., 2012). Do extrato obtido (4.6.3.11.1) coletou-se 1,0 mL para microcentrifugar (Hsiangtai MCD-200) a 14.000 rpm por 5min (Figura 28A).

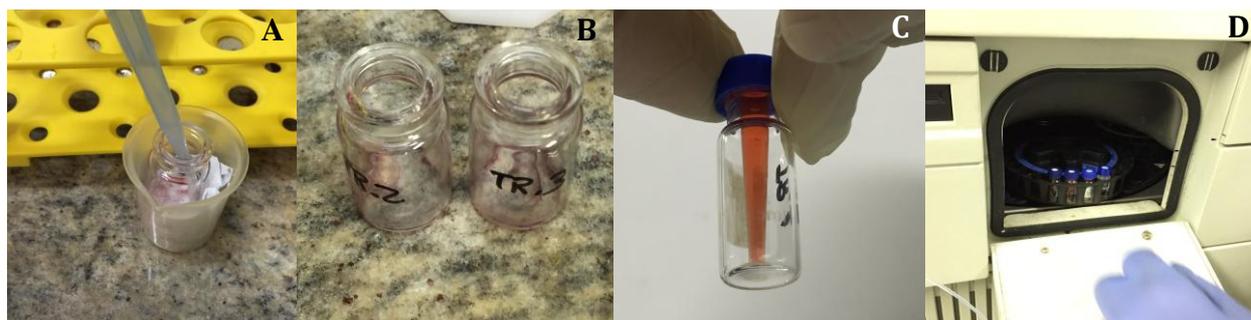


Figura 28. Preparo do extrato antociânico por microcentrifugação (A), evaporação por ar comprimido (B), ressuspensão em vial para compor a solução de injeção (C) e acomodação no cromatógrafo (D).

Retirou-se uma alíquota de 200 μL do sobrenadante obtido na microcentrifugação e efetuou-se a evaporação por ar comprimido (Figura 28B). Adicionou-se 200 μL de metanol 10% (Tedia PA HPLC/Spectro) em ácido fórmico 5% (Merck) ao extrato evaporado para ressuspensão do extrato antociânico, formando a solução de injeção (Figura 28C) que foi transferida para vial para análise das antocianinas monoméricas por CLAE. A análise cromatográfica foi realizada em um equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência Waters[®] Alliance modelo 2690/5 (Figura 28D), equipado com detector de arranjo de fotodiodos Waters[®] modelo 2996, software Empower[®], coluna Symmetry[®] C₁₈ (4,6 x 150 mm, 3,5 μm), fluxo de 1,0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e 50 μL de injeção. A fase móvel foi formada por solução aquosa de ácido fórmico 5% (solvente A) e metanol 10% (solvente B). Os teores das antocianinas monoméricas foram calculados pelas respectivas curvas analítica de cianidina-3-O-glicosídeo (Figura 29) e cianidina-3-O-rutinosídeo e o resultado expresso em $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ amostra, com padrões isolados segundo Gouvêa et al. (2012).

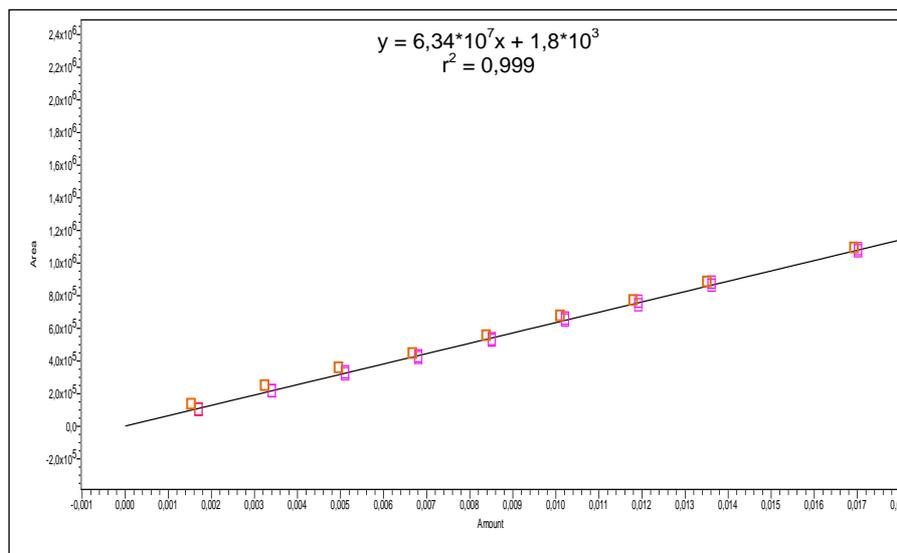


Figura 29. Curva analítica de cianidina-3-O-glicosídeo (mg.100g⁻¹).

4.7 Atividade antioxidante

4.7.1 Fenólicos totais

Polpas de frutos açaí liofilizados foram avaliadas quanto ao teor de fenólicos totais utilizando o método de Follin-Ciocalteu (GEORGÉ et al., 2005). Os extratos foram preparados pesando em balança analítica (Ohaus AdventurerTM AR2140) 0,5 g de cada amostra de polpa de fruto de açaí liofilizado em balão âmbar de 25 mL. O volume do foi completado com solução acetona/água 70:30 (Tedia PA HPLC/Spectro). As amostras foram homogeneizadas (Infors AG CH-4103 Bottmingen) por 30min e posteriormente filtradas em papel filtro quantitativo em ambiente escuro. Alíquotas de 5 mL do filtrado foram diluídas para 50 mL (extrato), para que a concentração de acetona na solução fosse de 7%. A curva analítica de ácido gálico (Sigma) foi elaborada com diferentes concentrações, para cálculo da concentração de fenólicos totais expresso mg ácido gálico.L⁻¹ (Figura 30).

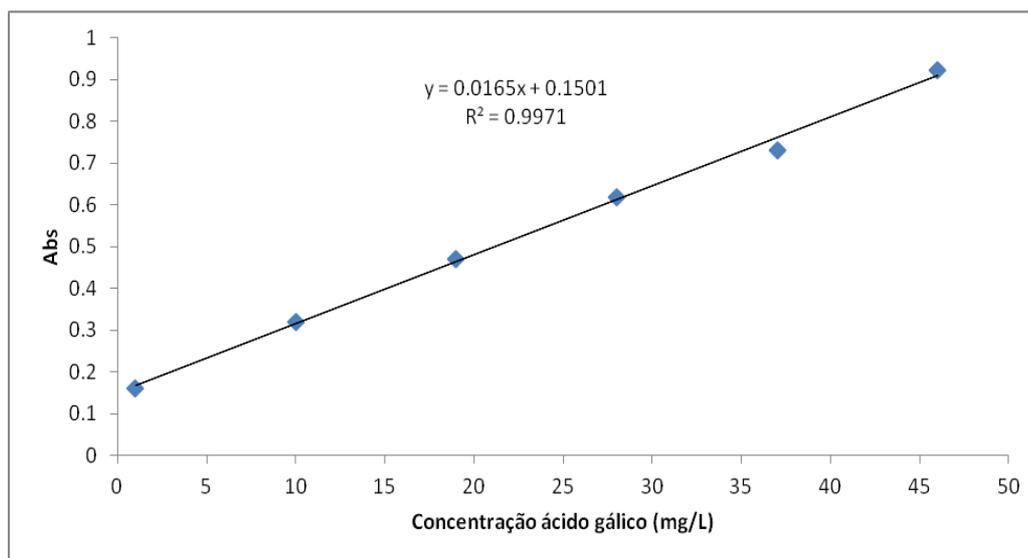


Figura 30. Curva analítica de ácido gálico ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

Desta equação da curva analítica foram obtidos os valores a e b , para composição da equação do cálculo do teor de fenólicos totais da amostra. Para avaliação da concentração de compostos fenólicos totais, alíquotas de $500\ \mu\text{L}$ do extrato de compostos fenólicos foram colocadas em dois tubos de ensaio para reação com $2,5\ \text{mL}$ de solução de Folin-Ciocalteu 10% (Spectrum) à temperatura ambiente por 2min. Em ambos os tubos, adicionou-se $2,0\ \text{mL}$ de solução de carbonato de sódio 7,5% (Vetec). Agitou-se a mistura em vórtex e os tubos foram colocados em banho-maria a $50\ ^\circ\text{C}$ por 15min e em banho de gelo por 30s. A leitura foi realizada em espectrofotômetro Specord 205-222A119 $760\ \text{nm}$ pelo programa WinASPECT.

Ao realizar a leitura da absorbância da amostra, o valor da concentração, já expresso em termos de ácido gálico ($\text{mg}\ \text{ácido}\ \text{gálico}\cdot\text{L}^{-1}$), é obtido a partir da seguinte relação:

$$\text{Concentração da amostra (mg ácido gálico}\cdot\text{L}^{-1}) = \frac{\text{Absorbância da amostra} - b}{a}$$

E gerando a seguinte fórmula a partir da equação da reta da curva analítica:

$$\text{Concentração da amostra (mg ácido gálico}\cdot\text{L}^{-1}) = \frac{\text{Absorbância da amostra} - 0,1501}{0,0165}$$

Para o cálculo do teor de Fenólicos Totais ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Fenólicos Totais (mg ácido gálico} \cdot 100\text{g}^{-1}) = [C \times (D/m)] \times 100 \quad \text{onde:}$$

C é a concentração de ácido gálico na solução de amostra ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) referente ao extrato;

D é a diluição da amostra, em litros, referente ao extrato;

m é a massa da amostra utilizada na extração, expressa em gramas;

FT é a quantidade de fenólicos totais expressa em mg de ácido gálico em 100 g de amostra.

4.7.2 Captura do radical livre ABTS \bullet^+ (TEAC)

Frutos de açaí liofilizados foram avaliados quanto à atividade antioxidante total pelo método da captura do radical ABTS \bullet^+ com obtenção dos extratos (RUFINO et al., 2007) e quantificação conforme Re et al. (1999). Os extratos foram obtidos a partir de 0,1 g (Ohaus AdventurerTM AR2140) de polpa de fruto de açaí liofilizado em tubo cônico de plástico 50 mL. Adicionou-se 10 mL solução metanol 50% (Tedia PA HPLC/Spectro) e homogeneizou-se em banho-ultrassom (Plus 3LD) em presença de gelo, durante 30min. Centrifugou-se a suspensão a 10.000 rpm (Hettich Zentrifugen, Rotina 38R) por 20min e coletou-se o sobrenadante em balão âmbar de 25 mL. Ao resíduo, foi adicionado 10 mL de solução acetona 70% (Tedia PA HPLC/Spectro) e homogeneizou-se em banho-ultrassom em presença de gelo, por 30min. Este resíduo foi novamente centrifugado e o sobrenadante transferido ao mesmo balão âmbar 25 mL, cujo volume foi completado com água destilada. Este extrato foi congelado e utilizado para análise em um período de até 15 dias. O radical ABTS \bullet^+ foi gerado quimicamente pela reação do radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolona-6-ácido sulfônico (ABTS) (Sigma) com a solução de persulfato de potássio $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 140 mM (Sigma-Aldrich) durante um período mínimo de 14 h para estabilização da solução (RE et al., 1999). Esta solução contendo o radical ABTS \bullet^+ foi diluída, aproximadamente 70 a 80 vezes, com etanol 95% até atingir absorvância de $0,700 \pm 0,020$ a 734 nm. Para elaboração da curva analítica de Trolox (μM) utilizaram-se as concentrações de 100,

500, 1.000, 1.500 e 2.000 μM de Trolox (Aldrich) em etanol 95% (Vetec, PA), sendo que o branco foi representado por etanol PA. Alíquotas de 30 μL de cada ponto da curva reagiram com 3,0 mL da solução $\text{ABTS}\bullet^+$ em ambiente escuro, durante 6min e à temperatura ambiente, em triplicata. As absorvâncias foram lidas a 734 nm, observando uma diminuição dos valores de absorvância pela restauração de parte do radical $\text{ABTS}\bullet^+$ pelo Trolox (Aldrich). Pela equação da curva analítica os valores a e b foram obtidos, os quais comporão a equação para cálculo da atividade antioxidante da amostra (Figura 31).

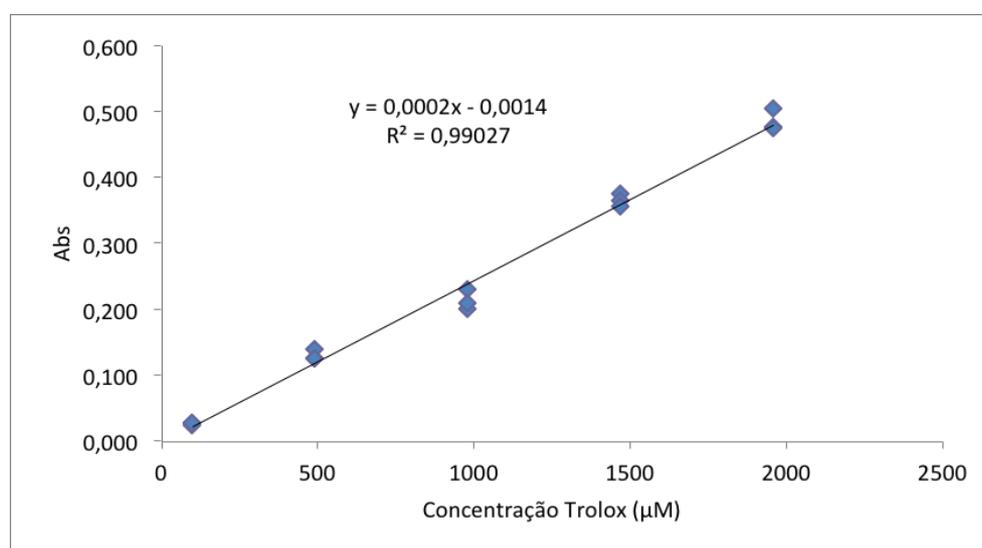


Figura 31. Curva analítica da concentração de Trolox (μM)

Os extratos também foram lidos espectrofotometricamente em triplicata após reação, na mesma proporção e condições utilizadas para a curva analítica, entre os compostos antioxidantes presentes no extrato e a solução contendo o radical $\text{ABTS}\bullet^+$

Para cálculo da atividade antioxidante dos extratos, utilizou-se a seguinte equação :

$$\text{Atividade antioxidante total} = \frac{\text{Abs}_{\text{branco}} - \text{Abs}_{\text{amostra}} - b}{a} \times \text{diluição, onde:}$$

Abs = absorvância lida a 734 nm

a e b = coeficientes da equação da reta da curva analítica

diluição da amostra = 0,025

m = massa da amostra (g)

4.7.3 Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio (ORAC)

Frutos de açaí liofilizados foram avaliados quanto à atividade antioxidante total pelo método do ORAC (capacidade antioxidante do radical oxigênio) conforme (ZULUETA; ESTEVE; FRÍGOLA, 2009). Este método mede o decréscimo da fluorescência de uma proteína (fluoresceína) ao perder sua conformação quando sofre um dano oxidativo causado pelo ataque de uma fonte de radicais azo (AAPH). Deste modo, este método mede a habilidade dos antioxidantes da amostra de proteger a proteína dos danos oxidativos.

Os extratos de polpas de açaí liofilizados foram os mesmos utilizados no método pela captura do radical livre $ABTS^{\bullet+}$ (item 4.7.2). Posteriormente os extratos foram diluídos (1:40) em solução tampão fosfato 75 mM pH 7,4 para que atingisse uma faixa de concentração de 20 a 120 $\mu\text{mol Trolox.L}^{-1}$. As amostras de extratos, brancos e pontos da curva analítica (80 μL) foram adicionadas em placas de fundo preto em poliestireno (Greiner) com 96 poços e analisadas em fluorímetro Infinite[®] Pro (Tecan), com comprimentos de onda de 485 nm para excitação de 535 nm para emissão. A curva de calibração foi elaborada utilizando a área sobre a curva (AUC) das soluções padrões de Trolox dentro da linearidade variando de 10 a 120 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ (Figura 32).

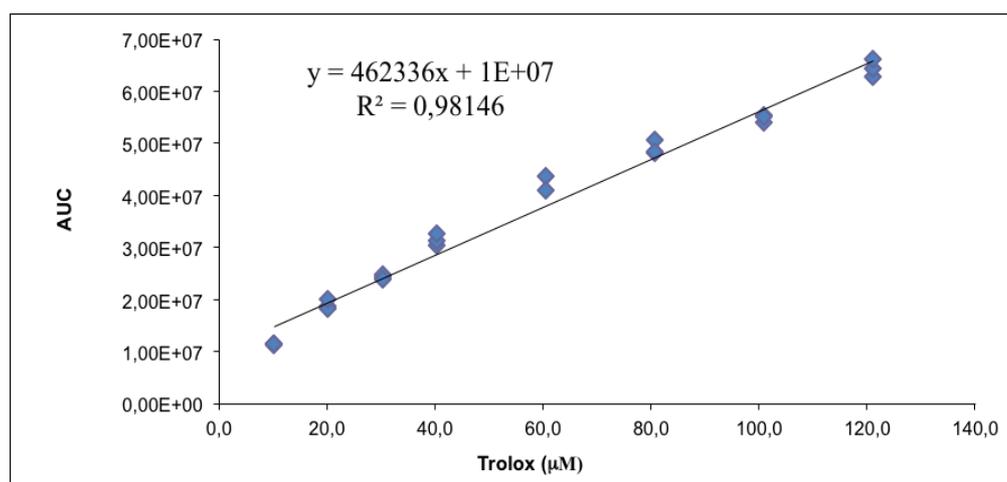


Figura 32. Curva analítica da concentração de Trolox (μM)

O fluorímetro foi programado para dispensar 80 μL de fluoresceína (Sigma-Aldrich) e 40 μL de AAPH (Aldrich) em cada poço da microplaca de cor preta com fundo sólido (PS_Fluotrac

200_96) contendo amostra, branco e pontos da curva, e realizar a leitura por 90 vezes com intervalos de 120 s. entre as leituras (em triplicata). Os dados de fluorescência lidos foram plotados em relação ao tempo e realizado o cálculo da área abaixo da curva (AUC) utilizando o programa Graph Pad Prisma 5.03. A atividade antioxidante das amostras, expressas em μM Trolox Equivalente ($\mu\text{M TE}$) foi calculada aplicando a seguinte fórmula:

$$\text{ORAC } (\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}) = \frac{[(\text{AUC}_{\text{amostra}} - \text{AUC}_{\text{branco}}) - b]}{\text{concentração da amostra}} \quad \text{onde:}$$

b é o valor onde a curva intercepta o eixo Y, coeficiente da equação da reta

a é o valor da inclinação da curva e, coeficiente da equação da reta

concentração da amostra é a massa em g em um litro de solução (g.L^{-1}).

4.8 Avaliação sensorial e da cor

4.8.1 Análise sensorial

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas (IEPA) (Macapá, AP, Brasil), sob CAAE 45107115.8.0000.0001 (Anexo 4).

Dois testes sensoriais foram realizados na Embrapa Amapá, cidade de Macapá (AP), com consumidores de açaí processado de forma semi-artesal.

4.8.1.1 Recrutamento de avaliadores

O recrutamento de avaliadores foi realizado utilizando funcionários e colaboradores da Embrapa Amapá de forma interna e externamente com estudantes e profissionais de organizações afins e localizadas no entorno (universidade, centro de pesquisa estadual) da Embrapa Amapá. Os convites foram realizados por meio de e-mail e telefone, contextualizando o projeto de tese

proposto e da necessidade do enquadramento ao perfil de consumidor frequente de açaí batido (população-alvo), para que não houvesse a probabilidade de avaliações mal interpretadas.

4.8.1.2 Apresentação da amostra

As amostras foram acondicionadas em copos plásticos descartáveis (tipo café) no volume de 50 mL com codificação impressa com números de 3 dígitos, de forma uniforme entre si.

4.8.1.3 Condução dos testes

Primeiramente, os indivíduos foram instruídos previamente sobre os métodos de avaliação a serem realizados, informando os procedimentos necessários, a conduta durante a avaliação, sanando as dúvidas, inclusive do preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Figura 33A) (Anexo 5) e da ficha de informações pessoais como idade, gênero e nível de escolaridade (Anexo 6).



Figura 33. Quadro de explicitação da análise sensorial (A) e condições do local dos testes (B)

Aos avaliadores foram disponibilizados água para enxágue da boca entre amostras e açúcar para adição à amostra-teste, pois estudos demonstram que até 80% dos consumidores tem o hábito de adoçar o açaí batido (Figura 33B) (ROBINSON; BERAU; FAHRASMANE, 2013).

4.8.1.4 Frutos sanitizados por tratamentos térmico e não-térmicos

No **primeiro teste sensorial**, tratamentos térmico por branqueamento dos frutos a 80 °C e a 90 °C por 10s, e não-térmico por ozonização aquosa a 4 mg.L⁻¹ foram comparados com o açaí batido vindo de frutos transformados da maneira tradicional nas processadoras semi-artesais (cloração a 150 mg.L⁻¹), conforme fluxograma (Figura 26).

No **segundo teste sensorial**, os frutos de açaí foram branqueamentos a 80 °C e a 90 °C por 10s conforme metodologia já descrita (item 4.6.1).

4.8.1.5 Processamento dos frutos em açaí batido

As amostras foram processadas pelo período da manhã no mesmo dia dos testes sensoriais, em açaí batido classificado tipo comum, com 8-11% de sólidos totais (BRASIL, 2000)

Os frutos dos respectivos tratamentos térmicos e não térmicos foram transportados a uma pequena processadora de frutos (Amassadeira Tropical Ltda.) na cidade de Macapá (AP) também denominada popularmente como “amassadeira” ou “batedeira” de reconhecida aplicação das Boas Práticas de Fabricação (BPF). Os frutos de cada tratamento de sanitização foram despulpados, separadamente, em açaí batido classificado tipo comum, com 8-11% de sólidos totais (BRASIL, 2000), por processador de aço inoxidável 304 com motor de ¼ de energia, HP-1750rpm e mantidos sob refrigeração. A quantidade de água filtrada necessária para o despulpamento dos frutos não está padronizada por legislação, então observou-se que para o açaí batido comum, utilizava-se em torno de 3-4 litros de água para processamento de 1 lata de açaí (medida regionalizada), que representa aproximadamente 11 kg frutos ou um volume de 18 L de frutos. Para fins de homogeneização de amostras, a quantidade de água utilizada para os frutos foi de 4 L de água para 1 lata de frutos de açaí colocada no processador (Figura 34). Após processamento os produtos foram embalados separadamente, fechados em seladora elétrica e transportados para o Laboratório de Alimentos da Embrapa Amapá, Macapá (AP) para análise sensorial e de cor.



Figura 34. Processamento dos frutos de açai em açai batido com aplicação das BPFs.

4.8.1.6 Teste de comparação múltipla

O teste de comparação múltipla foi realizado conforme metodologias propostas por Minim (2013) e Chaves (2013) com participação de 50 provadores. As amostras-teste foram compostas por açais batidos processados de frutos tratados termicamente por branqueamento a 80 °C por 10s, branqueamento a 90 °C por 10s e de frutos ozonizados a 4 mg.L⁻¹. A amostra-padrão, codificada como “P”, foi representada pelo açai batido vindo de frutos clorados (150 mg.L⁻¹ cloro) (controle) na forma tradicionalmente comercializada. Também se incluiu uma amostra-padrão entre as amostras-teste para avaliar o desempenho dos julgadores. Esta referida amostra-padrão e as demais amostras-teste foram codificadas com números aleatórios compostos de 3 dígitos, evitando erros de tendenciosidade e de caráter psicológico, que poderiam influenciar o julgamento dos indivíduos. As amostras foram apresentadas em blocos completos, simultaneamente, ou seja, o consumidor avaliou todas as amostras ao mesmo tempo e de forma balanceada, sendo que cada ordem possível ocorreu em um mesmo número de vezes durante as avaliações. A posição das amostras na bandeja apresentada aos avaliadores também foi desenhada de modo a não influenciar a percepção das características de sabores em perfis

sensoriais, evitando assim cometer erros como o de tendência central, que seria a escolha recorrente da amostra que se encontra no centro da bandeja ou o julgamento de uma amostra somente em relação à imediatamente anterior (MACFIE; BRATCHELL, 1989; MINIM, 2013) (Figura 35).



Figura 35. Amostras-teste de açaí batido codificadas e amostra-padrão apresentadas de forma de blocos completos balanceados no teste de comparação múltipla.

A ficha de avaliação foi elaborada para que a discriminação entre as amostras-teste fosse detectada pela magnitude da diferença de escala com a amostra-padrão. A escala utilizada foi a estruturada ou discreta indicando 9 categorias decrescentes (“muito melhor do que o padrão” para “muito pior do que o padrão”) (Anexo 7).

4.8.1.7 Teste de aceitação

A segunda etapa da análise sensorial foi realizada pelo método hedônico com a aplicação de teste de aceitação (CHAVES, 2013; MINIM, 2013) com participação de 68 consumidores, tendo como amostras-teste açaís batidos de frutos tratados termicamente por branqueamento a 80 °C e a 90 °C, por 10s. As amostras-teste foram codificadas com números aleatórios compostos de 3 dígitos, e apresentadas de forma monádica, ou seja, o avaliador avaliou separadamente as amostras-teste, de forma sequencial. As amostras foram apresentadas de forma balanceada, sendo que cada

ordem possível ocorreu em um mesmo número de vezes durante as avaliações (MACFIE; BRATCHELL, 1989; MINIM, 2013) (Figura 36).



Figura 36. Amostra-teste codificada e apresentada de forma monádica.

A ficha de avaliação (Anexo 8) continha os atributos a serem considerados durante a análise pelo consumidor: aparência, aroma, sabor e impressão global. Os atributos foram apresentados em escala hedônica não estruturada de 9 cm entre as âncoras esquerda “desgostei muitíssimo” (nota 1) e direita “gostei muitíssimo” (nota 9) (Anexo 5). Após as avaliações pelos avaliadores, os espaços marcados pelo consumidor na escala foram medidos (cm) e transformados em valores numéricos.

4.8.1.8 Intenção de compra

Concomitantemente e na mesma ficha de avaliação do teste de aceitação, também foi analisada a intenção de compra dos indivíduos participantes a estes dois produtos. Utilizou-se uma escala estruturada de cinco pontos ou categorias de forma decrescente (certamente iria comprar para, certamente não iria comprar) (Anexo 8).

4.8.2 Análise da cor

A cor do produto açaí batido após processamento dos frutos tratados termicamente ou não foi determinada utilizando colorímetro Konica Minolta Chroma Meter CR-400 (Japão) no sistema

CIELCh, com o iluminante D65 e observador ângulo 10 ° (Figura 37), com 7 leituras de cada amostra.



Figura 37. Leitura dos atributos de cor do açaí batido após tratamentos térmicos e não-térmicos por colorímetro no sistema CIELCh .

A diferença de cores (ΔE) dos açaís batidos vindo de frutos tratados por branqueamento a 80 °C, a 90 °C e ozonização aquosa (4 mg.L⁻¹) com o açaí batido de frutos clorados (150 mg.L⁻¹) (controle) foi determinada por ΔE^* calculado. ΔE^* foi utilizado para designar a distância no espaço de cor uniforme (BRAINARD; STOCKMAN, 2010), pela seguinte fórmula:

$$\Delta E_{ciE}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \text{onde:}$$

ΔE^* é a diferença entre as coordenadas correspondentes da amostra e do controle

ΔL^* é a diferença entre a coordenada L* da amostra e a coordenada L* do controle

Δa^* é a diferença entre a coordenada a* da amostra e a coordenada a* do controle

Δb^* é a diferença entre a coordenada b* da amostra e a coordenada b* do controle

4.9 Análise estatística

Os modelos experimentais foram inteiramente casualizados e todos os processos de todos os ensaios foram realizados em três repetições. Os dados foram analisados estatisticamente usando o

software Statistica (versão 8.0, StatSoft Inc., Tulsa, EUA) para a análise de variância (ANOVA).

Para os casos em que H_0 foi rejeitado, a comparação dos valores médios dos parâmetros foi realizada pelo teste de Tukey para determinar as diferenças entre as amostras, em cada sessão.

No caso dos ensaios sensoriais, a comparação dos valores médios dos parâmetros foi realizada pelo teste de Dunnett.

O nível de significância escolhido para todas as análises estatísticas foi de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Adequação e otimização da metodologia

5.1.1 Teste de modo de inoculação e aderência

O inóculo composto pela mistura de cepas de *Salmonella* spp. apresentou concentração variando de 4,0 a 6,2 log UFC.mL⁻¹ em meio XLD e 4,0 a 6,5 log UFC.mL⁻¹ no meio HE. Estes valores são considerados bastante satisfatórios, pois estudos de descontaminação requerem inóculos com um elevado número de células para permitir a medida de várias reduções de log (BEUCHAT et al., 2003). Após a aplicação dos inóculos e dos métodos de secagem dos frutos inoculados, observou-se que houve diferença significativa em relação ao número de células microbianas recuperadas em, pelo menos, um meio de cultura (Tabela 1).

Tabela 1. População de *Salmonella* spp. recuperada de frutos de açaí.

| Modo de inoculação | Modo de secagem | Temperatura °C | <i>Salmonella</i> spp. (UFC.mL ⁻¹) | |
|--------------------|-----------------|----------------|--|--------------------------|
| | | | XLD | HE |
| Gotejamento | fluxo laminar | Ambiente | 6,2 ± 0,2 a ¹ | 6,5 ± 0,4 a ¹ |
| Imersão | fluxo laminar | Ambiente | 5,5 ± 0,3 b | 5,7 ± 0,0 a |
| Gotejamento | estufa | 37 °C ± 0,5 | 4,6 ± 0,5 b | 4,9 ± 0,9 a |
| Imersão | estufa | 37 °C ± 0,5 | 4,0 ± 0,0 b | 4,0 ± 0,3 a |

¹Valores na mesma coluna com letras diferentes indicam que os valores são significativamente diferentes ($p > 0,05$).

O inóculo aplicado no fruto de açaí por gotejamento e posteriormente seco em ambiente de fluxo laminar propiciou uma maior recuperação da população inicial do inóculo de *Salmonella* spp. em meio XLD do que naqueles inoculados por imersão e na mesma condição de secagem, sendo também superior a ambos os tratamentos sob secagem em condições de estufa incubadora ($37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$), em meio XLD. Lang et al. (2004c) ao testarem vários métodos de inoculação em alface e salsa observaram também que o inóculo em gotas propiciou uma recuperação maior de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* do que por imersão ou por aspensão, devido ao maior controle alcançado sobre o volume de inóculo e conseqüentemente sobre o número de células aplicadas.

Ao utilizar como modo de secagem do inóculo o ambiente de estufa ($37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$) durante 24h (meio XLD), a recuperação do microrganismo não foi afetada de modo significativo pelos diferentes modos de aplicação do inóculo nos frutos de açaí.

Ao avaliar a recuperação das células em meio HE, não houve diferença significativa entre os tratamentos, que apresentaram a mesma contagem de *Salmonella* spp., pois o meio XLD pode ter exibido maior poder de recuperação para esta respectiva bactéria do que o meio HE, devido às diferenças de seletividades dos meios e as propriedades fisiológicas das cepas utilizadas (LEE et al., 2015). Outros fatores podem ter afetado a aderência e a sobrevivência de *Salmonella* spp. no fruto de açaí, como o alojamento de células microbianas na epiderme do fruto que previnem ou impedem a sua remoção completa (BURNETT e BEUCHAT, 2001).

Deste modo, observamos que a sobrevivência de *Salmonella* spp. em frutos de açaí inoculados artificialmente pode ser substancialmente afetada pelo método de inoculação e tipo de secagem aplicados. A aderência e a sobrevivência efetiva de *Salmonella* spp. em frutos de açaí foi alcançada pela aplicação do inóculo por meio de gotejamento na superfície do fruto e posterior secagem em ambiente de fluxo laminar, com melhor recuperação da população em meio XLD, que foi utilizado nos ensaios de descontaminação.

5.1.2 Teste de compatibilidade entre cepas

Os testes de inibição cruzada não detectaram zona de inibição de crescimento entre todas as cepas dos três microrganismos componentes dos ensaios. Assim, as misturas de estirpes que compõem os inoculantes respectivos de cada microrganismo não apresentaram qualquer problema de interação de estirpes (Figura 38), que pudesse interferir na análise de redução da população após a aplicação dos tratamentos de descontaminação.

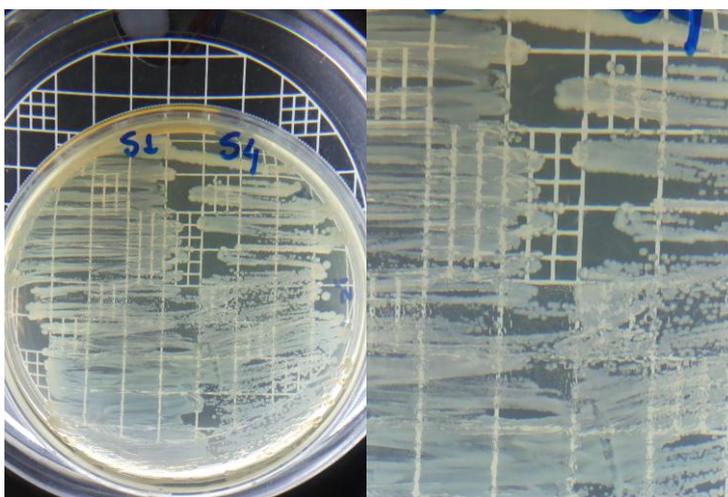


Figura 38. Teste de compatibilidade entre cepas de *Salmonella* spp. em TSA e detalhe da ausência de zona de inibição de crescimento.

5.1.3 Teste de temperatura na superfície do fruto

As leituras das temperaturas na superfície de frutos de açaí quando imersos em água aquecida a 80,2 °C (média) por 2s a 10s (Tabela 2) variaram de 77,8 °C (8 s) a 78,8 °C (4s), não alcançando a temperatura de 80 °C, conforme a legislação indica para a temperatura da água no período de 10s (PARÁ, 2012a).

Tabela 2. Temperaturas medidas na superfície dos frutos de açaí durante processamento térmico por branqueamento.

| Temperatura média água °C | Tempo | | | | |
|---------------------------|--|--------------|--------------|---------------|--------------|
| | 2s | 4s | 6s | 8s | 10s |
| 80,2 | 78,0 ¹ ± 0,0 b ² | 78,8 ± 0,3 a | 78,0 ± 0,0 b | 77,8 ± 0,3 b | 78,0 ± 0,3 b |
| 88,9 | 86,5 ± 1,0 a | 85,7 ± 0,3 a | 84,7 ± 0,3 b | 86,2 ± 0,8 a | 85,7 ± 0,3 a |
| 94,8 | 86,2 ± 1,3 ab | 83,7 ± 0,6 b | 84,2 ± 3,1 b | 84,8 ± 2,1 ab | 88,3 ± 1,4 a |

¹ Média de três repetições; ² Valores na mesma coluna com letras diferentes indicam que os valores são significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Quando a temperatura da água de branqueamento foi fixada em 90 °C no banho-maria, a temperatura média da água foi de 88,9 °C. Na superfície dos frutos a temperatura variou entre 84,7 °C (6s) a 86,5 °C (2s), ou seja, em todos os tempos avaliados, a temperatura de 80 °C no fruto foi alcançada (Tabela 2). Do mesmo modo, quando os frutos foram imersos em água aquecida a 100 °C, com temperatura média da água de 94,8 °C, em todos os períodos de tempo analisados observou-se temperaturas maiores que 80 °C, variando de 83,7 °C (4s) a 88,3 °C (10s) (Figura 39).

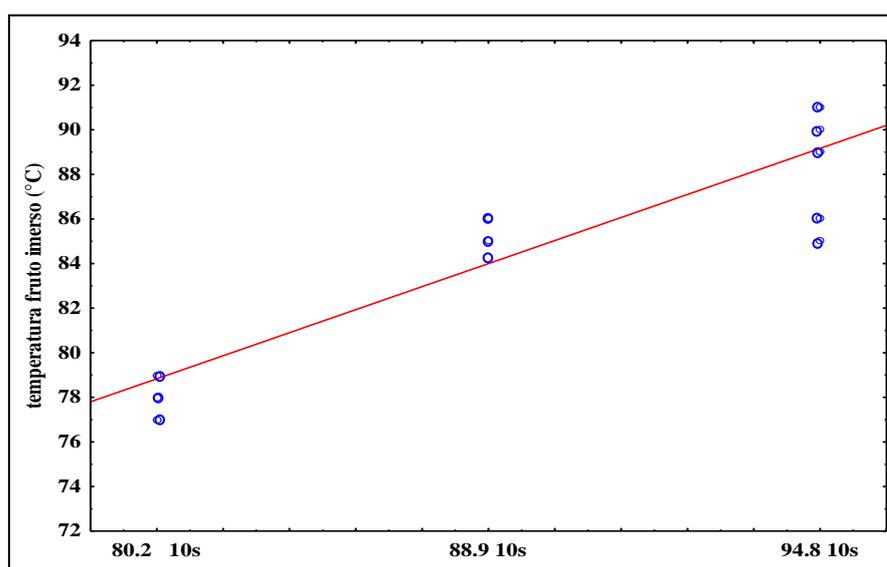


Figura 39. Ensaio de verificação de temperatura na superfície do fruto de açaí imerso em água quente a 80,2 °C, 88,9 °C e 94,8 °C

Deste modo, para se alcançar uma temperatura mínima de 80 °C no fruto, a mesma recomendada para a água de branqueamento por legislação regional, foi necessário que a água de branqueamento estivesse a 88,9 °C, o que também foi alcançado durante branqueamento do fruto com água aquecida a 94,8 °C. Neste caso, a temperatura da água de branqueamento do fruto a 90 °C foi determinada para compor o binômio tempo-temperatura, por período de 10s, nas avaliações.

5.2 Avaliações microbiológicas

5.2.1 Inóculo

No primeiro ensaio, as concentrações de inóculos alcançadas nos mistura de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* foram na ordem de 9,4 log UFC.mL⁻¹, e a de *Escherichia coli* alcançou média de 9,6 log UFC.mL⁻¹ (Tabela 3).

Tabela 3. Concentração da suspensão de inóculo e contagem dos microrganismos recuperados de frutos de açaí inoculados por gotejamento para ensaio #1 (tratamentos térmicos e não-térmicos) e ensaio #2 (branqueamento a 90 °C e resfriamento).

| Microrganismos-teste | Inóculo (log UFC.mL ⁻¹) | | Recuperação em frutos de açaí (log UFC.mL ⁻¹) | |
|-------------------------------|--|-----------|--|-----------|
| | Ensaio #1 | Ensaio #2 | Ensaio #1 | Ensaio #2 |
| | <i>Salmonella</i> spp. | 9,4 | 9,3 | 8,2 |
| <i>Escherichia coli</i> | 9,6 | 9,3 | 8,2 | 7,7 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 9,4 | - | 7,9 | - |

^a média de três repetições.

Após a aplicação do inóculo contendo os microrganismos por gotejamento (1,0 mL) na superfície dos frutos e posterior secagem, a recuperação foi em torno de 8,2 log UFC.mL⁻¹ para *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, e de 7,9 log UFC.mL⁻¹ para *Listeria monocytogenes*.

No segundo ensaio, as concentrações dos inóculos de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* foram na ordem de $9,3 \text{ UFC.mL}^{-1}$, sendo recuperados cerca de $7,2 \text{ UFC.mL}^{-1}$ e $7,7 \text{ UFC.mL}^{-1}$, respectivamente, após gotejamento na superfície dos frutos de açaí (Tabela 3).

Os valores recuperados estão dentro da faixa compreendida de $4,1 \times 10^4$ a $1,5 \times 10^9 \text{ UFC.mL}^{-1}$ de bactérias mesófilas relatadas para o produto açaí batido comercializado nas cidades amazônicas (ROGEZ et al., 2012). Por outro lado, os valores recuperados após inoculação foram um pouco menores ao número de bactérias mesófilas encontradas naturalmente em frutos de açaí durante o período de entressafra ($9,1$ a $9,5 \text{ log UFC.g}^{-1} \text{ MS}$), mas superiores aos frutos colhidos no período de safra ($6,6 \text{ log UFC.g}^{-1} \text{ MS}$) (ROGEZ et al., 1996). Isso pode indicar que a recuperação da contaminação bacteriana foi similar àquela observada naturalmente em frutos de açaí por todo o período de safra e entressafra.

A recuperação dos microrganismos inoculados pela metodologia proposta foi satisfatória quando comparada aos encontrados por Alexandre et al. (2011) ao inocularem *Listeria innocua* na superfície de pimentões vermelhos por gotejamento ($250 \mu\text{L}$) por um período de contato de 15min, observando uma recuperação de $\sim 7 \text{ log UFC.g}^{-1}$. Também foram semelhantes aos inóculos de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* ($9,2 \text{ log CFU.mL}^{-1}$) gotejados em tomates inteiros e cebolas, apresentando maiores valores de recuperação do que nestas matrizes ($6,7 \text{ log CFU.g}^{-1}$) (LONG III et al., 2011).

5.2.2 Frutos sanitizados por tratamentos térmico e não-térmicos

Ao observarmos todos os ensaios realizados (Tabela 4), o tratamento dos frutos por branqueamento a 90°C por 10s apresentou a maior eficácia na redução microbiana e foi superior em relação a, pelo menos, um outro tratamento aplicado. Ao contaminar os frutos de açaí com cepas de *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*, o tratamento térmico a 90°C 10s levou a reduções da população patogênica ($3,0 \pm 0,8 \text{ log UFC.mL}^{-1}$ e $2,9 \pm 0,4 \text{ log UFC.mL}^{-1}$, respectivamente) superiores a todos os demais tratamentos. No entanto, no ensaio onde frutos de

açai foram inoculados com *Salmonella* spp., o branqueamento a 90 °C 10s ($2,6 \pm 0,8$ log UFC.mL⁻¹) foi o único tratamento em que se obteve somente uma redução de células superior à simples lavagem dos frutos com água destilada (controle) ($0,8 \pm 0,7$ log UFC.mL⁻¹).

Tabela 4. Reduções logarítmicas (log UFC.mL⁻¹) relativas a tratamentos térmicos e não térmicos de frutos de açai inoculados com microrganismos

| Tratamentos | <i>E. coli</i> ¹ | <i>L. monocytogenes</i> ¹ | <i>Salmonella</i> spp. ¹ |
|--|------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| | $p = 0,00009$ | $p = 0,00003$ | $p = 0,04012$ |
| Branqueamento 90 °C 10s | $3,0 \pm 0,8$ a ² | $2,9 \pm 0,4$ a | $2,6 \pm 0,8$ a |
| Branqueamento 80 °C 10s | $1,1 \pm 0,6$ b | $1,6 \pm 0,4$ b | $2,0 \pm 0,2$ ab |
| Cloração (200 mg.L ⁻¹) 15min | $0,9 \pm 0,1$ b | $0,8 \pm 0,1$ c | $1,5 \pm 0,3$ ab |
| Ozonização aquosa (4 mg.L ⁻¹) 5min | $0,6 \pm 0,1$ b | $1,0 \pm 0,2$ c | $1,6 \pm 0,1$ ab |
| Água destilada 15min (controle) | $0,5 \pm 0,2$ b | $0,6 \pm 0,3$ c | $0,8 \pm 0,7$ b |

¹ Média de três repetições; ² Valores na mesma coluna com letras diferentes indicam que os valores são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

No ensaio de inoculação com *Listeria monocytogenes*, os tratamentos térmicos dos frutos por branqueamento a 90 °C 10s ($2,9 \pm 0,4$ log UFC.mL⁻¹) e a 80 °C por 10s ($1,6 \pm 0,4$ log UFC.mL⁻¹) apresentaram maiores reduções em relação aos tratamentos não térmicos. Na presença de *Salmonella* spp. e de *Escherichia coli*, a aplicação de branqueamento nos frutos a 80 °C 10s apresentou a mesma eficácia nas reduções microbianas em relação à lavagem com água ozonizada a 4 mg.L⁻¹ por 5min, à lavagem com água clorada 200 mg.L⁻¹ por 15min e da simples lavagem com água destilada (controle).

Elevando a temperatura de branqueamento dos frutos de 80 °C para 90 °C (Tabela 4) observamos reduções microbiológicas nas populações de *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* significativamente maiores. Estas diferenças na redução da concentração dos microrganismos entre as duas temperaturas apresentam-se maiores do que o aumento teórico esperado da razão letal (L) em 10 vezes (GAZE, 2006). Em estudo anterior com temperaturas de branqueamento em

frutos de açaí em períodos de 10s variando de 80 °C, 90 °C e 100 °C foram observadas discretas reduções logarítmicas, não significativas (ROGEZ et al., 1996). Sung et al. (2014) observaram reduções crescentes na contagem de *Escherichia coli* O157:H7 e *Salmonella* Typhimurium em suco de maçã quando tratados termicamente em temperaturas também crescentes (25 °C, 45 °C, 50 °C e 55 °C) por 1min.

A **cloração** dos frutos de açaí na concentração de 200 mg.L⁻¹ 15min não obteve bom desempenho nas reduções microbianas para todos os microrganismos avaliados, variando de 0,9 log UFC.ml⁻¹ a 1,5 log UFC.ml⁻¹, assemelhando-se estatisticamente ao tratamento controle com água destilada (Tabela 4). As reduções das cargas microbianas de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* quando lavadas com água clorada (200 mg.L⁻¹) foram similares àquelas encontradas em tomates tratados nas mesmas concentrações de cloro por 5min (1,10 log UFC.mL⁻¹) (LANG; HARRIS; BEUCHAT, 2004). A diversidade de resultados encontrados na literatura sobre a eficácia da cloração para sanitização de legumes e frutas podem ser explicados pela estreita relação com fatores tais como a concentração de cloro aplicado, o pH e o tempo de imersão. Alguns autores ratificaram a redução microbiana típica de < 2 log para sanitização por cloro (GOODBURN; WALLACE, 2013; RUIZ-CRUZ et al., 2007), mas dependendo do microrganismo-teste estar combinado com aqueles fatores já mencionados, as reduções podem alcançar de < 1 a 3,2 log CFU.g⁻¹ (RAMOS et al., 2013). A presença de matéria orgânica em águas recicladas, resfriamento insuficiente, exposição à luz ou ao ar, ou mesmo a combinação destes três fatores também podem levar à redução de eficácia do tratamento de cloração (RUIZ-CRUZ et al., 2007). A **ozonização** aquosa à concentração de 4 mg.mL⁻¹ O₃ por 5min apresentou reduções microbianas variando de 0,6 log UFC.mL⁻¹ a 1,6 log UFC.mL⁻¹, estas diferenças não foram significativas em relação à sanitização pela cloração dos frutos (200 mg.L⁻¹) ou à lavagem em água destilada, para todos os microrganismos estudados (Tabela 4). Quando os frutos foram inoculados com *Escherichia coli*, a ozonização aquosa apresentou desempenho diferenciado na redução da carga

microbiana apenas do tratamento por branqueamento a 90 °C. Quando houve a inoculação dos frutos com *Listeria monocytogenes*, a ozonização aquosa apresentou desempenho significativamente menor em relação aos tratamentos térmicos por branqueamento (a 80 °C e a 90 °C), sendo equivalente às lavagens em água clorada a 200 mg.mL⁻¹ ou em água destilada (Tabela 4). Já na presença de *Salmonella* spp., a redução da carga microbiana do tratamento por ozonização aquosa foi semelhante a todos os demais. Frutos de mirtilos inoculados e ozonizados com água a 3,7 mg.L⁻¹O₃ por 8min apresentaram reduções na população de *Escherichia coli* O157:H7 em torno de 1,5 ± 0,1 log CFU.g⁻¹ e de *Salmonella* spp. 2,4 ± 0,7 log UFC.g⁻¹ (BIALKA; DEMIRCI, 2007). Pimentões verdes pré-cortados e lavados em água ozonizada em concentrações de 3,85 a 3,95 mg.L⁻¹ O₃ apresentaram reduções de 0,7 log CFU.g⁻¹ (KETTERINGHAM et al., 2006). Enquanto que cogumelos enoki tratados em água ozonizada até 3 mg.L⁻¹ O₃ obtiveram reduções menores que 1,0 CFU.g⁻¹ e 0,5 log CFU.g⁻¹ na contagem de *Escherichia coli* O157:H7 e *Listeria monocytogenes*, respectivamente (YUK et al., 2007). Estes resultados divergentes para a eficácia do efeito da ozonização em microrganismos inoculados artificialmente, podendo ser explicado por vários motivos, i) diferenças das matrizes vegetais estudadas, ii) o potencial genético dos microrganismos utilizados e o estado fisiológico das células microbianas utilizadas, iii) e o método de geração do ozônio (ÖLMEZ; AKBAS, 2009). Aliado a estes fatores, Alexandre et al. (2011) também relacionaram a dependência da eficácia da ozonização aquosa na sanitização em frutas e hortaliças pelo efeito combinado entre o microrganismo e o alimento estudado. Estes autores relatam ainda um aumento significativo da eficácia no controle microbiológico em relação à lavagem simples com água, quando aumentava a concentração de ozônio na água de lavagem. Também se deve levar em consideração que a reduzida eficácia deste tratamento pode ser explicada pela preferência do composto à matéria orgânica em relação à bactéria. Ferimentos e lesões na superfície de alimentos promovem a lixiviação de material orgânico e o ozônio pode reagir com estas substâncias antes de atuar nas

bactérias presentes na superfície deste mesmo alimento (ALEXANDRE et al., 2011; KETTERINGHAM et al., 2006; KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001; RESTAINO; FRAMPTON; HEMPHILL, 1995). Neste sentido, se tem reportado que o tratamento com ozônio é mais eficaz quando os microrganismos a serem neutralizados estão suspensos na água pura ou em soluções-tampão, que contém menos materiais demandantes de ozônio do que no complexo sistema do alimento formado por diversos compostos orgânicos (CHO; CHUNG; YOON, 2003; SUNG et al., 2014) tais como açúcares, substâncias pécicas e antioxidantes (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999). Compostos antioxidantes como polifenóis, ácidos fenólicos e flavonoides, também presentes no açaí em altas concentrações, são substâncias que reagem com o ozônio e que influenciam em reações de quelação em sucos, como no caso do suco de maçã (LIAO et al., 2007). A simples presença do ozônio em tratamentos sanitizantes geralmente leva a uma redução microbiana de 0,5 a 1,0 ciclos-log (ALEXANDRE et al., 2011), e por isso pode ser considerado um processo adequado para frutas e legumes que apresentem baixa contaminação de patógenos. Também pode ser uma alternativa para tratamentos térmicos com temperaturas brandas, como no nosso caso, onde o branqueamento dos frutos a 80 °C apresentou a mesma eficácia na descontaminação de açaí inoculado com *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. (Tabela 4).

O tratamento controle do ensaio, representado pela lavagem com **água destilada** por 15min, apresentou reduções de 0,5 log UFC.mL⁻¹ para *Escherichia coli*, 0,6 log UFC.mL⁻¹ para *Listeria monocytogenes* e 0,8 log UFC.mL⁻¹ para *Salmonella* spp. semelhantes aos encontrados em cenouras minimamente processadas com valores < 0,5 log UFC.g⁻¹. Esta redução logarítmica observada em frutos de açaí após lavagem com água demonstra sua insuficiência na descontaminação e sanitização de frutos de açaí que apresentam uma alta carga microbiana natural, assim como em frutos e legumes minimamente processados (RUIZ-CRUZ et al., 2007).

A reduzida eficácia na redução do número de células microbianas observadas em ensaios envolvendo tratamentos térmicos e não-térmicos aplicados a frutos de açaí também pode ser

devido ao fenômeno de infiltração microbiana que ocorre em direção às camadas mais internas do fruto. Microrganismos patogênicos humanos apresentam esta habilidade de se infiltrar no fruto através de lesões e fissuras na cutícula e tecidos epidérmicos, impedindo deste modo, a ação dos sanitizantes aplicados na superfície do fruto (BEUCHAT, 2004). O fruto de açaí apresenta uma estrutura onde um epicarpo pulposo, que mede cerca de 1 mm de espessura, envolve o endocarpo e a semente caracteristicamente volumosos e duros, e um abundante endosperma marmorizado (OLIVEIRA; FARIAS NETO; PENA, 2007), conforme ilustrado na Figura 2. Esta fina polpa representa apenas 5-15% do volume total do fruto (ROGEZ, 2000), sendo muito frágil e que pode ser lesionada pela simples fricção, permitindo que os patógenos penetrem durante as atividades de colheita, transporte e processamento. O processo de infiltração em frutos e outros vegetais é dependente de fatores como temperatura, tempo e a pressão atmosférica. Este fenômeno é promovido quando a pressão da água na superfície do vegetal torna-se maior que a pressão interna dos tecidos, havendo um fluxo do patógeno para o interior da matriz alimentar. Os patógenos podem estabelecer colônias internas e que são extremamente difíceis de serem alcançadas por soluções químicas aquosas (BEUCHAT, 2004), como foi observado em estudos de infiltrações realizados em tomates (GUO et al., 2001) e maçãs (KENNEY; BEUCHAT, 2002) envolvendo *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, reportando a reduzida eficácia dos tratamentos sanitizantes. A deformação da superfície do alimento ocasionada por estes tratamentos sanitizantes também podem afetar a habilidade de adesão e até mesmo da resistência do microrganismo patogênico presente nesta superfície, pois facilitam o aprisionamento destas células microbianas em locais mais internos, dificultando sua eliminação (CHIEWCHAN; PRAPHRAIPHETCH; DEVAHASTIN, 2010).

5.2.3 Frutos sanitizados combinando branqueamento a 90 °C e resfriamentos

O resfriamento dos frutos com água após tratamento térmico pode representar uma fonte de recontaminação microbiológica (VAN HAUTE et al., 2015), principalmente se a água utilizada

não for de fonte confiável, podendo colocar em risco a saúde dos consumidores. Adicionalmente durante o processo de resfriamento, os microrganismos patogênicos podem se infiltrar no fruto, promovido pela diferença de pressão (BEUCHAT; MANN, 2010), dificultando a descontaminação pela sanitização.

O resfriamento com águas cloradas a 50 mg.L⁻¹ e a 200 mg.L⁻¹, após o branqueamento dos frutos, apresentou maiores reduções de *Salmonella* spp., mas não houve diferença com o resfriamento com água potável (controle) (Tabela 5).

Tabela 5. Redução logarítmica de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* inoculados em frutos de açaí tratados termicamente (90 °C) e resfriados em diferentes fontes de água por 2min.

| Resfriamento | <i>Salmonella</i> spp. <i>p</i> = 0,000000 | <i>Escherichia coli</i> <i>p</i> = 0,096659 |
|--|---|--|
| Cloração (200 mg.L ⁻¹) | 4,09 ± 0,27 a ¹ | 2,10 ± 0,37 a |
| Cloração (50 mg.L ⁻¹) | 3,44 ± 0,65 a | 2,31 ± 0,42 a |
| Água (controle) | 3,34 ± 0,63 a | 1,93 ± 0,08 a |
| Ozonização aquosa (5 mg.L ⁻¹) | 2,24 ± 0,46 b | 2,31 ± 0,22 a |
| Ozonização aquosa (4 mg.L ⁻¹) 5min | 1,4 ± 0,27 b | 2,57 ± 0,18 a |

¹ Valores na mesma coluna com letras diferentes indicam que os valores são significativamente diferentes (*p* <0,05).

As diferentes concentrações de ozônio (4 e 5 mg.L⁻¹) das águas de resfriamento alcançaram menores desempenhos e não houve diferença significativa na redução logarítmica de *Salmonella* spp.

O tratamento térmico por branqueamento a 90 °C combinado a resfriamento com água previamente sanitizada resultou em aumento dos valores médios da redução logarítmica na população de *Salmonella* spp. em relação ao branqueamento a 90 °C seguido de resfriamento com água destilada no primeiro ensaio, com exceção para a combinação de branqueamento e ozonização (Tabela 5 e Figura 40).

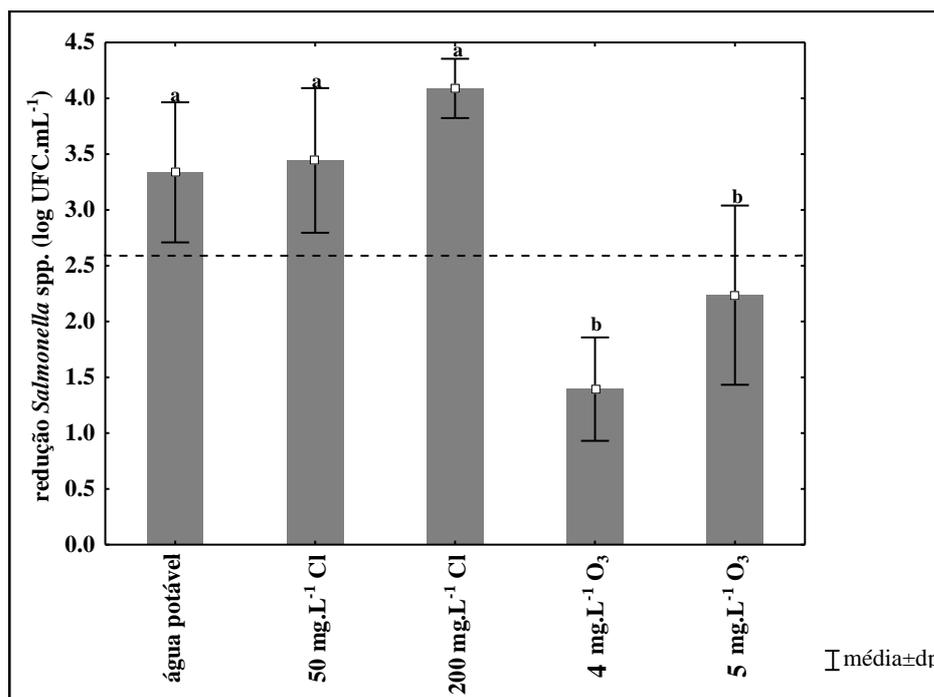


Figura 40. Comparação da redução logarítmica alcançada em frutos de açai inoculados com *Salmonella* spp., branqueados a 90 °C e resfriados em diferentes fontes de águas com a redução logarítmica por branqueamento a 90 °C e resfriamento com água destilada (ensaio #1) (linha pontilhada).

Em relação aos frutos de açai inoculados com *Escherichia coli* e tratados termicamente a 90 °C, os diferentes tipos de resfriamento utilizados não demonstraram diferença significativa na redução da população inicial (Figura 41). Pode-se observar também que as reduções da população de *Escherichia coli* observadas nas combinações de tratamentos foram menores do que os encontrados quando os frutos inoculados foram branqueados a 90 °C e resfriados em água destilada (controle) no ensaio #1.

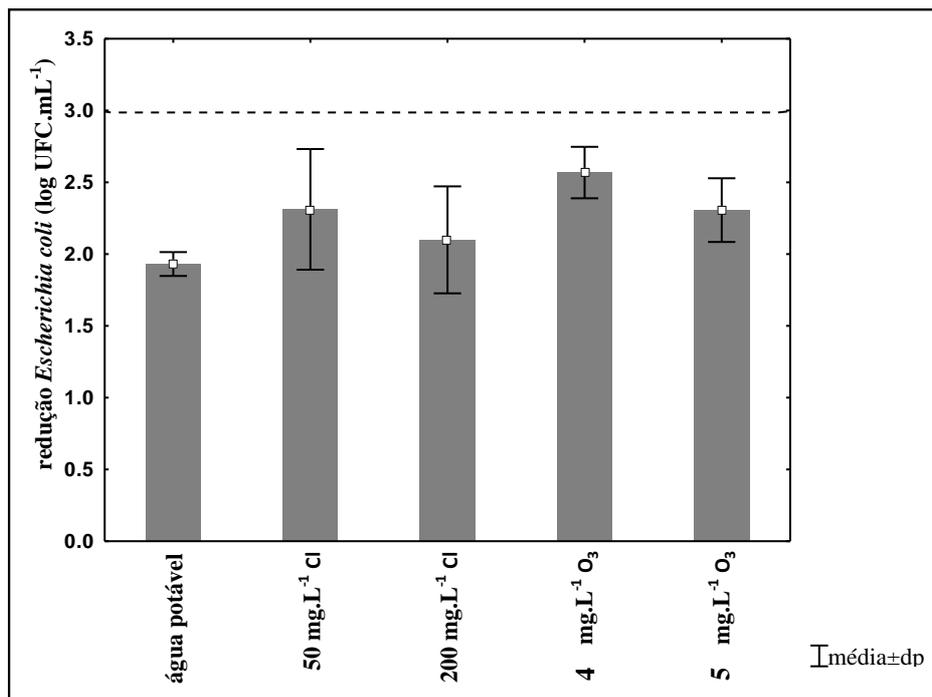


Figura 41. Comparação da redução logarítmica alcançada em frutos de açai inoculados com *E. coli*, branqueados a 90 °C e resfriados em diferentes fontes de águas com a redução logarítmica por branqueamento a 90 °C e resfriamento com água destilada (ensaio #1) (linha pontilhada).

Tecnologias combinadas também conhecidas como tecnologias de obstáculos tem sido utilizadas para aumentar a redução logarítmica (sinergia) (GOODBURN; WALLACE, 2013) e assegurar a qualidade microbiológica dos alimentos. Mas alguns resultados destas combinações podem não fornecer a mesma redução logarítmica quando os tratamentos são aplicados individualmente (efeito antagônico) e conseqüentemente o efeito obstáculo não será observado (ALEXANDRE et al., 2011). A combinação do tratamento de branqueamento a 90 °C com posterior resfriamento em água clorada resultou em um efeito sinérgico na redução logarítmica de *Salmonella* spp., pois os valores foram superiores a aqueles observados quando os frutos foram branqueados e resfriados em água destilada, separadamente, no primeiro ensaio (Figura 40). Por outro lado, o resfriamento com água ozonizada, nas duas concentrações estudadas, não apresentou efeito positivo na redução de *Salmonella* spp. e pode até mesmo ser considerado um efeito antagônico

pois os valores de redução foram abaixo da média para branqueamento a 90 °C com resfriamento em água destilada (Figura 40). Sung et al. (2014) observaram um efeito sinérgico ao combinar tratamento térmico em temperaturas brandas entre 25 a 50 °C e ozonização gasosa em sucos de maçã, pois as reduções logarítmicas das populações de *Salmonella* Typhimurium e de *Escherichia coli* O157:H7 inoculadas foram maiores do que as reduções observadas quando o suco foi tratado apenas termicamente. Alexandre et al. (2011) relataram que a combinação de branqueamento e ozônio não resultou em efeito sinérgico ao inocular *L. innocua* em pimentões vermelhos, morangos e agrião, e em algumas situações as reduções microbianas foram menores do que as observadas quando os tratamentos foram aplicados independentemente.

A ação indiscriminada do ozônio à bactéria e à matéria orgânica pode ser um dos motivos para a reduzida eficácia dos tratamentos ozonizados em ambos os ensaios quando comparados às lavagens com água (GOODBURN; WALLACE, 2013). Alguns estudos demonstram que ozônio foi significativamente eficaz na redução de microrganismos presentes na água de lavagem, mas teve um impacto limitado sobre as bactérias aderidas nas superfícies dos alimentos (LONG III et al., 2011). A combinação de branqueamento em temperaturas mais altas (90 °C) e ozonização em frutos de açaí também não demonstrou eficácia na redução de populações de microrganismos estudados. Já em temperaturas menos severas de branqueamento houve um efeito sinérgico com ozonização para *Escherichia coli*, *Salmonella* Thyphimurium e *Listeria monocytogenes* em suco de maçã (SUNG et al., 2014). Desta forma, efeitos sinérgicos e antagônicos podem ser observados em situações de sanitização com ozonização aquosa combinada com tratamentos térmicos por branqueamento, em condições diversas, dependendo da concentração de ozônio aplicado, da temperatura de branqueamento, da matriz alimentar e da relação microrganismo/alimento.

5.3 Composição

5.3.1 Umidade

Polpas de frutos liofilizados após aplicação dos tratamentos térmicos e não térmicos apresentaram teores de umidade variando de $3,99\% \pm 0,12$ até $6,97\% \pm 0,19$ (Tabela 6). Em polpa e casca de açaí foram relatados valores de 3,4% (SCHAUSS, 2010; SCHAUSS et al., 2006a), e em suco de açaí liofilizado 1,55% (PAVAN; SCHMIDT; FENG, 2012).

Tabela 6. Valores de umidade (%), pH e acidez total titulável (% ácido cítrico) em polpas de frutos de açaí liofilizados após tratamentos térmicos e não-térmicos.

| Tratamentos | Umidade (%) | pH | Acidez Total Titulável (% ac.cítrico) |
|--|-----------------|-----------------|--|
| Cloração (150 mg.L^{-1}) 15min | $6,74 \pm 0,18$ | $5,31 \pm 0,02$ | $0,49 \pm 0,04$ |
| Branqueamento $80 \text{ }^\circ\text{C}$ 10s | $6,97 \pm 0,19$ | $5,35 \pm 0,03$ | $0,55 \pm 0,05$ |
| Branqueamento $90 \text{ }^\circ\text{C}$ 10s | $6,52 \pm 0,25$ | $5,47 \pm 0,03$ | $0,54 \pm 0,01$ |
| Ozonização aquosa (4 mg.L^{-1}) 5min | $3,99 \pm 0,12$ | $5,49 \pm 0,01$ | $0,57 \pm 0,02$ |

5.3.2 pH

Os frutos liofilizados de açaí após tratamentos térmicos e não-térmicos apresentaram pequena variação dos valores de pH de suas polpas integrais, entre 5,31 a 5,49 (Tabela 6). Em estudos com polpa de açaí, o pH encontrado foi 5,2 (ALEXANDRE; CUNHA; HUBINGER, 2004), em açaí batido de frutos de palmeiras plantadas em condições diversas, o pH também foi de $5,23 \pm 0,27$ (ROGEZ, 2000), enquanto que em sucos comercializados o pH foi de 5,40 (SOUSA et al., 2006). As variações encontradas em valores de pH em açais batidos podem ser atribuídas tanto ao período da safra do fruto, assim como nas condições de cultivo (ROGEZ, 2000). Os valores de pH das polpas de frutos liofilizados de todos os tratamentos encontraram-se dentro da faixa

estipulada pelos Padrões de Identidade e Qualidade Mínima para Polpa de Açaí (BRASIL, 2000) com variação de 4,00 a 6,20 para açaí batido com água e processado nos tipos grosso, médio e fino. Sendo que a faixa de pH das polpas de frutos liofilizados os enquadra na classificação de alimentos de baixa acidez ($\text{pH} > 4,5$) considerados mais sujeitos à multiplicação de microrganismos patogênicos e deteriorantes (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

5.3.3 Acidez total titulável

A acidez total titulável das amostras apresentou valores que ficaram compreendidos entre 0,49% a 0,57% ácido cítrico (Tabela 6). Em suco de açaí foi quantificado 0,40% a 0,45% ácido cítrico (PAVAN; SCHMIDT; FENG, 2012), enquanto que em polpa integral (sem adição de água) comercial alcançou 0,19% a 0,32 % ácido cítrico (FREGONESE et al., 2010) e em polpa tipo C 0,27% ácido cítrico (PAULA, 2007).

5.3.4 Proteína bruta total

Os teores de proteína bruta total dos frutos liofilizados do ensaio variaram de 5,09% a 5,60% (Tabela 7).

Tabela 7. Valores de proteína bruta total (%), lipídeos totais (%) e cinzas (%) de polpas de frutos de açaí liofilizados após tratamentos térmicos e não-térmicos.

| Tratamentos | Proteína bruta total (%) | Lipídeos totais (%) | Cinzas (%) |
|--|-----------------------------|------------------------|---------------|
| Cloração (150 mg.L ⁻¹) 15min | 5,53 ± 0,13 | 19,12 ± 0,47 | 1,872 ± 0,033 |
| Branqueamento 80 °C 10s | 5,60 ± 0,32 | 20,51 ± 2,17 | 1,932 ± 0,027 |
| Branqueamento 90 °C 10s | 5,20 ± 0,15 | 19,70 ± 1,01 | 2,057 ± 0,044 |
| Ozonização aquosa (4 mg.L ⁻¹) 5min | 5,09 ± 0,32 | 20,52 ± 0,40 | 2,165 ± 0,044 |

Fregonese et al. (2010) ao analisarem diferentes tipos de polpas de açaí encontraram teores de proteínas entre 6,21% a 9,98% para polpa integral; 8,01% a 10,67% para açaí tipo B e 8,81% a 8,89% para açaí tipo C, enquanto que Rufino et al. (2011) quantificaram cerca de $6,27\% \pm 0,31$ na polpa do fruto da cultivar BRS-Pará. Conforme a legislação para polpa de açaí (BRASIL, 2000), o valor mínimo estabelecido para teor de proteína é de 5% para polpas de açaí (integral) e de 6% para açaí tipo B e tipo C. Neste caso, as polpas dos frutos tratados e liofilizadas estavam dentro dos requisitos para proteínas em polpas integrais.

5.3.5 Lipídeos totais

Os teores de lipídeos totais nos frutos dos diferentes tratamentos variaram de 19,70% a 20,52 % (Tabela 7). Estes valores estão próximos ao mínimo teor de lipídeos padronizados para polpas de açaí que varia de 20% a 60% (BRASIL, 2000), sendo que Rufino et al. (2011) encontraram teores de $20,82\% \pm 1,60$ ao avaliar a cultivar de açaí BRS-Pará. Uma grande variação foi observada nos teores de lipídeos totais em açaí na literatura. Em polpa de açaí integral quantificou-se 24,75% a 85,38% de lipídeos totais, assim como para polpas tipo B (27,47% a 58,54%) e tipo C (35,19% a 56,60%) (FREGONESE et al., 2010). Teores de lipídeos de 4,6% (CANUTO et al., 2010) a 6,7% (PAULA, 2007) foram reportados para polpa de açaí, estando de acordo com a faixa de valores encontrados por Yuyama et al. (2002) (1,5% a 6,9%) citados por Paula (2007) em polpas de diferentes origens. O conteúdo de lipídeos em fruto de açaí também foi correlacionado ao seu estágio de maturação, podendo aumentar significativamente ao alcançar o processo de maturação final, e conseqüentemente levando a alterações no flavor e textura (GORDON et al., 2012). O tipo de amostra a ser avaliada também foi relatada como fator de variação, pois os lipídeos presentes em polpa de açaí liofilizada se encontram em estado líquido à temperatura ambiente, dando mais mobilidade para participar de reações de degradação, como a oxidação lipídica (PAVAN; SCHMIDT; FENG, 2012).

5.3.6 Cinzas

Os teores do resíduo fixo mineral (cinzas) das polpas de frutos liofilizados variaram de $1,872\% \pm 0,033$ a $2,165\% \pm 0,044$ (Tabela 7). Em frutos de açaí cultivados na Amazônia venezuelana os valores foram de 2,2% cinzas (NEIDA; ELBA, 2007), próximos aos encontrados para polpa do fruto da cultivar BRS-Pará, $1,99\% \pm 0,17$ (RUFINO et al., 2011). Mesmo não fazendo parte dos itens padronizados para polpa de açaí, o teor de cinzas é uma informação importante, pois expressa a quantidade de substâncias inorgânicas (minerais) presentes neste alimento (FREGONESE et al., 2010). Rogez (2000) relatou valores ($3,09\% \pm 0,84$) em diversas polpas de açaí analisadas, que apresentaram variações de acordo com a variedade e origem da planta, assim como a época de colheita. O teor de cinzas também é dependente do estágio de maturação do fruto, pois houve relato que o teor de cinzas em frutos maduros diminuiu em relação a frutos verdes, variando de 14% a 4% (GORDON et al., 2012).

5.3.7 Carboidratos totais

O teores de carboidratos totais nos frutos após aplicação de tratamentos térmicos e não térmicos variaram de 64,99 a 68,24% (Tabela 8), valores estes dentro do padrão de identidade para polpa de açaí (BRASIL, 2000) que deve necessariamente apresentar valores $> 51\%$. Fregonese et al. (2010) reportaram grandes oscilações de valores nos resultados encontrados, e todas abaixo do valor padrão, concluindo que a quantidade de água utilizada no processo de extração, o estágio de maturação dos frutos e/ou à época de colheita do fruto, poderiam influenciar significativamente em sua composição centesimal. Em frutos da Amazônia venezuelana foram observadas variações significativas quando frutos foram colhidos em épocas distintas (31,6 e 48,85%) (NEIDA; ELBA, 2007).

Tabela 8. Teores de carboidratos totais (%), valor energético total (%) e atividade de água de polpas de frutos de açaí liofilizados após tratamentos térmicos e não-térmicos.

| Tratamentos | Carboidratos totais (%) | Valor Energético Total (kcal.100g ⁻¹) | Atividade de água |
|--|-------------------------|---|-------------------|
| Cloração (150 mg.L ⁻¹) 15min | 67,20 | 461,11 | 0,501 ± 0,004 |
| Branqueamento 80 °C 10s | 64,99 | 466,95 | 0,520 ± 0,001 |
| Branqueamento 90 °C 10s | 66,53 | 464,18 | 0,481 ± 0,008 |
| Ozonização aquosa (4 mg.L ⁻¹) 5min | 68,24 | 477,98 | 0,470 ± 0,003 |

5.3.8 Valor Energético Total

O valor energético total dos frutos liofilizados apresentou variações entre 461,11 kcal.100g⁻¹ e 477,98 kcal.100g⁻¹ (Tabela 8). Schauss et al. (2006) relataram valor energético total de 533,9 kcal para açaí liofilizado, enquanto que Paula (2007) ao avaliar polpa de açaí quantificou 247 kcal. Os valores energéticos totais obtidos nas amostras estudadas se inserem na faixa de consumo diário de gordura recomendada (15% a 30%) e prescrita pelo Guia Alimentar da População Brasileira (BRASIL, 2014).

5.3.9 Atividade de água

Os valores de atividade de água (Aa) variaram de 0,501 a 0,470 (Tabela 8), sendo que para polpa de açaí liofilizado já foi relatado valores ~ 0,196 (PAVAN; SCHMIDT; FENG, 2012). A atividade de água reduzida é interessante para inibição do crescimento microbiano e diminuição das reações de degradação, como a atividade da peroxidase resultando em uma estabilidade melhorada do alimento (PAVAN; SCHMIDT; FENG, 2012). Todas as polpas de frutos tratados apresentaram-se abaixo do valor Aa referência (0,60) considerado limitante para a multiplicação de qualquer microrganismo, mas este fator intrínseco do fruto não deve ser considerado isoladamente, pois há uma grande dependência de fatores, como pH, entre outros (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

5.3.10 Ácidos graxos

Os ácidos graxos que apresentaram maiores teores na polpa de açaí após todos os tratamentos térmicos e não térmicos foram os ácidos oleico e palmítico e o poli-insaturado linoleico demonstrados nos cromatogramas (Figura 42), assim como observado por Schauss et al. (2006) ao analisar amostras de açaí liofilizado.

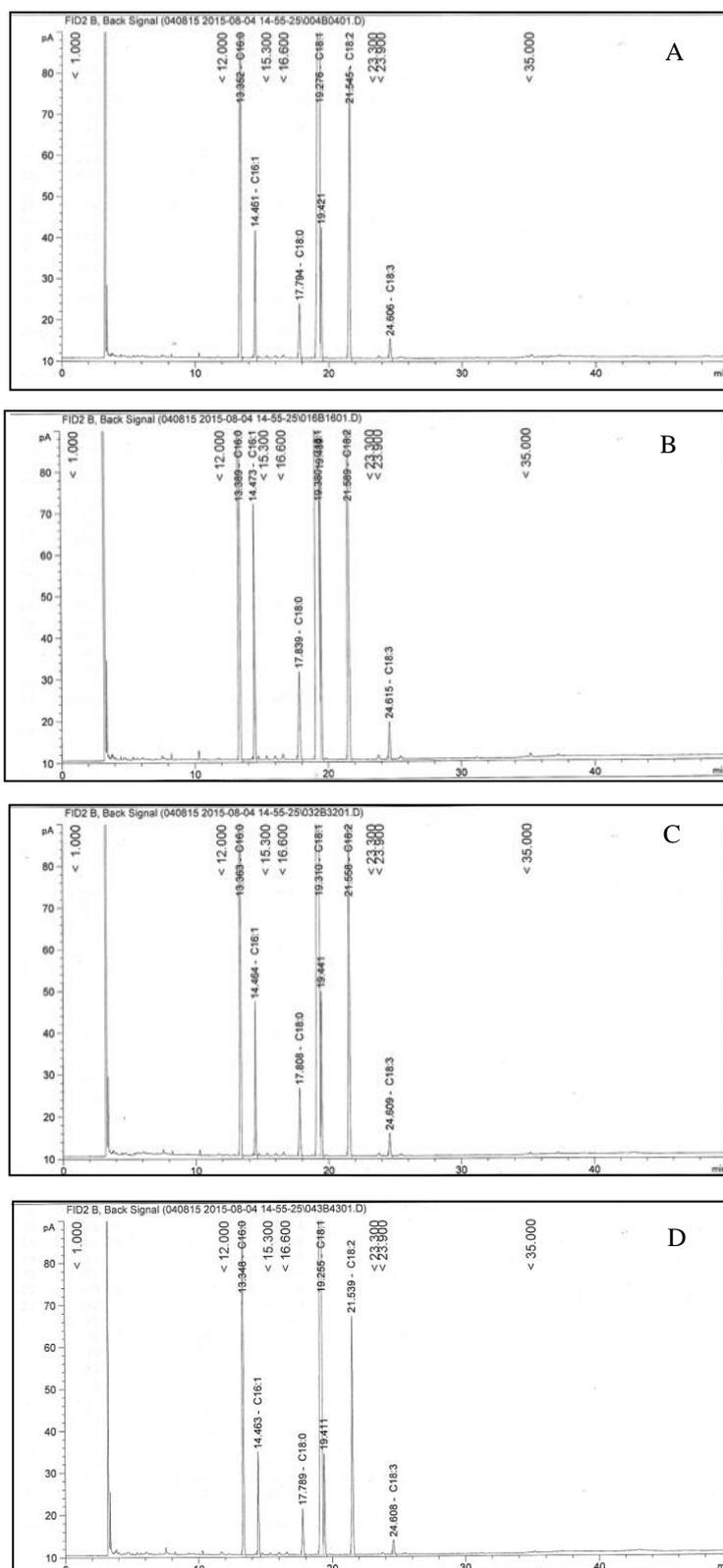


Figura 42. Cromatograma indicando os picos atribuídos aos ácidos graxos em polpas de frutos de açaí liofilizados após tratamentos de: (A) cloração (controle), (B) branqueamento a 80 °C, (C) branqueamento a 90 °C e (D) ozonização.

Os ácidos graxos saturados encontrados nos frutos de açaí tratados e liofilizados após processamentos térmicos e não térmicos foram palmítico C16:0 variando de 20,17% (controle cloro) a 19,76% (ozonização) e esteárico C18:0 de 1,87% (90 °C) a 1,75% (80 °C) (Tabela 9).

Tabela 9. Perfil dos ácidos graxos (%) em polpa de frutos de açaí liofilizados após tratamentos de cloração a 150 mg.L⁻¹ (controle), branqueamentos a 80 °C e 90 °C e ozonização aquosa a 4 mg.L⁻¹.

| Ácido graxo | | Cloro (controle) 150 mg. L ⁻¹ | Branqueamento | | Ozonização 4 mg. L ⁻¹ | <i>p</i> |
|-------------------------|--------------|--|---------------|-----------------|-------------------------------------|----------|
| | | | 80 °C | 90 °C | | |
| <i>saturados</i> | | 21,97 | 21,83 | 22 | 21,59 | |
| C16:0 | palmítico | 20,17±0,08 a ¹ | 20,08±0,08 a | 20,13±0,02 a | 19,76±0,19 b | 0,013110 |
| C18:0 | esteárico | 1,82±0,01 b | 1,75±0,02 c | 1,87±0,03 a | 1,83±0,02 ab | 0,000713 |
| <i>monoinsaturados</i> | | 67,72 | 68,23 | 67,83 | 68,29 | |
| C16:1 | palmitoleico | 3,04±0,01 b | 3,10±0,02 a | 2,99±0,01 bc | 3,00±0,03 c | 0,001085 |
| C18:1 | oleico | 64,72±0,07 b | 65,13±0,07 a | 64,84±0,04 b | 65,29±0,15 a | 0,000000 |
| <i>poli-insaturados</i> | | 10,24 | 9,95 | 10,18 | 10,12 | |
| C18:2 | linoleico | 9,57±0,03 a | 9,30±0,02 b | 9,55±0,00 a | 9,51±0,03 a | 0,000050 |
| C18:3 | linolênico | 0,67±0,01a | 0,65±0,00 b | 0,63±0,00 c | 0,61±0,00 d | 0,000005 |

¹ Valores na mesma linha com diferentes letras significam que são significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Os ácidos graxos monoinsaturados foram o palmitoleico C16:1 variando de 3,10% (80 °C) a 2,99% (90 °C) e oleico C18:1 de 64,72% (controle) a 65,29% (90°C). O poli-insaturado linoleico C18:2 variou de 9,57% (cloro) a 9,30% (80°C) e o linolênico C18:3 de 0,67% (cloro) a 0,61% (ozonização). Os totais dos ácidos graxos saturados encontrados em frutos após todos os tratamentos aplicados (21,59% a 22%), dos ácidos graxos monoinsaturados (67,72% a 68,29%) e

dos ácidos graxos poli-insaturados (9,95% a 10,24%) foram semelhantes aos encontrados em óleo bruto extraído de polpa de açaí e submetido a temperaturas de 60 °C (21,79%), ratificando a riqueza do óleo de açaí em monoinsaturações (SILVA; ROGEZ, 2013).

Em todos os tratamentos estudados, os graus de insaturações encontrados (77,96% a 78,41%) foram superiores aos 68,2% quantificados em polpa fresca de açaí comercial (NASCIMENTO et al., 2008) e aos 74% relatados em polpas de açaí (liofilizada e não liofilizada) e do óleo extraído da polpa que o qualificou no mesmo nível de qualidade do óleo de oliva e abacate (ROGEZ, 2000; SCHAUSS, 2010; SILVA; ROGEZ, 2013). O óleo de oliva é considerado um óleo padrão (ROGEZ, 2000), e o óleo de extraído da polpa de açaí após vários tipos de tratamentos aplicados demonstrou que seus ácidos graxos predominantes apresentavam-se quantitativamente semelhantes aos determinados em características de identidade para o óleo de oliva (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2015) (Quadro 4).

Quadro 4. Limites da composição em ácidos graxos para características de identidade de óleo de oliva.

| Codex Alimentarius ¹ | Ácidos graxos | | | | | |
|---------------------------------|---------------|-----------|-----------|---------|----------|-------|
| | C16:0 | C16:1 | C18:0 | C18:1 | C18:2 | C18:3 |
| <i>Limites</i> | 7,5 - 20 | 0,3 – 3,5 | 0,5 - 5,0 | 55 - 85 | 3,5 - 21 | - |

¹Fonte: (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2015)

Em relação aos tratamentos térmicos e não-térmicos aplicados aos frutos de açaí, houve diferenças significativas em seus teores de ácidos graxos, apesar destas diferenças serem numericamente bastante pequenas. Frutos branqueados a 80 °C apresentaram menores teores de ácidos graxos saturados (palmítico e esteárico) e poli-insaturados (linoleico e linolênico), e por outro lado maiores teores de ácidos graxos monoinsaturados (palmitoleico e oleico). Rogez (2000) ao avaliar os perfis de ácidos graxos de polpa e do suco processado de açaí, observou também uma diminuição de alguns ácidos graxos saturados (esteárico e araquídico) e

pollinsaturados (linoleico). Deste modo, observou-se que o ácidos graxo poli-insaturado linolênico C18:3 das amostras branqueadas (80 e 90 °C) e ozonizadas apresentaram diminuições significativas em seus teores quando comparados ao controle (cloração), provavelmente devido à maior degradação por oxidação durante os tratamentos, como foi observado também em óleo de açaí avaliado após permanecer em temperatura de 60 °C por diversos períodos de tempo (SILVA; ROGEZ, 2013).

A degradação destes ácidos graxos é devida ao processo de deterioração por oxidação lipídica que provoca alterações que afetam as características sensoriais e nutricionais dos óleos, podendo comprometer a integridade deste alimento. A estabilidade oxidativa de óleos alimentícios depende de fatores que atuam conjuntamente, como a própria estrutura química dos ácidos graxos componentes, o teor e tipo de compostos pró-oxidantes e/ou antioxidantes presentes na matriz alimentar, além do tempo e modo utilizados para a conservação deste alimento (SILVA; ROGEZ, 2013). Ao analisar a cinética de oxidação de ácidos graxos em óleo extraído de açaí durante o aquecimento a 60 °C, Silva e Rogez (2013) observaram que os ácidos graxos poli-insaturados foram os que apresentaram maior redução em seus teores. A ozonização dos frutos neste ensaio também levou às maiores diferenças significativas no teor de ácidos graxos poli-insaturados C18:3 (Tabela 9) entre todos os tratamentos estudados. Notadamente, o alto potencial de oxidação (-2.07 volts) do ozônio produz impactos mais fortes, de 1,5 e 1,3 vezes maiores que o cloro e o peróxido de hidrogênio utilizados contra várias espécies de microrganismos (FREITAS-SILVA; VENÂNCIO, 2010). Além do que, muitos óleos vegetais são modificados com finalidade terapêutica a partir da ozonização, pela produção de espécies reativas como os ozonídeos responsáveis pela atividade antimicrobiana e estímulo no reparo de tecidos e propriedades regenerativas (ALMEIDA et al., 2012).

A reação do ozônio molecular acontece de forma diferenciada conforme a presença ou não de duplas ligações na estrutura dos ácidos graxos na matriz alimentar, devido à sua seletividade e

limitação a compostos aromáticos insaturados e alifáticos. Por isso, a reação do ozônio aos ácidos graxos saturados se dá de forma mais lenta do que nos insaturados, cujas duplas ligações são prontamente oxidadas na presença deste composto levando à formação de produtos cicloadicionados (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001).

5.3.11 Antocianinas

5.3.11.1 Antocianinas totais

O teor de antocianinas totais de frutos de açaí liofilizados, após o processamento por tratamentos térmicos e não-térmicos variaram de 225,99 a 492,47 mg.100g⁻¹, apresentando diferenças significativas entre os tratamentos ($p = 0,000156$) (Figura 43).

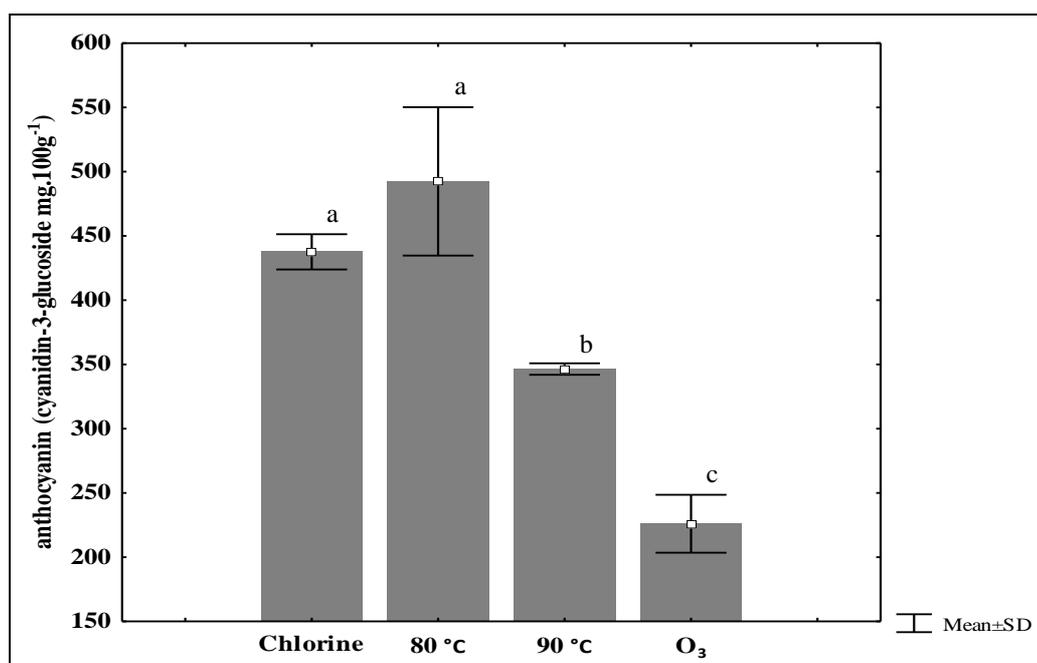


Figura 43. Antocianinas totais de polpa de frutos de açaí liofilizados após tratamentos de cloração a 150 mg. L⁻¹ (controle), branqueamentos a 80 °C e 90 °C e ozonização aquosa a 4 mg. L⁻¹

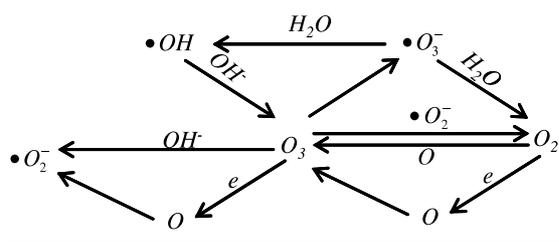
Em ensaios com polpas de açaí processadas e liofilizadas os valores de antocianinas totais variaram de 92,8 mg.100 g⁻¹ a 338,6 mg.100 g⁻¹, medidos também pelo método de pH diferencial (ALBARICI; VALETA; PESSOA, 2007; MATTIETTO et al., 2009; SOUZA et al., 2009).

Estudos observaram variações de 175,63 a 748,39 mg.100g⁻¹ de antocianinas totais em frutos de áreas manejadas, 363,72 a 590,23 mg.100g⁻¹ em frutas nativas e de 312,28 a 743,18 mg.100g⁻¹ em frutos de açaí de áreas cultivadas. O teor de antocianinas em frutos de açaí pode variar de acordo com a variabilidade genética, o tempo de exposição às condições adversas durante o transporte, o tempo entre a colheita e processamento, as condições de armazenamento e temperatura. Essa elevação dos teores de antocianinas também está relacionado à sazonalidade e ao tipo de cultivo de açaí implantado (MALCHER; CARVALHO, 2011).

O branqueamento dos frutos a 80 °C foi o único tratamento a apresentar estatisticamente, o mesmo teor de antocianinas totais que o tratamento por cloração a 150 mg.L⁻¹ (controle). Rogez (2000) relata que a aplicação de altas temperaturas ao fruto não apresenta impacto negativo significativo sobre o teor de antocianinas totais, sendo que o tempo de exposição do tratamento térmico pode evitar perda de até 35% (ROGEZ, 2000). Isso já não ocorre em polpas e frutos congelados, pois Pacheco-Palencia et al. (2009) relataram perdas em polpas de açaí congeladas em 34,0 ± 2,3%, quando foram submetidas a 80 °C por período até 1h. O tratamento térmico a 80 °C por 10s está associado a uma rápida desativação de enzimas e microrganismos que estão presentes nas camadas superficiais do fruto, além de promover a remoção do oxigênio existente nos espaços intercelulares da parte mais externa da polpa, influenciando diretamente nas antocianinas que se localizam nos vacúolos de células nas camadas mais superficiais do fruto (CASTRO, 2012; CAVALCANTI; SANTOS; MEIRELES, 2011; POMPEU; SILVA; ROGEZ, 2009; ROGEZ, 2000). O teor de antocianinas dos frutos após branqueamento a 90 °C foi significativamente menor (20,8%) do encontrado no tratamento clorado (controle). O aumento da temperatura a 10 °C nos tratamentos de branqueamento causou um efeito prejudicial sobre o teor de antocianinas totais (29,3%) em frutos, em relação ao branqueamento a 80 °C. Este efeito pode ser devido à redução da estabilidade das antocianinas quando a temperatura foi aumentada, assim como pelas variações de concentração destas antocianinas e dos compostos fenólicos não-

antocianicos que também conferem estabilidade à matriz alimentar, podendo levar a degradações de até $34,0 \pm 2,3\%$ em polpas de açaí (CAO et al., 2009; CAVALCANTI; SANTOS; MEIRELES, 2011; GOUVÊA et al., 2012; PACHECO-PALENCIA; DUNCAN; TALCOTT, 2009).

A ozonização aquosa (4 mg.L^{-1}) durante 10min foi o tratamento que apresentou os menores teores de antocianinas na polpa do fruto, sendo significativamente menor (48,4%) quando comparado com o tratamento controle com água clorada. Também no tratamento com ozônio foi verificado que o teor de antocianinas totais foi menor (34,8%), quando comparado com o tratamento de branqueamento a $90 \text{ }^\circ\text{C}$. O ozônio é um gás instável e degradado ao oxigênio (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001), não representando um resíduo indesejável per se no alimento (ALEXANDRE et al., 2011), mas a ozonização dos frutos pode ter promovido a amplificação do processo de degradação das antocianinas no fruto pela presença do oxigênio produzido de forma contínua e lenta durante a degradação do gás ozônio (CAVALCANTI; SANTOS; MEIRELES, 2011) (Figura 44). Durante a ozonização por borbulhamento em suco de uva, Tiwari et al. (2009a) observaram também que o teor de antocianinas descesceu significativamente quando a amostra foi tratada com baixas concentrações de ozônio (1,6% p/p) por um período de 10min.

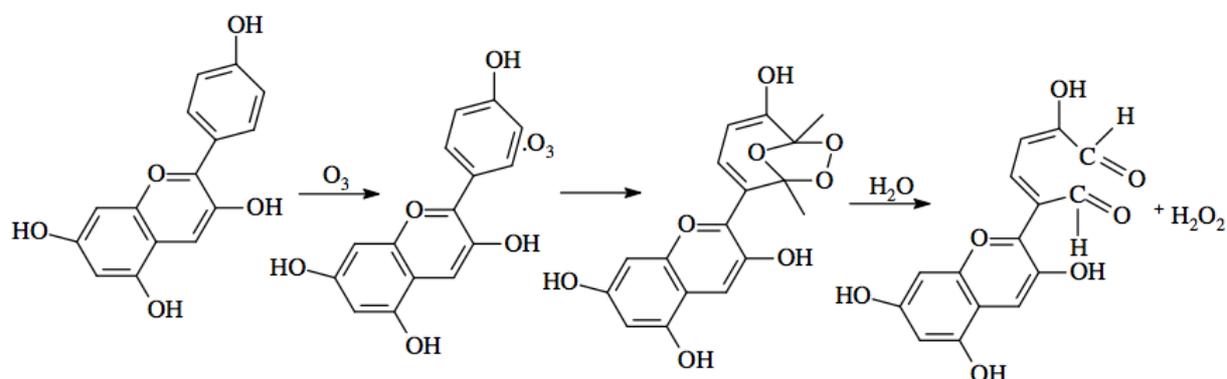


Fonte: (CULLEM et al., 2009)

Figura 44. Formação e transformação de radicais intermediários na degradação da molécula de ozônio.

Desta forma, a degradação de antocianinas pela presença de ozônio pode acontecer pela reação direta com o ozônio ou indiretamente pela reação com oxidantes secundários. O mecanismo de Criegee em 1975 descreve a reação direta, onde a molécula de ozônio sofre a reação de

cicloadição 1,3-dipolar com as duplas ligações conjugadas encontradas nos anéis aromáticos das antocianinas, e a formação de ozonídeos (1,2,4-trioxolanos) a partir de alcenos, e de ozônio com aldeídos e óxidos de cetonas como compostos intermediários finais. Estes ozonídeos de natureza instável se decompõem por oxidação rapidamente levando à formação de compostos carbonílicos, enquanto este sistema oxidativo leva à produção de ácidos carboxílicos ou cetonas (OLIVEIRA; WOSCH, 2012; TIWARI et al., 2008, 2009a). Deste modo, em alguns casos, a ozonização pode ter limitações de uso em alimentos pigmentados, pois o ozônio atua diretamente no processo de degradação dos pigmentos orgânicos presentes, como também na formação de outras espécies altamente reativas e facilitadoras de degradação, tais como $\bullet\text{OH}$, $\text{HO}^{2\bullet}$, $\bullet\text{O}_2^-$ e $\bullet\text{O}_3^-$ (XUE; CHEN; WANG, 2008). A formação de ozonídeos pela reação do ozônio em presença de antocianinas, leva à ruptura do anel benzênico de sua estrutura, aumentando o grau de degradação destes compostos (CULLEN et al., 2009) (Figura 45).



Fonte: (CULLEN et al., 2009)

Figura 45. Mecanismo de degradação das antocianinas na presença de ozônio

Mas conforme Cullem et al. (2009) vários fatores independentes podem conduzir o processamento por ozonização e deste modo influenciar tanto nas reações bioquímicas como na própria inativação microbiana, facilitando um controle melhorado dos parâmetros de qualidade e de segurança de alimentos ozonizados.

5.3.11.2 Antocianinas monoméricas

As antocianinas monoméricas foram espectrofotometricamente identificadas como cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutinosídeo pelos tempos de retenção de padrões isolados de açaí (Figura 46).

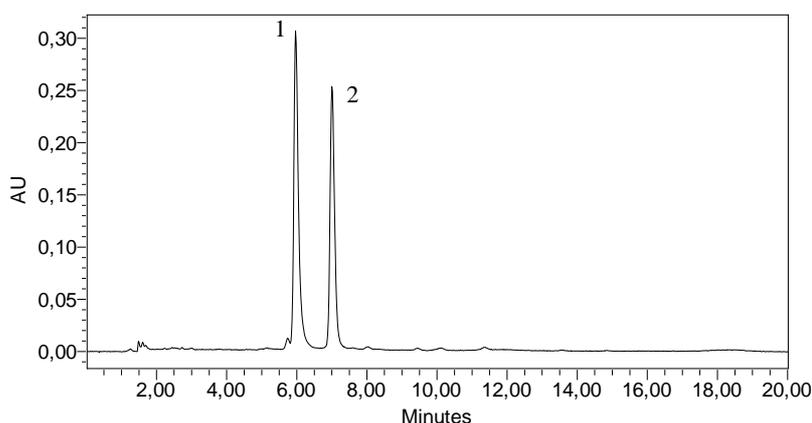


Figura 46. Cromatograma CLAE indicando os picos atribuídos às antocianinas monoméricas (1) cianidina-3-O-glicosídeo e (2) cianidina-3-O-rutinosídeo em polpas de frutos de açaí liofilizados após tratamentos de cloração a 150 mg.L^{-1} (controle).

Gordon et al. (2012) relataram que as quantidades relativas das antocianinas individuais apresentaram-se diferentes em cada fase de maturação do fruto de açaí, sendo que a proporção de cianidina-3-O-glucosídeo para cianidina-3-O-rutinosídeo era de 1:1 na fase de maturação intermediária, aumentando esta proporção a favor da cianidina-3-O-rutinosídeo durante a evolução da maturação. Os valores destas duas antocianinas monoméricas neste estudo foram de encontro aos relatados na literatura, pois os teores de cianidina-3-O-glicosídeo foram maiores do que os de cianidina-3-O-rutinosídeo, podendo ser consequência da utilização de frutos de açaí em estágio de maturação intermediária.

Nas polpas dos frutos de açaí liofilizados, os teores de cianidina-3-O-glicosídeo variaram de $93,54 \pm 6,19 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ a $238,82 \pm 11,39 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ e os de cianidina-3-O-rutinosídeo variaram $144,69 \pm 5,07 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ a $221,07 \pm 8,34 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ (Figura 47) conforme os tratamentos aplicados.

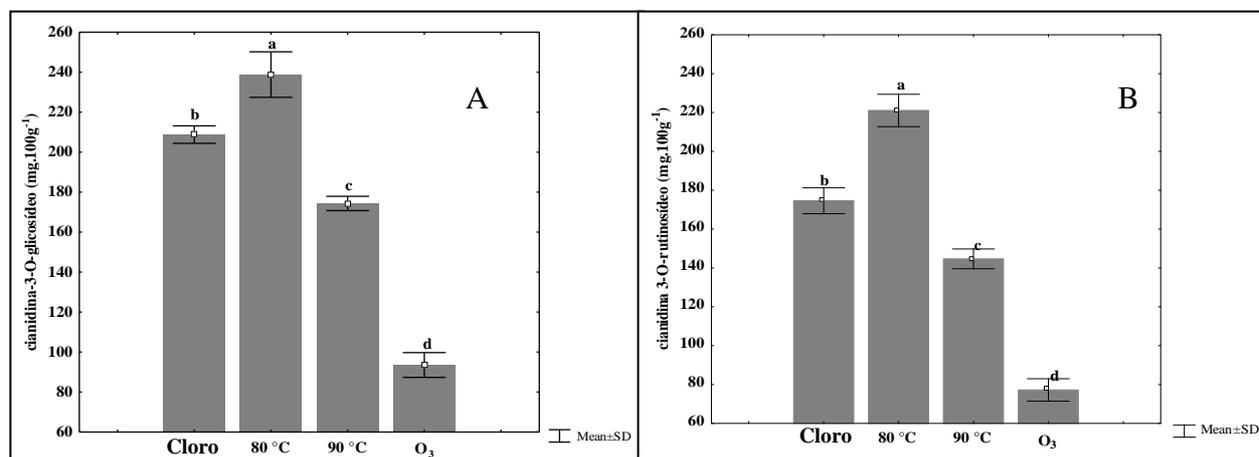


Figura 47. Teores de antocianinas monoméricas (A) cianidina-3-O-glicosídeo e (B) cianidina-3-O-rutinosídeo em polpas de frutos de açaí liofilizados após tratamentos de cloração a $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (controle), branqueamentos a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ e $90 \text{ }^\circ\text{C}$ e ozonização aquosa a $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Em estudo com frutos de açaí liofilizados, teores de $117 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ cianidina-3-O-glicosídeo e de $193 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ cianidina-3-O-rutinosídeo foram reportados (SCHAUSS et al., 2006b). Em estudos com diferentes espécies comerciais de açaí foram relatados teores de $94,7 \pm 2,9 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ cianidina-3-O-glicosídeo e $125,6 \pm 3,8 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ cianidina-3-O-rutinosídeo e em suco clarificado teores de $42,4 \pm 0,5 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ cianidina-3-O-glicosídeo e $135,0 \pm 1,8 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ cianidina-3-O-rutinosídeo (PACHECO-PALENCIA; DUNCAN; TALCOTT, 2009; PACHECO-PALENCIA; HAWKEN; TALCOTT, 2007a). Em nosso trabalho também foi observado que os teores de ambas as antocianinas monoméricas nas polpas apresentaram diferenças estatísticas significativas em relação aos tratamentos aplicados aos frutos ($p = 0,000001$) (Figura 47).

Os teores das antocianinas monoméricas cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutinosídeo foram superiores em frutos de açaí branqueados a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ ($238,82 \pm 11,39 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ e $221,07 \pm$

8,34 mg.100g⁻¹, respectivamente), seguidas do controle cujos frutos foram lavados com cloro (150 mg.L⁻¹) (208,81 ± 4,37 mg.100g⁻¹ e 174,57 ± 6,67 mg.100g⁻¹, respectivamente). O branqueamento dos frutos a 80 °C acompanhou a tendência de comportamento das antocianinas totais (Figura 50), com valores das duas monoméricas principais (14,4% e 26,6%, respectivamente) maiores numericamente que o controle (clorado), mas agora significativamente diferentes do controle. Por outro lado, ao branquear os frutos a 90 °C observou-se que os teores de cianidina-3-O-glicosídeo (174.34 ± 3.58 mg.100g⁻¹) e cianidina-3-O-rutenosídeo (144.69 ± 5.07 mg.100g⁻¹) foram menores 16,5% e 17,1%, respectivamente, em relação ao controle clorado. Em frutos tratados com ozonização aquosa os teores de cianidina-3-O-glicosídeo (93.54 ± 6.19 mg.100g⁻¹) e cianidina-3-O-rutenosídeo (77.26 ± 5.76 mg.100g⁻¹) foram 55,2% e 55,7%, respectivamente, menores em relação ao controle clorado. A ozonização de frutos com alto teor de antocianinas pode levar a reduções significativas destes compostos bioativos, constatando-se a perda de 98,2% no teor da antocianina monomérica pelargonina-3-O-glicosídeo em suco de morango e perda de > 90% em cianidina-3-O-glicosídeo em suco de amora preta tratados a concentrações de ozônio a 7,9 mg.L⁻¹ por 10min (TIWARI et al., 2009a, 2009b).

Os tratamentos aplicados aos frutos de açaí influenciaram sobremaneira a relação de antocianinas monoméricas sobre as antocianinas totais presentes em suas polpas. Em frutos clorados (controle), as antocianinas monoméricas somaram 87,6% das antocianinas totais e após tratamento térmico por branqueamento a 80 °C e 90 °C, as antocianinas monoméricas representaram cerca de 93,4% e 92,10% das antocianinas totais, respectivamente. A diferença de temperatura aplicada nos tratamentos térmicos não influenciou na relação entre antocianinas monoméricas e o conteúdo de antocianinas totais. Schauss et al. (2006) observaram que em açaí liofilizado, sem qualquer tratamento, as frações monoméricas compunham cerca de 97,2% das antocianinas totais, valor bastante próximo dos encontrados para frutos tratados termicamente a 80 °C e 90 °C. No tratamento por ozonização aquosa, o teor de antocianinas monoméricas

representaram cerca de 75,6% das antocianinas totais, menor que as observadas nas polpas dos frutos dos tratamentos térmicos e controle (cloração). Isso demonstra que o grau de degradação que as antocianinas monoméricas estudadas sofreram durante os tratamentos aplicados aos frutos de açaí, quando comparadas ao tratamento controle (cloração), foi específico para cada tipo de antocianina (Figura 48). Comportamento similar foi observado ao avaliar as antocianinas monoméricas em ensaios utilizando processamento em suco de uva (TIWARI et al., 2009b).

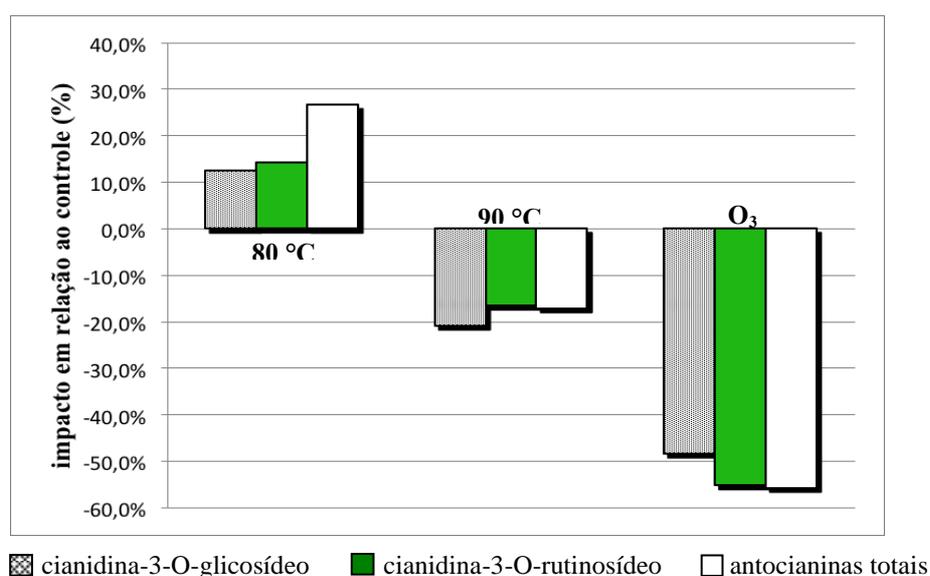


Figura 48. Impacto do branqueamento a 80 °C e 90 °C e ozonização aquosa (4 mg.L⁻¹) nos teores de antocianinas totais e monoméricas (cianidina-3-O-glicosídeo e cianidina-3-O-rutinosídeo) em relação ao tratamento clorado (controle).

Este comportamento diferenciado das antocianinas monoméricas foi melhor observado no tratamento térmico a 80 °C, pois mesmo apresentando teores maiores que o tratamento controle (cloração), este aumento não foi homogêneo entre as monoméricas estudadas, pois antocianina-3-O-rutinosídeo (26,6%) apresentou maiores teores em relação à antocianina-3-O-glicosídeo (14,4%). Pacheco-Palencia (2009) observou que em frutos tratados termicamente a 80 °C por períodos de até 60min, as perdas das antocianinas monoméricas foram diferentes entre si, com perdas maiores para cianidina-3-O-glicosídeo (72%) e menores para cianidina-3-O-rutinosídeo

(7%). Esta diferença nos teores de antocianinas monoméricas, representado pelos diferentes graus de degradação, também foi observada em açaí mantido sob conservação, evidenciando que cianidina-3-O-glicosídeo apresenta uma taxa de degradação diferenciada da cianidina-3-O-rutinosídeo (PACHECO-PALENCIA; HAWKEN; TALCOTT, 2007a; RUBINSKIENE et al., 2005). Conforme Pacheco-Palencia (2010), os efeitos negativos de temperatura na estabilidade de antocianinas e cor foram atribuídos à mudança no equilíbrio das antocianinas em direção às formas pseudobase e chalcona menos coloridas (Figura 11). A hidrólise das pontes glicosídicas foi proposta como uma das primeiras etapas de degradação das antocianinas, resultando em agliconas instáveis e evoluindo espontaneamente para a fissão do anel aromático e degradação da estrutura e conseqüentemente da cor.

5.4 Atividade antioxidante

5.4.1 Fenólicos totais

Polpas de frutos liofilizados após tratamentos térmicos e não térmicos apresentaram diferença significativa no teor de fenólicos totais ($p = 0,000000$), variando de $417,32 \pm 0,17$ mgEAG.100g⁻¹ a $771,00 \pm 0,15$ mgEAG.100g⁻¹ (Figura 49). Em polpas de frutos de açaí em estágio maduro foram relatados $523,8 \pm 9,5$ mgEAG.100g⁻¹ (CRUZ, 2008), enquanto que outros autores relataram valores de 328 ± 9 mgEAG.100g⁻¹ em polpa de açaí liofilizada (HASSIMOTTO; GENOVESE; LAJOLO, 2005), $197,2 \pm 6,9$ mgEAG.100g⁻¹ em polpa de açaí pasteurizada e congelada e $143,7 \pm 7,0$ mgEAG.100g⁻¹ em suco de açaí após centrifugação (PACHECO-PALENCIA, 2006). Tais diferenças podem ser atribuídas aos tipos varietais, condições de armazenamento ou até mesmo a sensibilidade do método de análise.

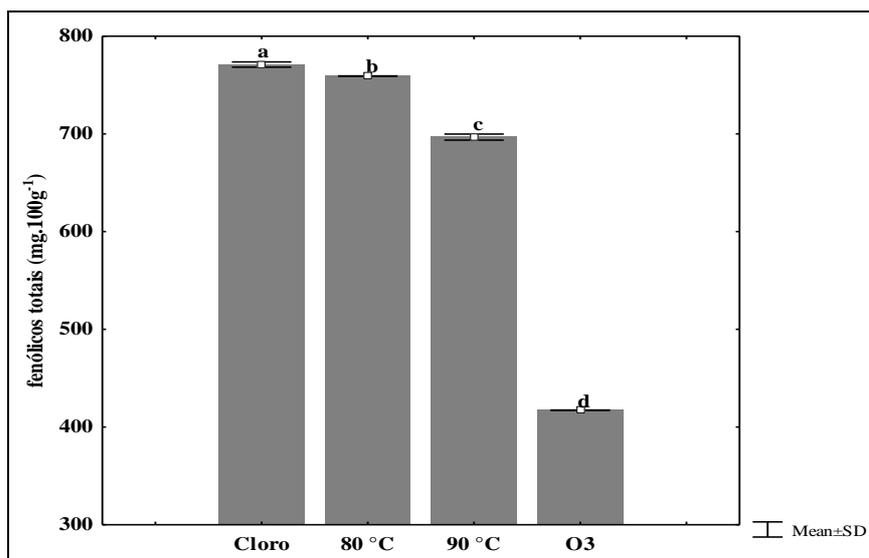


Figura 49. Fenólicos totais (mgEAG.100g⁻¹) de polpas de frutos de açai liofilizados após tratamentos de cloração a 150 mg.L⁻¹ (controle), branqueamentos a 80 °C e 90 °C e ozonização aquosa a 4 mg.L⁻¹.

O tratamento dos frutos com cloro a 150 mg.L⁻¹ (controle) apresentou o maior teor de fenólicos totais (771,00 mgEAG.100g⁻¹) em relação a todos os outros tratamentos. O branqueamento a 80 °C (759,244 mg.100g⁻¹) apresentou teores de fenólicos 1,5% menor em relação ao tratamento controle. O branqueamento dos frutos a 90 °C (696,79 mgEAG.100g⁻¹) foi 9,6% menor que o controle e 8,2% em relação ao branqueamento a 80 °C. A ozonização dos frutos a 4 mg.L⁻¹ O₃ (417,32 mgEAG.100g⁻¹) apresentou perda de 45,9% em relação ao controle, 45,0% em relação ao branqueamento de 80 °C e 40,1% em relação a 90 °C.

As reduções observadas nos teores de fenólicos totais dos frutos de açai após aplicação do tratamento térmico a 90 °C (9,6%) em relação ao controle (cloração) foi semelhante ao observado por Pacheco-Palencia (2006) em polpas de açai congeladas e armazenadas a 4 e 20 °C (8 a 13%, respectivamente) durante o período de 35 dias. As perdas no teor de fenólicos totais observadas após branqueamento dos frutos a 80 °C e a 90 °C foram muito menores do que as observadas em relação ao impacto destas temperaturas sobre os teores de antocianinas totais (Figura 43). Em estudo do binômio tempo x temperatura na pasteurização de polpa de açai observou-se também

que os teores de fenólicos totais em polpas pasteurizadas eram pouco menores dos encontrados nas polpas não pasteurizadas, e não foram significativamente afetados pelos vários níveis de temperaturas propostos (MATTIETTO; MATTA; FREITAS, 2010).

Estas pequenas reduções/perdas observadas no teor de fenólicos totais, quando quantificadas pelo método de Folin-Ciocalteu, podem ser atribuídas às reações de polimerização, em que ocorre a redução do número de grupos de hidroxilas livres, e que são mensuradas por este respectivo método (KLOPOTEK; OTTO; BÖHM, 2005; PACHECO-PALENCIA, 2006). Ao utilizar outros métodos de quantificação da atividade antioxidante, como o poder antioxidante de redução do ferro (FRAP), as antocianinas poliméricas foram negativamente correlacionadas (TSAI; HUANG, 2004).

O teor de fenólicos totais no tratamento por ozonização aquosa (4 mg.L^{-1}) foi 45,9% quantitativamente menor em relação ao tratamento controle (cloração). Este decréscimo do teor de fenólicos totais também foi observado em estudos de ozonização do suco de maçã fresco a $5,3 \text{ mg.L}^{-1}$ e $4,0 \text{ mg.L}^{-1}$, com reduções de 34,3% a 58,1%, respectivamente (PATIL et al., 2010; TORLAK, 2014). Esta diminuição dos teores pode ser relacionada à degradação dos compostos fenólicos devido às reações diretas da molécula de ozônio com os radicais OH, preferencialmente pelas duplas ligações dos compostos orgânicos e também pelas reações com seus radicais livres que levam a reações eletrofílicas e nucleofílicas que acontecem com os compostos aromáticos (CULLEN et al., 2009; TIWARI et al., 2009b).

5.4.2 Captura do radical livre ABTS•+ (TEAC)

A capacidade antioxidante de frutos de açaí após processamentos mostrou que houve diferença estatística ($p = 0,005542$) entre os tratamentos dos frutos de açaí, variando os teores de $653,80 \pm 13,74 \text{ mmolTE.g}^{-1}$ a $707,86 \pm 2,53 \text{ mmolTE.g}^{-1}$ (Figura 50), valores estes superiores aos encontrados em polpa de açaí liofilizada $403,30 \pm 19,65 \text{ mmol TE.g}^{-1}$ (ROJANO et al., 2011).

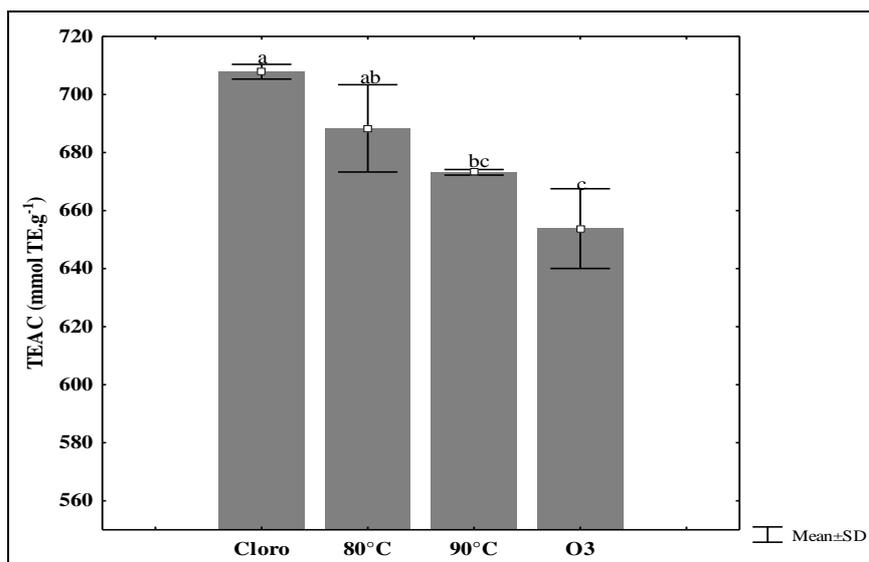


Figura 50. Capacidade antioxidante (TEAC) de frutos de açai liofilizados após tratamentos de cloração a 150 mg.L⁻¹ (controle), branqueamentos a 80 e 90 °C e ozonização aquosa a 4 mg.L⁻¹.

Frutos branqueados a 90 °C (673,19 ± 0,96 mmolTE.g⁻¹) apresentaram menor capacidade antioxidante (4,9%) do que frutos lavados com cloro a 150 mg.L⁻¹ (controle) (707,86 ± 2,53 mmolTE.g⁻¹). A capacidade antioxidante de frutos ozonizados 4 mg.L⁻¹ O₃ (653,80 ± 13,74 mmol TE.g⁻¹) também foi menor (7,6%) do que o tratamento controle. Por outro lado, frutos termicamente tratados a 80 °C (688,33 ± 15,03 mmolTE.g⁻¹) apresentaram a mesma capacidade antioxidante que frutos sanitizados por cloração (controle). Ao elevarmos em 10 °C a temperatura de branqueamento houve uma diminuição não significativa de apenas 2,2% na capacidade antioxidante dos frutos.

Durante o processamento de frutos geralmente ocorre uma diminuição dos teores de compostos fenólicos, das antocianinas totais e da vitamina C da amostra, como no caso de morangos processados, resultando na redução da capacidade antioxidante hidrofílica, e demonstrando que houve uma boa correlação entre estes fatores (KLOPOTEK; OTTO; BÖHM, 2005). O aquecimento de alimentos ricos em antocianinas geralmente leva à perda de cor e posteriormente tornam-se amarronzados, devido à degradação das antocianinas e formação de polímeros marrons. Tsai et al. (2004) ao estudarem o tratamento térmico a 90 °C de vinagreira (*Hibiscus*

sabdariffa L.), fonte de pigmentos naturais, observaram que a densidade da cor da amostra diminuiu, indicando que as antocianinas da amostra foram degradadas pelo processo, e não devido a reações de escurecimento. Ou seja, houve a termodegradação das antocianinas e a formação de polímeros marrons no sistema. Deste modo, pode-se supor que os graus de polimerização ocorridos entre os tratamentos cujos valores TEAC foram significativamente semelhantes entre si, também podem ser considerados semelhantes, pois as antocianinas polimerizadas não influenciaram na habilidade de remoção do radical ABTS•⁺ (TSAI; HUANG, 2004). A ozonização aquosa dos frutos de açaí pode ter propiciado a degradação das antocianinas tanto pelo processo de oxidação direta pela interação com ozônio (Figura 45) como pela formação de vários radicais intermediários, como já foi discutido anteriormente.

5.4.3 Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio (ORAC)

A atividade antioxidante de todos os tratamentos foi obtida da área sobre a curva (AUC) plotada em relação ao dados de fluorescência e o tempo de análise (Figura 51).

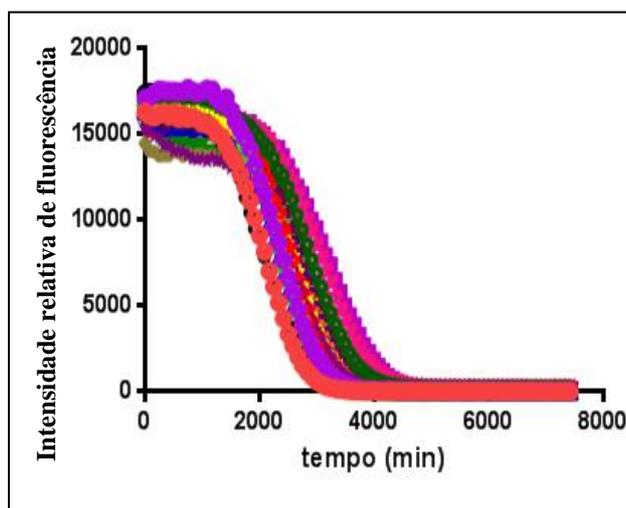


Figura 51. Atividade antioxidante graficamente representada pela área sobre a curva (AUC) relativa à fluorescência das amostras de frutos de açaí liofilizados após tratamentos térmicos e não térmicos pelo tempo de análise.

Pelo método ORAC, a capacidade antioxidante dos frutos processados por tratamentos térmicos e não térmicos apresentou diferença estatística significativa ($p = 0,032077$), com teores variando de $841,10 \pm 51,18 \text{ mmolTE.g}^{-1}$ a $1026,15 \pm 164,83 \text{ mmolTE.g}^{-1}$ (Figura 52). Schauss (2010) relatou valores de $630 \text{ mmolTE.g}^{-1}$ em estudos comparando a capacidade antioxidante em açaí liofilizado e em forma de pó obtido por spray drying.

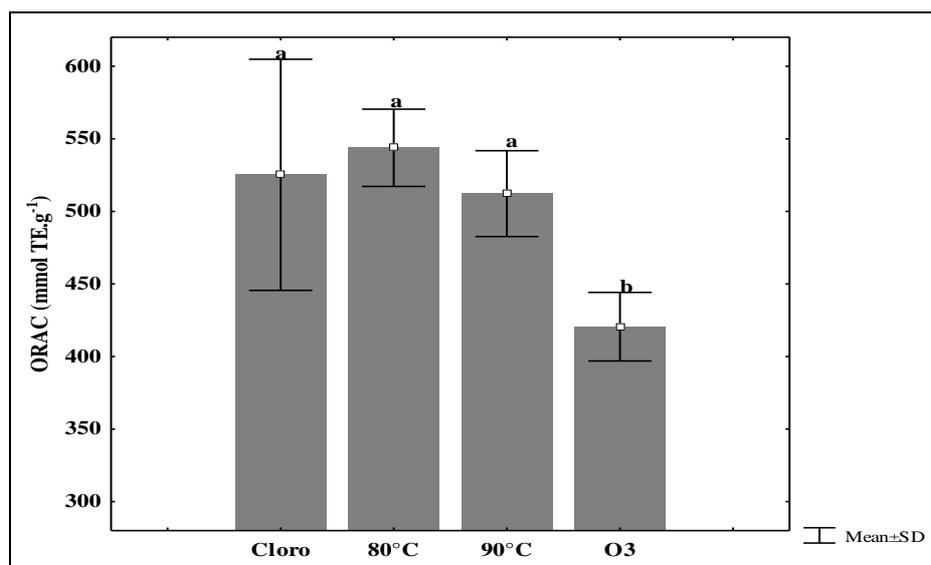


Figura 52. Capacidade antioxidante (ORAC) de frutos de açaí liofilizados após cloração a 150 mg.L^{-1} (controle), branqueamentos a $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e $90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e ozonização aquosa a 4 mg.L^{-1} .

O branqueamento a $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ($1106,32 \text{ } \mu\text{molTE.g}^{-1}$), a cloração dos frutos (controle) ($1026,15 \text{ } \mu\text{molTE.g}^{-1}$) e branqueamento a $90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ($1021,60 \text{ } \mu\text{molTE.g}^{-1}$) apresentaram valores de ORAC semelhantes, diferenciando estatisticamente do tratamento de ozonização dos frutos a 4 mg.L^{-1} ($841,10 \text{ } \mu\text{molTE.g}^{-1}$). A ozonização aquosa dos frutos a 4 mg.L^{-1} resultou em uma capacidade antioxidante menor, em torno de 17,7% em relação ao tratamento térmico a $90 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 18,0% em relação à cloração (controle) e 24,0% em relação ao branqueamento a $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Ao comparar compostos que apresentam a mesma estrutura química básica, o valor ORAC de flavonoides por exemplo, é proporcional ao número de substituições hidroxilas na estrutura e às posições destas hidroxilas nas estruturas (KANG et al., 2010). Posteriormente, a ocorrência de

outras substituições como a glicosilação, também podem afetar a capacidade antioxidante dos flavonoides. Além disso, a ocorrência de metilação de grupos hidroxila nos anéis benzênicos diminui drasticamente a capacidade antioxidante destes compostos (KANG et al., 2011). Estes compostos fenólicos não-antociânicos naturalmente presentes no açaí como ácidos fenólicos (protocatéico, *p*-hidroxibenzóico, vanílico, siríngico e ferúlico), flavonas-C-glicosídeos (isorientina, orientina, isovitexina e apigenina 6,8-di-C-glicosídeo) atuam como cofatores polifenólicos e tem uma função fundamental na estabilidade estrutural e pigmentar das antocianinas. Cofatores polifenólicos participam de reações conhecidas como copigmentação intermolecular, muito comuns na natureza, podendo se associar às antocianinas do açaí atraídos por forças hidrofóbicas fracas, permitindo o melhoramento da cor e aumento da estabilidade destas antocianinas presentes no fruto (PACHECO-PALENCIA; TALCOTT, 2010). Estes compostos considerados copigmentos não apresentam coloração e não estão covalentemente ligados ao mesmo resíduo de açúcar que o cromóforo das antocianinas (CAVALCANTI; SANTOS; MEIRELES, 2011).

Ao analisar os valores de atividade antioxidante dos diferentes tratamentos aplicados a frutos de açaí pelos métodos TEAC e ORAC, foram observadas diferenças nos valores e nas avaliações estatísticas, sendo que muitos autores divergem entre si quanto ao tipo de correlação existente entre estes métodos de avaliação (ZULUETA; ESTEVE; FRÍGOLA, 2009). Ao relacionarmos os teores de antocianinas totais dos frutos de açaí após tratamentos térmicos e não-térmicos, observamos que houve uma correlação positiva com a atividade antioxidante mensurada pelo método TEAC (Figura 53).

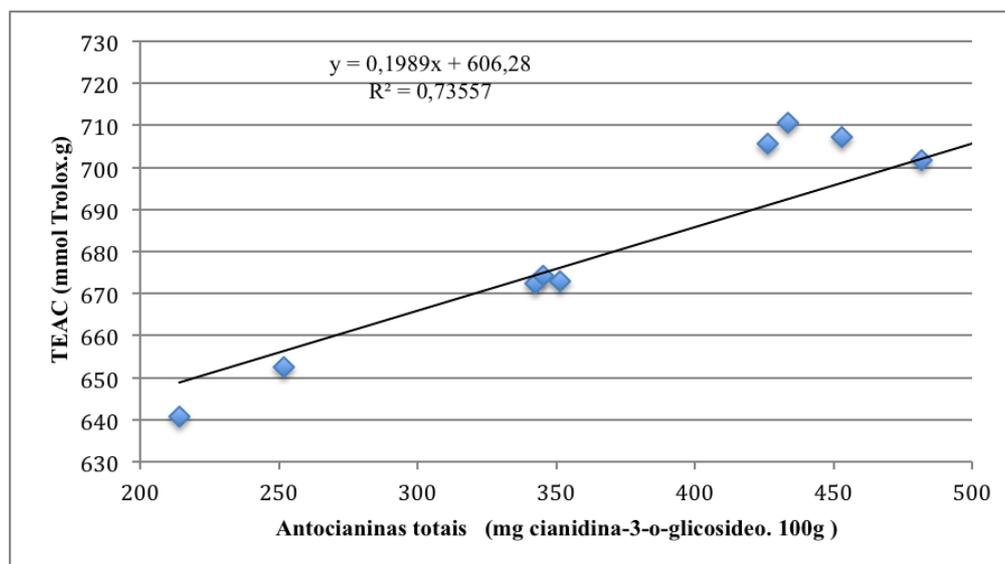


Figura 53. Correlação linear entre antocianinas totais de frutos tratados (têrmicos e não-têrmicos) e atividade antioxidante pela captura do radical livre $ABTS^{\bullet+}$ (TEAC).

5.5 Avaliação sensoriais e da cor

5.5.1 Análise sensorial

5.5.1.1 Perfil dos avaliadores

No universo dos provadores avaliados durante o teste de comparação múltipla ($n = 50$), a maior parte era composta de participantes do sexo feminino (52,20%) com idade média de $33,3 \pm 13,4$ anos. Por outro lado, no teste afetivo ($n = 68$) os homens estiveram em maior proporção (60,0%), e a idade média de $33,9 \pm 13,1$ anos foi similar ao primeiro teste (Figura 54).

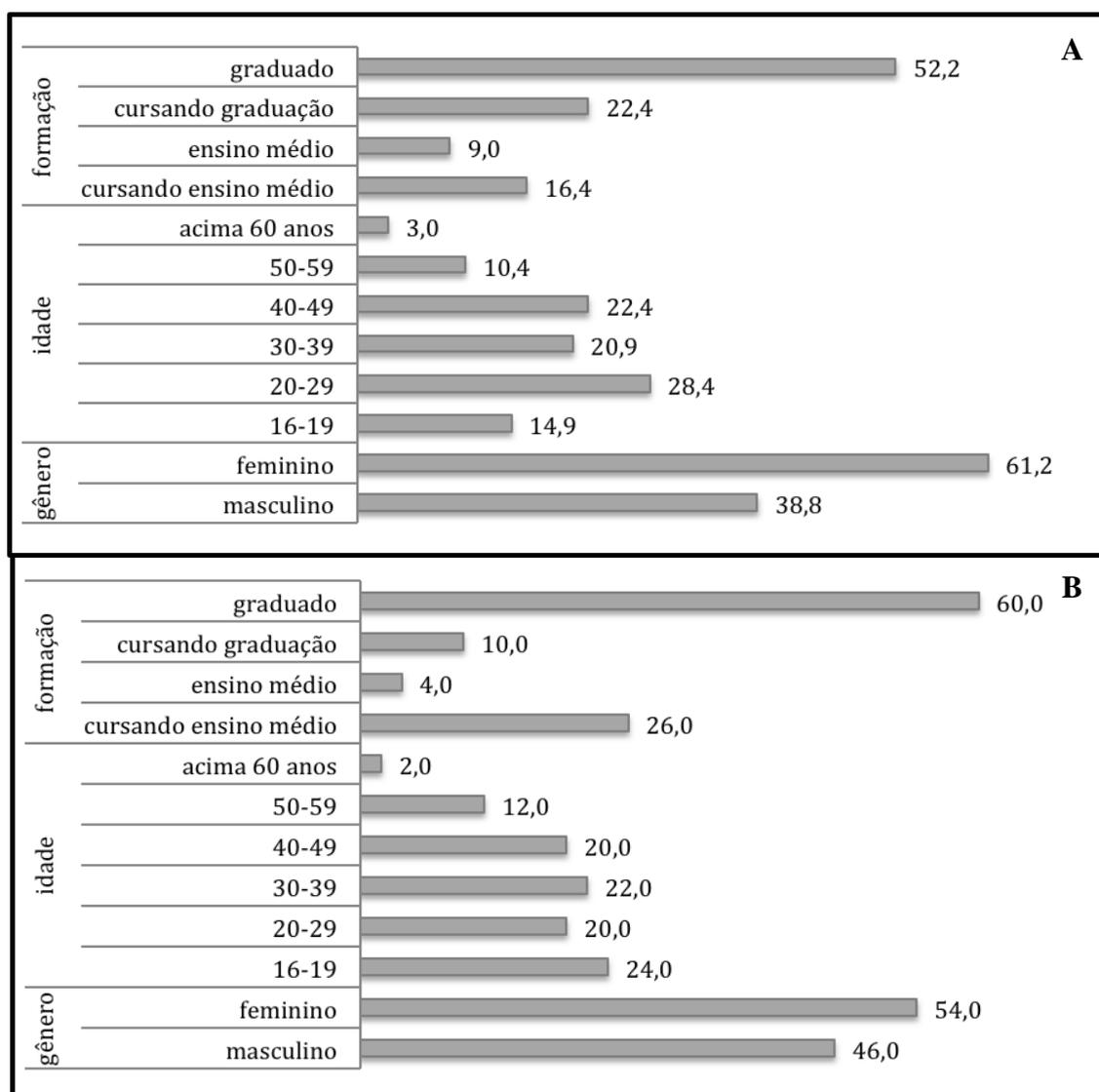


Figura 54. Perfil dos consumidores de açaí entrevistados pelo teste de comparação múltipla (A) e teste afetivo (B), resultados expressos em porcentagem.

O gênero do participante pode ser considerado um fator de influência quando está relacionado a assuntos de saúde, pois 83% das mulheres que participaram de avaliação sensorial de sucos tropicais, inclusive o de açaí, relacionaram o seu consumo aos benefícios para a saúde, enquanto somente 32% dos homens indicaram que os fatores benéficos à saúde podiam influenciar no consumo de sucos de frutas (VIDIGAL et al., 2011). Neste estudo talvez o gênero não influencie os resultados, uma vez que o consumo de açaí é generalizado entre homens e mulheres.

Os participantes apresentaram faixa de idade bastante ampla, variando de 16 a 64 anos, similar ao reportado em teste sensorial com açaí batido vindo de frutos branqueados (PINTO et al., 2009). Ao analisarmos as faixas etárias utilizadas nos ensaios de forma acumulada, observou-se que a distribuição nestas faixas assemelha-se ao perfil de distribuição da população da região Norte do Brasil, em 2012 com idades entre 16 a 64 anos, onde cidadãos de 16 a 29 anos representaram cerca de 44,0 % deste recorte da população; cidadãos com idade entre 30 a 49 anos cerca de 41,2 % e com idade entre 50 a 64 anos cerca de 14,7 % (BRASIL, 2012).

A idade do avaliador pode representar alguma influência nos resultados de análises sensoriais (DELLA MODESTA, 1994), pois os adultos além de apresentarem maior terminologia, por isso a faixa de idade entre 15 a 50 anos é a mais recomendada, sendo que aproximadamente 86 % dos avaliadores entrevistados nos dois ensaios encontravam-se nesta faixa etária. Em estudos sobre o consumo de produtos de açaí na Guiana Francesa, a idade dos entrevistados com até 59 anos não foi um fator discriminante no modo de consumo desta população, representando apenas uma ferramenta eficaz de transmissão quanto à preferência e conhecimento destes produtos componentes de sua alimentação (ROBINSON; BEREAU; FAHRASMANE, 2013). Considerando a influência da informação sobre os benefícios à saúde para aceitação de sucos de frutas, inclusive o de açaí, Vidigal et al. (2011) observaram que 66,6% dos consumidores com menos de 20 anos de idade relataram que um sabor agradável exercia a maior influência no consumo de sucos, enquanto que 62,5% dos consumidores com idade acima de 20 anos reportaram que o fator mais importante estava relacionado aos benefícios à saúde pelo consumo de sucos (VIDIGAL et al., 2011). Uma possível explicação sobre esta influência da idade no consumo de sucos pode ser devido à experiência de pessoas mais velhas com problemas de saúde, pois consumidores mais jovens não foram motivados para melhorar ou manter sua saúde por consumo de alimentos funcionais (BOWER; SAADAT; WHITTEN, 2003; VIDIGAL et al., 2011).

Quanto ao nível educacional, os dois grupos de avaliadores apresentaram boa formação escolar, e conseqüentemente boa capacidade de entendimento das avaliações requeridas, com 74% dos participantes do teste de comparação múltipla (A) e 83,6% dos consumidores do teste afetivo (B) possuindo, pelo menos, o ensino médio, dos quais 60% (A) e 52,2% (B), apresentavam o nível de graduação, respectivamente.

5.5.1.2 Teste de comparação múltipla

A comparação múltipla entre os açaís batidos processados após os tratamentos térmicos de frutos (80 ° C e a 90 ° C durante 10s), e tratamento não-térmico (ozonização aquosa 4 mg.L⁻¹) em relação à amostra-padrão (sanitização dos frutos com água clorada 150 mg.L⁻¹ - controle) não evidenciou qualquer diferença significativa ($p = 0,4342$) observada pelos provadores (Figura 55).

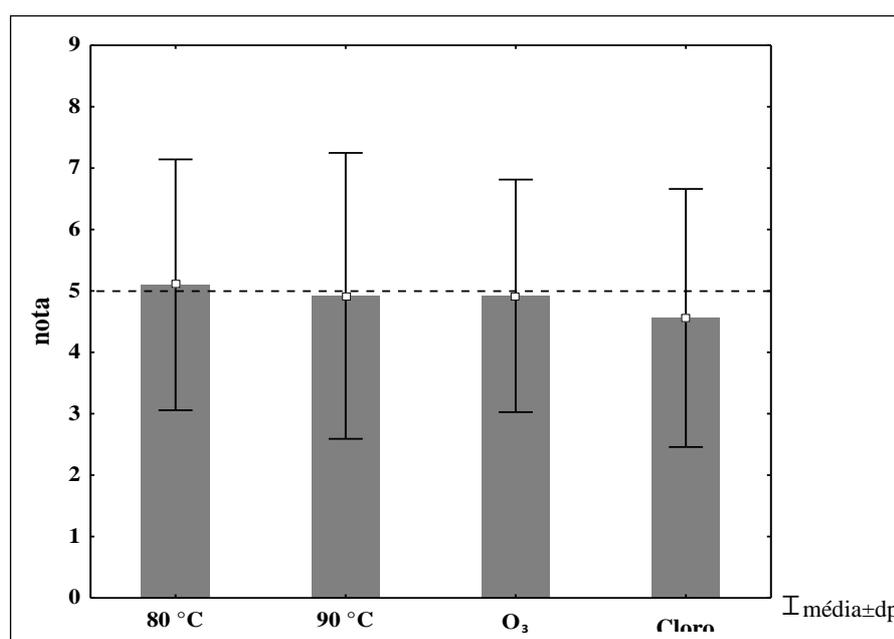


Figura 55. Teste de comparação múltipla para percepção de açaí batido após tratamento dos frutos a 80 °C, 90 °C, ozonização aquosa (4 mg.L⁻¹) e água clorada (150 mg.L⁻¹ - controle). Nota 5 representa nenhuma diferença da amostra padrão (linha tracejada).

A nota média deste teste variou 4,6 a 5,1, representando nenhuma diferença entre as amostras-teste e a amostra-padrão (P). Os provadores também classificaram a amostra controle codificada

(frutos sanitizados com água clorada) (pontuação média de 4,6) como igual à amostra-padrão controle (P) demonstrando que foram capazes de reconhecer que a amostra controle codificada era semelhante ao produto tradicionalmente consumido (Figura 55). No entanto, valores médios não são os mais adequados para expressar a preferência do consumidor por um determinado produto (CORRÊA et al., 2010; DELIZA; ROSENTHAL, 2008; GREENHOFF; MACFIE, 1994). Neste estudo, entretanto, ao observar os dados referentes às notas dos avaliadores, verificou-se que uma parte destes empregou notas menores (notas ≤ 4), enquanto outra parte dos consumidores inferiu notas maiores (notas ≥ 6) (Figura 56).

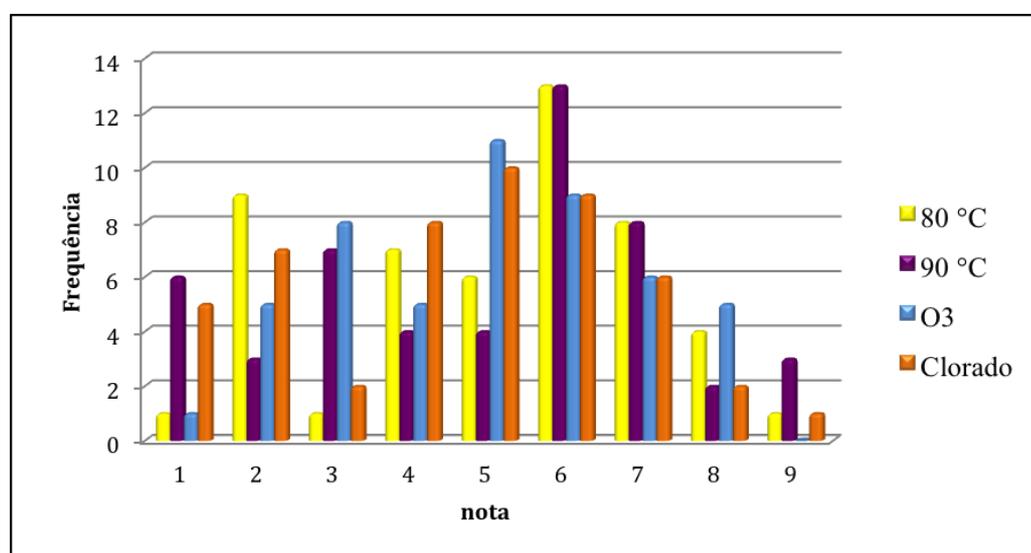


Figura 56. Histograma de frequência absoluta observada no teste de comparação múltipla de amostras-teste de açaí batido vindos de frutos branqueados (80 e a 90 °C), ozonizados (4 mg.L⁻¹) e clorados (150 mg.L⁻¹ controle).

Os produtos açaí batido vindo de frutos clorados (controle) e de frutos branqueados a 90 °C obtiveram as maiores frequências de notas abaixo de 4 (“ligeiramente melhor que o padrão”), seguidos de açaí branqueado a 80 °C e de frutos ozonizados. De acordo com Corrêa et al. (2010), estes resultados sugerem que o produto açaí batido vindo de frutos branqueados a 90 °C tem potencial de sucesso no mercado, lembrando que o açaí batido vindo de frutos clorados já tem seu

mercado consolidado por ser o processo utilizado tradicionalmente nas processadoras semi-artesais.

Em teste triangular com amostras de açaí batido vindo de frutos branqueados a 80 °C e de frutos não branqueados, 56 provadores não treinados também não diferenciaram as amostras de forma significativa, quando orientados a reconhecer a amostra diferente em relação à cor e sabor das amostras (PINTO et al., 2009). Por outro lado, na avaliação das características sensoriais de sete polpas industrializadas de açaí, oito provadores treinados perceberam diferenças significativas ao avaliar quatorze atributos sensoriais das polpas pelo método da análise descritiva quantitativa (ADQ) (PINTO et al., 2009).

5.5.1.3 Teste de aceitação

O teste de aceitação pelo método hedônico foi conduzido para avaliar a aceitação do açaí batido após tratamentos térmicos da fruta por branqueamento a 80 e 90 °C por 10s. Pelas notas dos consumidores avaliados, não houve reconhecimento das diferenças sensoriais entre os dois produtos, pois os atributos de qualidade utilizados foram classificados com as mesmas notas (Tabela 10). O aumento da temperatura de branqueamento de 80 para 90 °C durante o mesmo período de tempo, não foi percebida pelos consumidores.

Tabela 10. Atributos do teste hedônico de aceitação de açaís batidos processados após tratamentos térmicos dos frutos por branqueamento a 80 e 90 °C.

| Atributos | Notas ¹ para açaí batido de | | <i>p</i> |
|-----------------|--|-------------|----------|
| | frutos branqueados a | | |
| | 80 °C | 90 °C | |
| Aparência | 7,5 ± 1,6 a ² | 7,7 ± 1,7 a | 0,3139 |
| Aroma | 6,9 ± 2,1 a | 6,8 ± 1,9 a | 0,4141 |
| Sabor | 7,2 ± 2,0 a | 6,9 ± 2,1 a | 0,3472 |
| Impressão geral | 7,4 ± 1,9 a | 7,2 ± 1,6 a | 0,4336 |

¹Média de 68 consumidores. ²Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha indicam que são significativamente semelhantes ($p > 0.05$).

As amostras-teste de açaí batido tiveram desempenhos muito satisfatórios pelas características qualitativas (atributos) avaliadas. Todos os atributos de ambas as amostras obtiveram notas superiores à nota média da avaliação, representada pela categoria "nem gostei nem desgostei" (nota 5). A aparência externa dos produtos, reunindo a percepção de cor e textura, obtiveram as maiores pontuações, indicando à aceitabilidade de todos os tratamentos propostos, já que numa primeira fase de avaliação de um produto, a sua aparência visual pode influenciar de maneira significativa na impressão geral dos produtos (DUTCOSKY, 2013).

As notas dos consumidores representadas graficamente (Figura 57) dos dois produtos em conjunto permitiram analisar a contribuição de cada um dos atributos avaliados na obtenção do perfil sensorial das amostras.

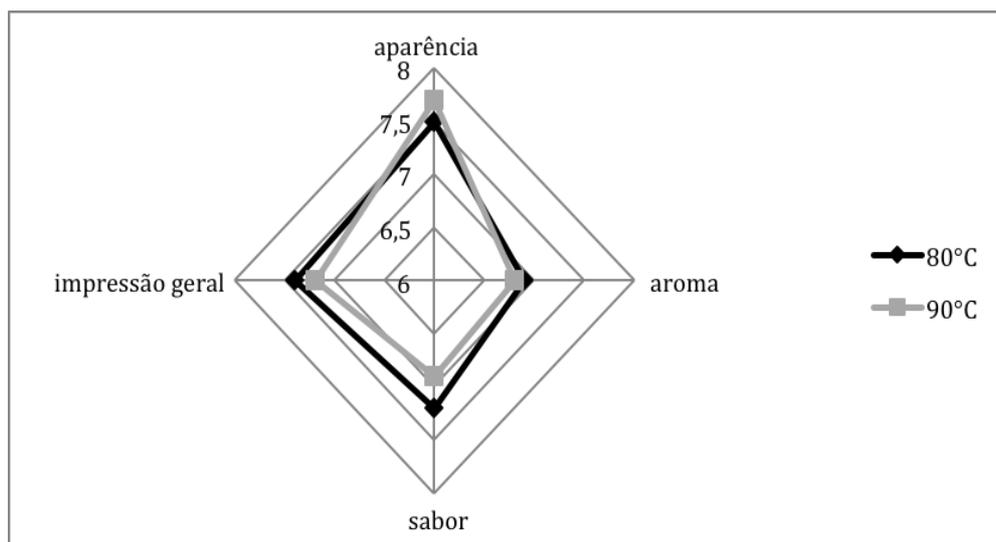


Figura 57. Atributos do teste de aceitação entre açaís batidos após branqueamento dos frutos a 80 e 90 °C

Observou-se que a aparência foi o atributo que representou o maior impacto na avaliação das amostras-teste, pois obteve o maior escore médio, seguido dos atributos impressão geral do produto, sabor e aroma (Figura 57). Embora o sabor seja um dos atributos mais citados pela sua influência no consumo de alimentos (GLANZ et al., 1998), na maioria das vezes o primeiro contato com o alimento é realizado através dos olhos, facilitando o desejo subjetivo de comer o alimento alvo (MARCELINO et al., 2001; WADHERA; CAPALDI-PHILLIPS, 2014). A aparência do alimento, captada antes de seu consumo, fornece expectativas sobre a qualidade do sabor, cor e a palatabilidade do alimento, podendo afetar sua aceitação e o consumo (HURLING; SHEPHERD, 2003).

A análise de *clustering* hierárquico ou grupamento dos atributos foi realizado para ordenação de acordo com uma medida de similaridade, no caso a distância Euclidiana (JEMAA et al., 2015). O método utilizado foi o aglomerativo por encadeamento único (*single linkage*), que se baseia na distância mínima entre os atributos, também conhecido como técnica do vizinho mais próximo. A análise de *clustering* hierárquico é representada usualmente por dendogramas, mostrando a sequência de agrupamentos e a similaridade com que os clusters são formados. Os dois primeiros

atributos que foram agrupados objetos foram os que apresentaram menor distância entre si, ou seja, maior similaridade entre estes elementos. O agrupamento é continuado até que todos os atributos estivessem no mesmo agrupamento (METZ, 2006) (Figura 58).

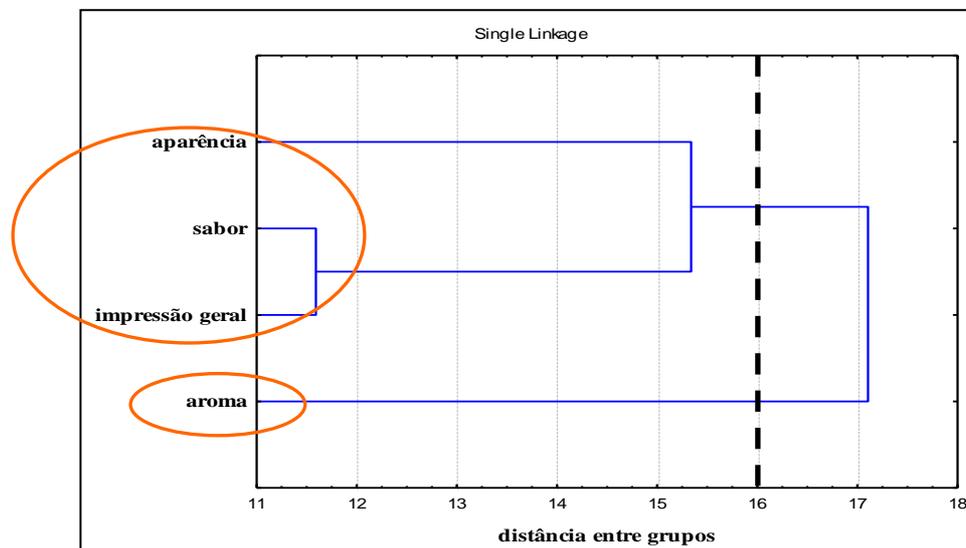


Figura 58. Dendrograma em distância Euclidiana entre médias de notas de atributos do teste de aceitação entre açaís batidos após branqueamento dos frutos a 80 e 90 °C. A Linha Fenon ou linha de corte foi representada pela linha tracejada

Inicialmente, o primeiro *cluster* ou grupamento formado reuniu as variáveis sabor e impressão geral, que apresentaram menor distância Euclidiana, com altura em torno de 11,5. O segundo *cluster* foi formado pela combinação do primeiro cluster e do atributo impressão geral, com distância Euclidiana aproximada de 15,4. O último grupamento foi formado pelo segundo cluster com a variável aroma, com altura aproximada de 17. Ao plotarmos a linha Fenon ou linha de corte estabelecida onde houve o maior salto em distâncias Euclidianas no dendrograma, na altura de 16, obtivemos dois clusters principais com distâncias maiores e consequentemente com maiores números de interações. Ou seja, o atributo aroma foi a variável que mais se distanciou dos demais atributos aparência, aroma e impressão geral durante a avaliação de aceitação entre os avaliadores.

5.5.1.4 Intenção de compra

Avaliando a intenção de compra das duas bebidas de frutos branqueados a 80 e 90 °C, os consumidores opinaram que certamente (nota 5) ou provavelmente (nota 4) comprariam esses produtos (Figura 59), não havendo diferença estatística entre os açaís batidos, com base em atributos sensoriais avaliados.

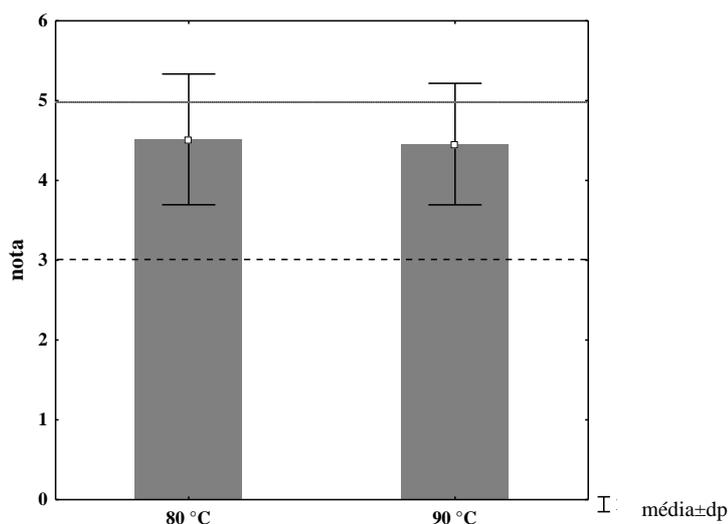


Figura 59. Intenção de compra por consumidores de açaí batido processado a partir de frutos branqueadas a 80 e 90 °C.

A segmentação das notas de cada amostra-teste de açaí batido analisada pelos consumidores em suas frequências relativas (Figura 60) demonstraram que consumidores efetivamente comprariam (nota 5) açaí batido após branqueamento dos frutos a 80 °C (64,7%) ou a 90 °C, (58,8%). Se a intenção de compra provável (nota 4) fosse adicionada com a intenção efetiva de compra (nota 5), então 92,6% e 89,7% dos consumidores comprariam açaí batido após branqueamento a 80 e 90 °C, respectivamente.

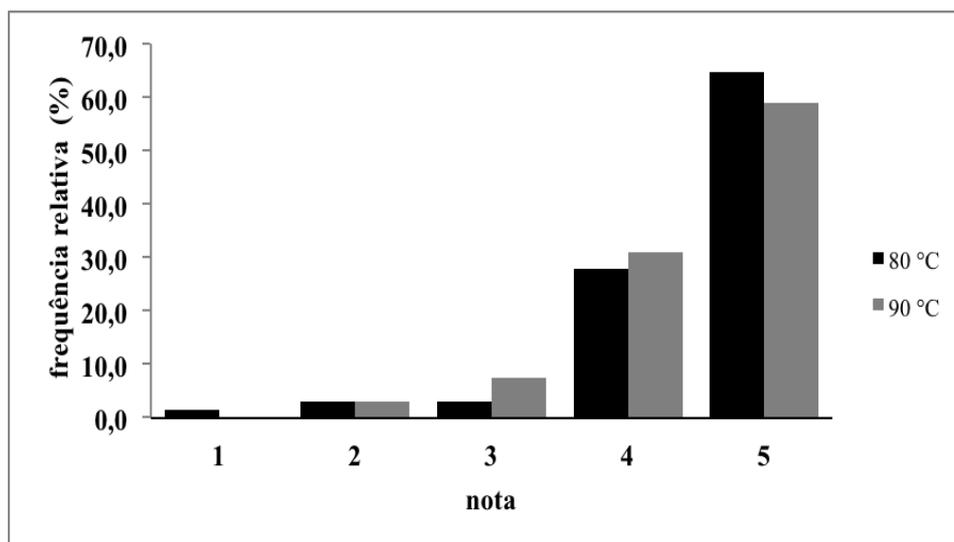


Figura 60. Frequência relativa da intenção de compra de amostras-teste de açaí batido vindos de frutos branqueados a 80 e 90 °C.

5.5.2 Análise de cor

Os dados de cor dos produtos processados açaí batido após vários tratamentos nos frutos demonstraram que os processos de sanitização destes frutos influenciaram significativamente em alguns atributos de cor do produto final em comparação com o controle (Tabela 11).

Tabela 11. Valores L^* , a^* , b^* , C^* e h° de açaí batido após tratamentos térmicos (branqueamento a 80 e 90 °C) e não-térmicos (150 mg.L^{-1} cloro e 4 mg.L^{-1} água ozonizada) dos frutos

| CIE | Cloro (controle) | Branqueamento | | Ozonização | <i>p</i> |
|-----------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------|
| | 150 mg. L^{-1} | 80 °C | 90 °C | 4 mg. L^{-1} | |
| L^* | $31,46 \pm 1,08 \text{ a}^1$ | $30,04 \pm 1,61 \text{ b}$ | $27,69 \pm 1,24 \text{ c}$ | $28,18 \pm 2,50 \text{ c}$ | 0,0000 |
| a^* | $12,34 \pm 0,43 \text{ a}$ | $12,57 \pm 1,03 \text{ a}$ | $12,83 \pm 0,57 \text{ a}$ | $11,41 \pm 1,73 \text{ b}$ | 0,0003 |
| b^* | $9,49 \pm 0,70 \text{ b}$ | $10,09 \pm 0,56 \text{ ab}$ | $10,41 \pm 0,58 \text{ a}$ | $9,39 \pm 1,61 \text{ b}$ | 0,0002 |
| C^* | $15,58 \pm 0,56 \text{ a}$ | $16,12 \pm 1,08 \text{ a}$ | $16,53 \pm 0,66 \text{ a}$ | $15,18 \pm 1,43 \text{ b}$ | 0,0002 |
| h° | $37,52 \pm 2,20 \text{ a}$ | $38,81 \pm 1,58 \text{ a}$ | $39,04 \pm 1,65 \text{ ab}$ | $39,74 \pm 2,61 \text{ b}$ | 0,0048 |

¶ Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha, não foram significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Tratamentos térmicos e não térmicos, em algum ponto, causaram transformações no fruto de açaí, resultando em diferenças nas cores do produto final (açaí batido) quando comparada ao fruto tradicionalmente lavado com água clorada a 150 mg.L^{-1} .

Os valores L^* encontrados no ensaio são menores aos encontrados por Dall' Acqua et al (2015) ao avaliarem frutos íntegros de açaí (30,35 a 31,90), devendo levar em consideração o dano causado pelo processamento, assim como os depósitos de cera presentes na epiderme dos frutos de açaí elevando os valores L^* . A coordenada L^* , representativa da luminosidade entre o preto (0) e o branco (100), indicou que o açaí batido proveniente de frutos branqueados a $90 \text{ }^\circ\text{C}$ obteve o mesmo o valor que o açaí batido produzido após ozonização dos frutos (Tabela 11). Este maior escurecimento do produto final pode ser devido à oxidação de componentes presentes no fruto de açaí (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

A coordenada a^* no sistema $\text{CIE}Lab^*$ está relacionada entre valores positivos (vermelho) e valores negativos (verde) (KONIKA MINOLTA, [s.d.]), sendo que os valores observados nos tratamentos térmicos a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ e $90 \text{ }^\circ\text{C}$ aplicados nos frutos foram significativamente semelhantes ao controle (cloração), com colorações mais avermelhadas que o tratamento ozonizado (Tabela 11). Em estudo em bebidas com alto teor de antocianinas apresentaram uma correlação altamente positiva entre os teores de antocianinas e os valores de a^* (DALL' ACQUA et al., 2015; GIRONÉS-VILAPLANA et al., 2013), o que pode explicar a diferenciação desta coordenada nos diferentes tratamentos em relação à ozonização de frutos, que apresentou a menor quantidade de antocianinas totais (Figura 43).

Na avaliação da coordenada b^* , o branqueamento a $90 \text{ }^\circ\text{C}$ foi o único a apresentar significativamente mais elevado (mais amarelado) do que o controle (cloração). Essa descoloração pode estar relacionada a um aumento da degradação da fração lipídica observada por Rogez (2000) durante o tratamento térmico pelo branqueamento de frutos a $90 \text{ }^\circ\text{C}$ por mais de 10s, onde houve a produção de um óleo amarelado sobrenadante no produto final.

Por definição, Cromo C^* é a coloração de um objeto julgado em comparação com o brilho de um objeto branco sob a mesma condição (OHTA; ROBERTSON, 2005). Também é reconhecido simplesmente como a intensidade da cor (RAWSON et al., 2011), indicando o seu grau de saturação (JIMÉNEZ-AGUILAR et al., 2011) e quando o valor de croma é diminuído, a cor torna-se menos intensa, transformando-se de um estado vívido em um sombrio (PATRAS; TIWARI; BRUNTON, 2011). O valor C^* do açaí batido cujos frutos foram tratados por ozonização aquosa foi significativamente menor do que os outros tratamentos avaliados, demonstrando que a ozonização pode diminuir a intensidade da cor do produto final. Este decréscimo de saturação da cor C^* foi também observado em 'berries', sendo então relacionado ao decréscimo dos teores de antocianinas, devido à degradação das mesmas (SADILOVA; STINTZING; CARLE, 2006). Já foi discutido anteriormente que a ozonização dos frutos também levou ao maior decréscimo dos teores de antocianinas presentes nos frutos em relação aos demais tratamentos utilizados (Figura 43). Pode-se então inferir que o decréscimo de antocianinas também acarreta a redução dos valores de C^* no açaí batido após ozonização dos frutos, concluindo que a degradação destas antocianinas pode ser facilmente avaliadas pelo Cromo, como já foi descrito em vários trabalhos (SADILOVA; STINTZING; CARLE, 2006; STINTZING et al., 2002).

O valor do ângulo de tonalidade Hue (h°) é o atributo que representa a cor que é percebida (JIMÉNEZ-AGUILAR et al., 2011), iniciando-se no eixo $+a^*$ com o valor 0 (vermelho), $+b^*$ com o valor 90 (amarelo), eixo $-a^*$ seria o valor 180 (verde), e no eixo $-b^*$, o valor seria 270 (azul) (KONIKA MINOLTA, [s.d.]). O produto açaí batido vindo de frutos tratados por ozonização aquosa apresentou ângulo h° significativamente maior que o controle (cloração) e branqueamento a 80 °C. Os valores de tonalidade h° foram semelhantes para produtos vindos de frutos ozonizados e de frutos branqueados a 90 °C, com tendência a tonalidades menos vermelhas, e mais amareladas, também observada em extratos de açaí adicionados a bebidas

isotônicas (ROSSO; MERCADANTE, 2007). Esta diferenciação da tonalidade pode ser devido à separação de matérias graxas com produção de um óleo amarelado observado em estudos com frutos branqueados a temperaturas mais altas que 80 °C e por períodos de tempo maiores que 10s (ROGEZ et al., 1996) devido à oxidação lipídica (SILVA; ROGEZ, 2013) durante o branqueamento a 90 °C e a ozonização aquosa dos frutos. Entretanto, durante o processamento de frutos de açaí em suco, sem tratamento térmico, as antocianinas polimerizadas, visualmente apresentadas com um h° amarronzado, foram diferenciadas à cor vermelha brilhante exibida pelas formas antociânicas monoméricas, geralmente preferida pelo consumidor para sucos naturais (PACHECO-PALENCIA; HAWKEN; TALCOTT, 2007b).

Ao analisarmos a relação dos parâmetros de cor com os teores de antocianinas totais dos tratamentos térmicos e não térmicos, observamos que o ângulo hue (h°) da bebida açaí batido foi o único a apresentar uma correlação com teores de antocianinas totais ($r^2 = 0,7721$) presentes no fruto (Figura 61).

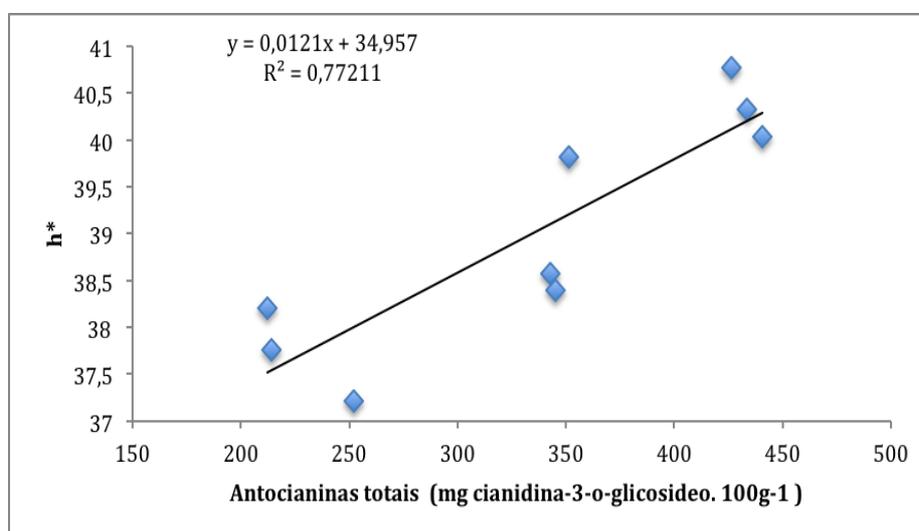


Figura 61. Correlação linear entre o teor antocianinas totais de frutos tratados (térmicos e não-térmicos) e o ângulo hue (h°) de suas respectivas bebidas.

Pacheco-Palencia e Talcott (2010) ao estudarem a estabilidade de antocianinas em açaí observaram que as mudanças dos valores hue também eram um forte indicativo do teor deste pigmento em açaí.

A diferença de cor (ΔE) entre amostras é uma ferramenta bastante útil quando se quer avaliar a habilidade do olho humano em distinguir essa diferença, quando não se utiliza painelistas treinados na análise sensorial (GOLASZ; SILVA; SILVA, 2013). O ΔE^* pode também ser utilizado como um parâmetro de qualidade para avaliar o impacto de processos de transformação da matéria prima na cor do produto final. Esta avaliação é importante, pois se a cor de um produto for diferente do padrão tradicionalmente consumido, pode-se comprometer a aceitação do mesmo e a atitude de compra pelo consumidor. Entretanto, esta diferença colorimétrica total era designada apenas para pequenas diferenças ($\Delta E^* < 10$) entre amostras, o que representava uma deficiência na percepção para aquelas diferenças maiores (GONNET, 2001). Conforme padrões utilizados pela indústria (DIN, 1979) para referenciar a distinção entre cores de diferentes amostras, valores de $\Delta E > 3,0$ seriam facilmente distinguíveis pelo olho humano e considerado um limite de tolerância aceitável (BRAINARD; STOCKMAN, 2010). Em uma classificação mais específica, $1,5 < \Delta E < 3,0$ seria considerado distinguível e $\Delta E < 1,5$ seria considerada uma pequena diferença (DRLANGE, 1999; PATRAS; TIWARI; BRUNTON, 2011). Na avaliação das diferenças de coloração entre açaís batidos em relação ao tratamento controle (cloração) houve diferenciação significativa ($p = 0,00001$) (Figura 62).

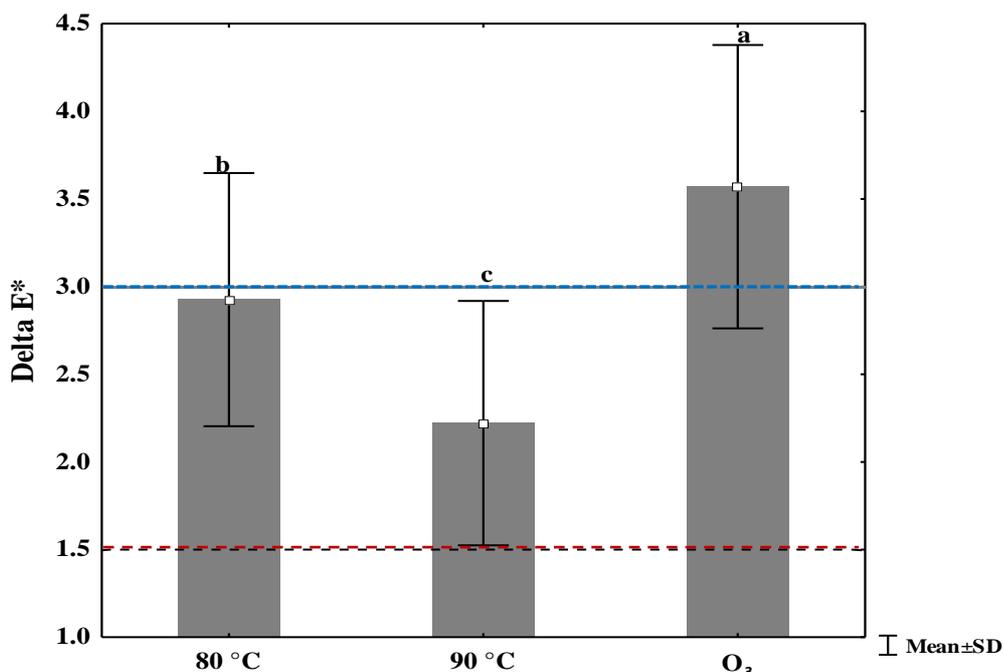


Figura 62. Diferença de cor ΔE^* entre bebidas após tratamentos dos frutos por branqueamento a 80 e 90 °C, ozonização aquosa 4 mg. L⁻¹ e o tratamento por cloração (150 mg.L⁻¹). Diferença de cor facilmente distinguível ($\Delta E < 3,0$) na linha tracejada. Pequena diferença de cor ($\Delta E < 1,5$) na linha pontilhada.

O ΔE^* do açaí batido de frutos branqueados a 90 °C (2,22) estava abaixo do limite de percepção facilmente distinguível pelo olho humano ($> 3,0$). O ΔE^* do produto final de frutos branqueados a 80 °C (2,93) estava quase no limite da percepção, enquanto que ΔE^* do açaí batido de fruto ozonizado 4 mg.L⁻¹ (3,58), pode ser percebida pelo olho humano. Esta diferenciação significativa da cor do açaí batido proveniente de frutos ozonizados em comparação com o controle pode estar associada com o elevado poder de oxidação de ozônio que ocasionou algum dano ao tecido do fruto (ÖLMEZ; AKBAS, 2009). Por outro lado, nenhum dos produtos teve $\Delta E^* > 6,0$, cuja percepção da diferença é muito grande e de fácil observação.

6. CONCLUSÕES

- O método de gotejamento de inóculo na superfície dos frutos, secagem em temperatura ambiente em fluxo laminar e posterior recuperação em meio XLD foi considerado adequado para avaliar a aderência e sobrevivência do inóculo em frutos de açaí.
- A ozonização aquosa não foi eficaz como tratamento de sanitização de frutos de açaí inoculados artificialmente, com desempenho semelhante à simples lavagem com água clorada ou destilada, comprometendo as características físico-químicas e nutricionais do fruto e a coloração do açaí batido em relação ao açaí tradicionalmente consumido, mas dentro dos limites de padrões regulamentados para polpa integral de açaí.
- O branqueamento dos frutos a 80 °C por 10s não foi eficaz na descontaminação de *E.coli* e *Salmonella* spp. inoculadas, demonstrando o mesmo desempenho sanitizante que a lavagem por cloração a 200 mg.L⁻¹ ou lavagem com água destilada. A maioria dos componentes nutricionais do fruto não foi afetada, tendo a qualidade sensorial do açaí batido preservada em relação ao açaí tradicional e com intenção de compra sinalizada positivamente pelos consumidores.
- A temperatura de 90 °C por 10s foi mais eficaz na descontaminação dos microrganismos patogênicos inoculados, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* em relação aos outros tratamentos aplicados. Para otimização deste tratamento, o mesmo deve ser combinado com o resfriamento dos frutos em água contendo um agente sanitizador, como água clorada a 50 mg.L⁻¹, evitando a infiltração e internalização do patógeno no fruto.
- A temperatura de 90 °C por 10s não afetou a maioria das características físico-químicas do fruto, mas apresentou teores de compostos fenólicos menores, notadamente das antocianinas monoméricas, influenciando seu potencial bioativo em relação ao tratamento tradicionalmente aplicado aos frutos sem tratamento térmico, mas permanecendo com teores significativamente elevados quando comparados a outras fontes alimentares destes compostos funcionais. A

qualidade sensorial do seu produto processado açaí batido foi semelhante ao tradicionalmente processado, com intenção de compra positiva expressa por consumidores regionais de açaí.

- A temperatura de 90 °C por 10s foi considerada um novo marco para o tratamento térmico na sanitização de frutos de açaí, pela maior eficácia na descontaminação de microrganismos, aumentando a garantia da oferta de um produto final mais seguro aos consumidores.

7. DESENVOLVIMENTOS FUTUROS

A adequação de novos processos de sanitização para processadores semi-artesais de açaí deve ser objeto de estudo a ser continuado, uma vez que além dos microrganismos patogênicos, a doença de Chagas também tem sido associada a surtos de contaminação pela consumo de açaí batido. Neste sentido, os tratamentos térmicos e não térmicos devem ser realizados com o protozoário causador da doença de Chagas.

Realização de estudos de validação em escala piloto da temperatura de 90 °C por 10s como tratamento térmico na sanitização de frutos de açaí, que foi a de maior eficácia na descontaminação de microrganismos patogênicos.

Realização de estudo de conservação do açaí batido levando em consideração o hábito alimentar e as condições locais, visando a extensão da vida-de-prateleira, com a manutenção das características nutricionais e qualidade sensorial.

Estudos de rastreabilidade genética da contaminação dentro da cadeia de produção do açaí.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAMIR, M. et al. Predicting the Quality of Pasteurized Vegetables Using Kinetic Models: A Review. **International Journal of Food Science**, v. 2013, p. 1–29, 2013.
- AGUIAR, F.; MENEZES, V.; ROGEZ, H. Spontaneous postharvest fermentation of açaí (*Euterpe oleracea*) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 86, p. 294–299, 2013.
- AL-HADDAD, K. S. H.; AL-QASSEMI, R. A S.; ROBINSON, R. K. The use of gaseous ozone and gas packaging to control populations of *Salmonella infantis* and *Pseudomonas aeruginosa* on the skin of chicken portions. **Food Control**, v. 16, n. 5, p. 405–410, 2005.
- ALBARICI, T. R.; VALETA, A. C.; PESSOA, J. D. C. **Efeito da temperatura nas antocianinas do açaí**: Comunicado Técnico. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2007. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/30786/1/CT862007.pdf>>.
- 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.
- ALEXANDRE, E. M. C. et al. Influence of aqueous ozone, blanching and combined treatments on microbial load of red bell peppers, strawberries and watercress. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 2, p. 277–282, 2011.
- ALLISON, A.-M. A.; GUALTIERI, T.; CRAIG-PETSINGER, D. Are young teens influenced by increased product description detail and branding during consumer testing? **Food Quality and Preference**, v. 15, n. 7-8 SPEC.ISS., p. 819–829, 2004.
- ALMEIDA, N. R. et al. Ozonized vegetable oils and therapeutic properties: A review. **Orbital - The Electronic Journal of Chemistry**, v. 4, n. 4, p. 313–326, 2012.
- ALSHIKH, N.; DE CAMARGO, A. C.; SHAHIDI, F. Phenolics of selected lentil cultivars: Antioxidant activities and inhibition of low-density lipoprotein and DNA damage. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 1022–1038, 2015.
- ALWI, N. A.; ALI, A. Reduction of *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* sv. Typhimurium populations on fresh-cut bell pepper using gaseous ozone. **Food Control**, v. 46, n. March 2012, p. 304–311, 2014.
- ANDERSON, L. et al. **Nutrição**. 17. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.
- ANEJA, K. R. et al. Emerging preservation techniques for controlling spoilage and pathogenic microorganisms in fruit juices. **International Journal of Microbiology**, v. 2014, p. 758942, 2014.
- ANGIE, A. D. et al. The influence of discrete emotions on judgement and decision-making: A meta-analytic review. **Cognition & Emotion**, v. 25, n. 8, p. 1393–1422, 2011.

APHA; AWWA; WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington, DC: APHA, AWWA, WEF, 2005.

ARAÚJO, M. C. P. et al. **Adaptação de um método por cromatografia líquida de alta eficiência para determinação de antocianinas em suco de açaí (Euterpe oleracea Mart.)**. Congresso Latino Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas, 12. **Anais...**São Carlos: Instituto Internacional de Cromatografia, 2008.

ARMSTRONG, G. L.; HOLLINGSWORTH, J.; MORRIS, J. G. Emerging Foodborne Pathogens: Escherichia coli O157:H7 as a Model of Entry of a New Pathogen into the Food Supply of the Developed World. **Epidemiologic Reviews**, v. 18, n. 1, 1996.

BARTOLOMEU, A. et al. **Modulo para comercialização do açaí em espaços urbanizados**. Seminário Nacional de Construções Sustentáveis, 2. **Anais...**Passo Fundo: NEPES, IMED, 2013.

BASU, A. Dietary Factors That Promote or Retard Inflammation. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 26, n. 5, p. 995–1001, 2006.

BAUR, S. et al. Effect of temperature and chlorination of pre-washing water on shelf-life and physiological properties of ready-to-use iceberg lettuce. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 6, n. 2, p. 171–182, 2005.

BELDA-GALBIS, C. M. et al. Antimicrobial activity of açaí against *Listeria innocua*. **Food Control**, v. 53, p. 212–216, 2015.

BELTRÁN, D. et al. Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 14, p. 5654–5663, 2005.

BEUCHAT, L. R. **Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review**. Griffin: WHO, 1998.

BEUCHAT, L. R. et al. Standardization of a method to determine the efficacy of sanitizers in inactivating human pathogenic microorganisms on raw fruits and vegetables. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. Supplement, n. 2, p. 174–178, 2003.

BEUCHAT, L. R. Difficulties in eliminating human pathogenic microorganisms on raw fruits and vegetables. **Acta Horticulturae**, v. 642, p. 151–160, 2004.

BEUCHAT, L. R.; MANN, D. A. Factors affecting infiltration and survival of *Salmonella* on in-shell pecans and pecan nutmeats. **Journal of Food Protection**, v. 73, n. 7, p. 1257–1268, 2010.

BEUCHAT, L. R.; WARD, T. E.; PETTIGREW, C. A. Comparison of chlorine and a prototype produce wash product for effectiveness in killing *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. **Journal of Food Processing Preservation**, v. 64, n. 2, p. 152–158, 2001.

BEZERRA, V. S. **Açaí congelado**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007.

BIALKA, K. L.; DEMIRCI, A. Decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on Blueberries Using Ozone and Pulsed UV-Light. **Journal of Food Safety**, v. 9, p. 391–396, 2007.

BLASCO, A. J. et al. “Electrochemical index” as a screening method to determine “total polyphenolics” in foods: A proposal. **Analytica Chimica Acta**, v. 539, n. 1-2, p. 237–244, 2005.

BOWER, J. A.; SAADAT, M. A.; WHITTEN, C. Effect of liking, information and consumer characteristics on purchase intention and willingness to pay more for a fat spread with a proven health benefit. **Food Quality and Preference**, v. 14, n. 1, p. 65–74, 2003.

BRAINARD, D. H.; STOCKMAN, A. Colorimetry. In: BASS, M.; ENOCH, J. M.; LAKSHMINARAYANAN, V. (Eds.). **Handbook of optics: vision and vision optics**. 3. ed. China: McGraw-Hill, 2010. v. 3p. 10.1–10.56.

BRASIL. **Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta**. Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2000.

BRASIL. **Resolução RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002. Regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos**. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2002.

BRASIL. **Resolução RDC n. 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados**. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2003.

BRASIL. **Resolução RDC Nº 218, de 29 de julho de 2005. Regulamento Técnico de procedimentos higiênico-sanitários para manipulação de alimentos e bebidas preparados com vegetais**. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005.

BRASIL. **Região Norte: municípios com simples desinfecção por cloração**. Disponível em: <http://www.aguabrasil.icict.fiocruz.br/index.php?pag=c_r_i>. Acesso em: 5 fev. 2015a.

BRASIL. **Informe Técnico nº 35. Gerenciamento do risco sanitário na transmissão de doença de chagas aguda por alimentos**. Brasília, DF: [s.n.].

BRASIL. **População residente: região Norte**. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?ibge/cnv/popuf.def>>. Acesso em: 8 jan. 2016.

BRASIL. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2. ed. Brasília: Brasil. Ministério Da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica., 2014.

BRITO, E. S. et al. Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 9389–9394, 2007.

CAMARGO, A. C. et al. Gamma-irradiation induced changes in microbiological status, phenolic profile and antioxidant activity of peanut skin. **Journal of Functional Foods**, v. 12, p. 129–143, 2015.

CANUTO, G. A. B. et al. Caracterização físico-química de polpas de frutos da amazonia e sua correlação com atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196–1205, 2010.

CANUTO, G. A. B. et al. Development and validation of a liquid chromatography method for anthocyanins in strawberry (*Fragaria* spp.) and complementary studies on stability, kinetics and antioxidant power. **Food Chemistry**, v. 192, p. 566–574, 2016.

CAO, S. et al. A comparison of two determination methods for studying degradation kinetics of the major anthocyanins from blood orange. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 1, p. 245–249, 2009.

CARVALHO, A. C. A. **Economia dos Produtos Florestais não-madeireiros no Estado do Amapá: Sustentabilidade e Desenvolvimento Endógeno**. [s.l.] Belém: Universidade Federal do Pará, 2010.

CASTAÑEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859–871, 2009.

CASTEEL, M. J.; SCHMIDT, C. E.; SOBSEY, M. D. Chlorine disinfection of produce to inactivate hepatitis A virus and coliphage MS2. **International Journal of Food Microbiology**, v. 125, n. 3, p. 267–273, 2008.

CASTRO, R. W. **Caracterização de açaí obtido de frutos de *Euterpe edulis* Martius tratados termicamente**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.

CAVALCANTI, R. N.; SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems-An overview. **Food Research International**, v. 44, n. 2, p. 499–509, 2011.

CHAVES, J. B. P. **Métodos de diferença em avaliação sensorial de alimentos e bebidas**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2013.

CHAWLA, S. et al. Amperometric determination of total phenolic content in wine by laccase immobilized onto silver nanoparticles/zinc oxide nanoparticles modified gold electrode. **Analytical Biochemistry**, v. 430, n. 1, p. 16–23, 2012.

CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 223S–229, 2005.

CHIEWCHAN, N.; PRAPHRAIPHETCH, C.; DEVAHASTIN, S. Effect of pretreatment on surface topographical features of vegetables during drying. **Journal of Food Engineering**, v. 101, n. 1, p. 41–48, 2010.

CHO, M.; CHUNG, H.; YOON, J. Disinfection of Water Containing Natural Organic Matter by Using Ozone-Initiated Radical Reactions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 4, p. 2284–2291, 2003.

CHOI, M.-R. et al. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in apple juice with gaseous ozone. **Food Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 191–195, 2012.

CHYLINSKI, M.; NORTHEY, G.; NGO, L. V. Cross-modal interactions between color and texture of food. **Psychology & Marketing**, v. 32, n. 9, p. 950–966, 2015.

CIVILLE, G. V.; OFTEDAL, K. N. Sensory evaluation techniques — Make “good for you” taste “good”. **Physiology & Behavior**, v. 107, n. 4, p. 598–605, 2012.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Standard for olive oils and olive pomace oils: codex stan 33-1981**. FAO/WHO, 2015.

COELHO, C. C. S. et al. Ozonização como tecnologia pós-colheita na conservação de frutas e hortaliças: Uma revisão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 4, p. 369–375, 2015.

COHEN, K. O. et al. Contaminantes microbiológicos em polpas de açaí comercializadas na cidade de Belém-PA. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, n. 2, p. 524–530, 2011.

CONCHA-MEYER, A. et al. Survival of *Listeria monocytogenes* on Fresh Blueberries (*Vaccinium corymbosum*) Stored under Controlled Atmosphere and Ozone. **Journal of Food Protection**, v. 77, n. 5, p. 832–6, 2014.

CORRÊA, C. B. et al. Avaliação sensorial de bolo com resíduo de casca de abacaxi para suplementação do teor de fibras. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 3, p. 377–383, 2010.

COSGROVE, S.; CRONQUIST, A. Multistate outbreak of listeriosis associated with jensen farms cantaloupe, United States, august-september 2011. **The Journal of the American Medical Association**, v. 60, p. 1357–1358, 2011.

COSTA, C. et al. Shape Analysis of Agricultural Products: A Review of Recent Research Advances and Potential Application to Computer Vision. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 5, p. 673–692, 2011.

CRUZ, A. P. G. **Avaliação do efeito da extração e da microfiltração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante**. [s.l.] Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

CULLEN, P. J. et al. Modelling approaches to ozone processing of liquid foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20, n. 3-4, p. 125–136, 2009.

DALL’ACQUA, Y. G. et al. Discrimination of *Euterpe Oleracea* Mart. (Açaí) and *E. uterpe Edulis* Mart. (Juçara) Intact Fruit Using Near-Infrared (NIR) Spectroscopy and Linear Discriminant Analysis. **Journal of Food Processing and Preservation**, p. n/a–n/a, 2015.

DAMODARAM, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DAVIS, M. J.; COOTE, P. J.; O’BYRNE, C. P. Acid tolerance in *Listeria monocytogenes*: the adaptive acid tolerance response (ATR) and growth-phase-dependent acid resistance. **Microbiology**, v. 142, p. 2975–2982, 1996.

DE GIUSTI, M. et al. The evaluation of the microbial safety of fresh ready-to-eat vegetables produced by different technologies in Italy. **Journal of Applied Microbiology**, v. 109, n. 3, p. 996–1006, 2010.

DEL POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical Composition and Pigment Stability of Acai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 6, p. 1539–1545, 2004.

DELIZA, R.; ROSENTHAL, A. Inovação e o consumidor. In: ROSENTHAL, A. (Ed.). **Tecnologia de alimentos e inovação: tendências e perspectivas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 73–90.

DELLA MODESTA, R. C. **Manual de análise sensorial de alimentos e bebidas**. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, 1994.

DIAS, A. L. S. et al. A rapid validated UHPLC-PDA method for anthocyanins quantification from *Euterpe oleracea* fruits. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 907, p. 108–116, 2012.

DIN. **DIN 6174. Farbmétrische Bestimmung von Farbabständen Bei Körperfarben nach der CIELAB-Formel**. Berlim und Köln DEUTSCHE INSTITUT für NORMUNG, , 1979.

DRICHOUTIS, A. C. et al. A theoretical and empirical investigation of nutritional label use. **European Journal of Health Economics**, v. 9, p. 293–304, 2008.

DRLANGE. **Objective colour assesment and quality control in the chemical, pharmaceutical and consmetic industries. Application report no. 3.8e**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.drlange.com>>.

DUCKE, A. Plantas de cultura precolombiana na Amazônia Brasileira. Notas sôbre as espécies ou formas espontâneas que supostamente lhes teriam dado origem. **Boletim Técnico do Instituto Agrônômico do Norte**, v. 8, p. 4, 1946.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 4. ed. Curitiba: Champagnat, 2013.

EL DINE, A.; OLABI, A. Effect of reference foods in repeated acceptability tests: Testing familiar and novel foods using 2 acceptability scales. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 2, p. S97–106, 2009.

ETO, D. K. et al. Qualidade microbiológica e físico-química da polpa e mix de açaí armazenada sob congelamento. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 3, p. 304–310, 2010.

FAO/WHO. **Risk assessment of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods**FAO/WHO **Microbiological Risk Assessment Series**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42875/1/9241562625.pdf?ua=1>>.

FARIA, M.; OLIVEIRA, L. B. D.; COSTA, F. E. C. Determinação da qualidade microbiológica de polpas de açaí congeladas comercializadas na cidade de Pouso Alegre – MG. **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 2, p. 243–249, 2012.

- FAVACHO, H. A S. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of Euterpe oleracea oil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, n. 1, p. 105–114, 2011.
- FETT, W. F. Naturally occurring biofilms on alfafa and other types of sprouts. **Journal of Food Protection**, v. 625-632, p. 563–863, 2000.
- FIGIEL, A.; TAJNER-CZOPEK, A. The effect of candy moisture content on texture. **Journal of Foodservice**, v. 17, n. 4, p. 189–195, 2006.
- FLESCHHUT, J. et al. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in vitro. **European Journal of Nutrition**, v. 45, n. 1, p. 7–18, 2006.
- FOLIN, O.; CIOCALTEU, V. Tyrosine and tryptophan determinations proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 73, p. 627, 1927.
- FOOD SAFETY AUTHORITY OF IRELAND (ED.). **The control and management of Listeria monocytogenes: contamination of food**. Dublin: Food Safety Authority of Ireland, 2005.
- FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.
- FRANKEL, E. N.; MEYER, A. S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 1941, n. March, p. 1925–1941, 2000.
- FREGONESE, B. M. et al. Polpa de açaí congelada: características nutricionais, físico-químicas, microscópicas e avaliação da rotulagem. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 3, p. 387–395, 2010.
- FREITAS-SILVA, O.; MORALES-VALLE, H.; VENÂNCIO, A. Potential of Aqueous Ozone to Control Aflatoxicogenic Fungi in Brazil Nuts. **ISRN Biotechnology**, v. 2013, p. 6, 2013.
- FREITAS-SILVA, O.; VENÂNCIO, A. Ozone applications to prevent and degrade mycotoxins: a review. **Drug Metabolism Reviews**, v. 42, n. 4, p. 612–620, 2010.
- FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative Methods for Anthocyanins. **Journal of Food Science**, v. 33, n. 1, p. 72–77, 1968.
- GABRIEL, A. A.; NAKANO, H. Inactivation of Salmonella, E. coli and Listeria monocytogenes in phosphate-buffered saline and apple juice by ultraviolet and heat treatments. **Food Control**, v. 20, n. 4, p. 443–446, abr. 2009.
- GAMELLA, M. et al. Electrochemical estimation of the polyphenol index in wines using a laccase biosensor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 21, p. 7960–7967, 2006.
- GANDHI, M.; CHIKINDAS, M. L. Listeria: A foodborne pathogen that knows how to survive. **International Journal of Food Microbiology**, v. 113, n. 1, p. 1–15, 2007.

GARCÍA-GUZMÁN, J. J. et al. Selective methods for polyphenols and sulphur dioxide determination in wines. **Food Chemistry**, v. 182, p. 47–54, 2015.

GAZE, J. E. **Pasteurisation: a food industry practical guide. Guideline 51**. 2. ed. Gloucestershire: Campden & Chorleywood Food Research Association Group, 2006.

GEORGÉ, S. et al. Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1370–1373, 2005.

GIRONÉS-VILAPLANA, A. et al. New isotonic drinks with antioxidant and biological capacities from berries (maqui, açai and blackthorn) and lemon juice. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 64, n. 7, p. 897–906, 2013.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, p. 1–13, 2001.

GLANZ, K. et al. Why americans eat what they do: taste, nutrition, cost, convenience, and weight control concerns as influences on food consumption. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 98, n. 10, p. 1118–1126, 1998.

GOLASZ, L.; SILVA, J.; SILVA, S. Film with anthocyanins as an indicator of chilled pork deterioration. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 2012, p. 155–162, 2013.

GOMES, C.; MOREIRA, R. G.; CASTELL-PEREZ, E. Radiosensitization of Salmonella spp. and Listeria spp. in Ready-to-Eat Baby Spinach Leaves. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 1, p. E141–E148, 2011.

GOMES, J. **Selo “bom açai” identifica açai de qualidade**. Disponível em: <<http://www.agenciabelem.com.br/Galeria/Details/55353>>. Acesso em: 20 dez. 2015.

GONNET, J.-F. Colour effects of co-pigmentation of anthocyanin revisited — 3 . A further description using CIELAB differences and assessment of matched colours using the CMC model. **Food Chemistry**, v. 75, p. 473–485, 2001.

GOODBURN, C.; WALLACE, C. A. The microbiological efficacy of decontamination methodologies for fresh produce: A review. **Food Control**, v. 32, n. 2, p. 418–427, 2013.

GORDON, A. et al. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açai fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. **Food Chemistry**, v. 133, n. 2, p. 256–263, 2012.

GOUVÊA, A. C. M. S. et al. Anthocyanins standards (cyanidin-3-O-glucoside and cyanidin-3-O-rutinoside) isolation from freeze-dried açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) by HPLC. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 1, p. 43–46, 2012.

GREENHOFF, K.; MACFIE, H. J. L. Preference mapping in practice. In: MACFIE, H. J. H.; THOMSON, D. M. H. (Eds.). **Measurements of food preferences**. London: Blackie Academic & Professional, Blackie Academic & Professional, 1994. p. 137–166.

GÜLÇİN, I. Antioxidant activity of food constituents: An overview. **Archives of Toxicology**, v. 86, n. 3, p. 345–391, 2012.

GUO, X. et al. Survival of Salmonellae on and in Tomato Plants from the Time of Inoculation at Flowering and Early Stages of Fruit Development through Fruit Ripening. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 10, p. 4760–4764, 2001.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Practice**, v. 22, p. 475–494, 1973.

HASSIMOTTO, N. M. A.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 8, p. 2928–2935, 2005.

HEINRICH, M.; DHANJI, T.; CASSELMAN, I. Aai (*Euterpe oleracea* Mart.) - A phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. **Phytochemistry Letters**, v. 4, n. 1, p. 10–21, 2011.

HELENO, S. A. et al. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v. 173, p. 501–513, 2015.

HENDERSON, A. The genus *Euterpe* in Brazil. **Sellowia**, n. 49/52, p. 1–22, 2000.

HORIGUCHI, T. et al. Inhibitory effect of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp on IgE-mediated mast cell activation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 10, p. 5595–601, 2011.

HUA, G.; RECKHOW, D. A. Comparison of disinfection byproduct formation from chlorine and alternative disinfectants. **Water Research**, v. 41, n. 8, p. 1667–1678, 2007.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 2005.

HUNT, N. K.; MARIN, B. J. Inactivation of *Escherichia coli* with ozone: chemical and inactivation kinetics. **Water Research**, v. 33, n. 11, p. 2633–2641, 1999.

HURLING, R.; SHEPHERD, R. Eating with your eyes: Effect of appearance on expectations of liking. **Appetite**, v. 41, n. 2, p. 167–174, 2003.

IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao/default_zip_uf.shtm>. Acesso em: 19 nov. 2015.

IBGE. **Banco de dados agregados**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo1.asp?e=v&t=71&p=VS&z=&o=>>>. Acesso em: 21 ago. 2015.

ICMSF. **Microbiological testing in food safety management**. New York: Springer, 2001.

INÁCIO, M. R. C. et al. Total anthocyanin content determination in intact açai (*Euterpe oleracea* Mart.) and palmitero-juçara (*Euterpe edulis* Mart.) fruit using near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate calibration. **Food Chemistry**, v. 136, n. 3-4, p. 1160–1164, 2013.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 1a. edição ed.São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

IQBAL, A. et al. Classification of pre-sliced pork and Turkey ham qualities based on image colour and textural features and their relationships with consumer responses. **Meat Science**, v. 84, n. 3, p. 455–65, 2010.

IVANEK, R.; GRÖHN, Y. T.; WIEDMANN, M. *Listeria monocytogenes* in Multiple Habitats and Host Populations: Review of Available Data for Mathematical Modeling. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 3, n. 4, p. 319–338, 2006.

JEMAA, S. et al. Evidence for population complexity of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) along its distributional range. **Fisheries Research**, v. 168, p. 109–116, 2015.

JENSEN, D. A. et al. Cross contamination of *Escherichia coli* O157:H7 between lettuce and wash water during home-scale washing. **Food Microbiology**, v. 46, p. 428–433, 2015.

JIMÉNEZ-AGUILAR, D. M. et al. Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 6, p. 889–894, 2011.

KANG, J. et al. Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 610–617, 2010.

KANG, J. et al. Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. **Food Chemistry**, v. 128, n. 1, p. 152–157, 2011.

KANG, J. et al. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chemistry**, v. 133, n. 3, p. 671–677, 2012.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123–140, 2004.

KAYS, S. J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. [s.l.] Exon Press, 1997.

KAYS, S. J. Preharvest factors affecting appearance. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, p. 233–247, 1999.

KECHINSKI, C. P. et al. Effects of ozonized water and heat treatment on the papaya fruit epidermis. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 2, p. 118–122, 2012.

KENNEY, S. J.; BEUCHAT, L. R. Comparison of aqueous commercial cleaners for effectiveness in removing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella muenchen* from the surface of apples. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, n. 1-2, p. 47–55, 2002.

KETTERINGHAM, L. et al. Application of aqueous ozone for treating pre-cut green peppers (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Food Engineering**, v. 76, n. 1, p. 104–111, 2006.

KEUTGEN, A. J.; PAWELZIK, E. Influence of pre-harvest ozone exposure on quality of strawberry fruit under simulated retail conditions. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, n. 1, p. 10–18, 2008.

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E.; KIM, J. G. Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food : A Review. **Journal of Food Safety**, v. 66, n. 9, p. 1242–1252, 2001.

KIM, J.-G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, v. 62, n. 9, p. 1071–1087, 1999.

KIM, S. A.; RHEE, M. S. Synergistic antimicrobial activity of caprylic acid in combination with citric acid against both *Escherichia coli* O157:H7 and indigenous microflora in carrot juice. **Food Microbiology**, v. 49, p. 166–172, ago. 2015.

KLOPOTEK, Y.; OTTO, K.; 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.

KONG, F. et al. Kinetics of salmon quality changes during thermal processing. **Journal of Food Engineering**, v. 83, n. 4, p. 510–520, 2007.

KONIKA MINOLTA. **Comunicação precisa da cor: controle de cor da percepção à instrumentação**. Osaka: Konika Minolta Sensing Americas, [s.d.].

LANDGRAF, M. Microrganismos indicadores. In: **Microbiologia de alimentos**. São Carlos: Atheneu, 2008. p. 27–31.

LANG, M. M.; HARRIS, L. J.; BEUCHAT, L. R. Survival and recovery of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* on lettuce and parsley as affected by method of inoculation, time between inoculation and analysis, and treatment with chlorinated water. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 6, p. 1092–1103, 2004.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 5, p. 1269–1278, 2005.

LEE, K.-M. et al. Review of *Salmonella* detection and identification methods: aspects of rapid emergency response and food safety. *Food Control* 47 (2015) 264-276. **Food Control**, v. 47, p. 264–276, 2015.

LEÓN, K. et al. Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. **Food Research International**, v. 39, n. 10, p. 1084–1091, 2006.

LEVI, M. A. B. et al. Three-way chemometric method study and UV-Vis absorbance for the study of simultaneous degradation of anthocyanins in flowers of the *Hibiscus rosa-sinensis* species. **Talanta**, v. 62, n. 2, p. 299–305, 2004.

- LI, X. E.; JERVIS, S. M.; DRAKE, M. A. Examining Extrinsic Factors that Influence Product Acceptance: A Review. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 5, p. R901–R909, 2015.
- LIAO, H. et al. Inactivation of *Escherichia coli* inoculated into cloudy apple juice exposed to dense phase carbon dioxide. **International Journal of Food Microbiology**, v. 118, n. 2, p. 126–131, 2007.
- LICHTENTHÄLER, R. et al. Total oxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) fruits. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 56, n. February, p. 53–64, 2005.
- LONG III, W. et al. Efficacy of ozone produce washers in reducing natural and artificially inoculated microorganisms on roma tomatoes and green onions. **Journal of Food Safety**, v. 31, n. 2, p. 268–275, 2011.
- MACFIE, H. J.; BRATCHELL, N. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in Hall Tests. **Journal of Sensory Studies**, v. 4, p. 129–148, 1989.
- MALCHER, E. S. L. T.; AMARAL, A. S. M. Estudo da cadeia de comercialização de açaí nos municípios de Macapá, Santana, Mazagão e Laranjal do Jari, AP. **Higiene Alimentar**, v. 22, p. 168–169, 2009.
- MALCHER, E. T.; CARVALHO, J. C. T. The influence of seasonality on the anthocyanin concentrations in the açaí fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) from the brazilian amazon. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, v. 1, n. 3, p. 224–232, 2011.
- MARCELINO, A. S. et al. Internal and external determinants of eating initiation in humans. **Appetite**, v. 36, n. 1, p. 9–14, 2001.
- MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1218–1223, 2008.
- MARTINEZ-PERÍÑAN, E. et al. Estimation of beer stability by sulphur dioxide and polyphenol determination. Evaluation of a Laccase-Sonogel-Carbon biosensor. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 234–239, 2011.
- MATTIETTO, R. A. et al. **Avaliação de perdas de antocianinas totais ao longo da linha de processamento de polpa de açaí pasteurizada e congelada**. Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 8. **Anais...**Campinas: Unicamp, 2009.
- MATTIETTO, R.; MATTA, V.; FREITAS, D. DE G. C. **Total phenolics and anthocyanins contents of açaí pulp after pasteurization**. World Congress of Food Science and Technology. **Anais...**Durban: SAAFoST, 2010.
- MAZZA, G.; BROUILLARD, R. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. **Phytochemistry**, v. 29, n. 4, p. 1097–1102, 1990.

MCCAIG, T. N. Extending the use of visible/near-infrared reflectance spectrophotometers to measure colour of food and agricultural products. **Food Research International**, v. 35, p. 731–736, 2002.

MEILGAARD, M. C.; CARR, B. T.; CIVILLE, G. V. **Sensory evaluation techniques**. 4th. ed. [s.l.] CRC Press, 2006.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Instrumental measurement of orange juice colour: A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. May 2004, p. 894–901, 2005.

MENDOZA, F.; AGUILERA, J. M. Application of Image Analysis for Classification of Ripening Bananas. **Food Engineering and Physical Properties**, v. 69, n. 9, p. E471–477, 2004.

MERKEN, H. M.; BEECHER, G. R. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 577–599, 2000.

MERTENS-TALCOTT, S. U. et al. Pharmacokinetics of anthocyanins and antioxidant effects after the consumption of anthocyanin-rich açai juice and pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in human healthy volunteers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 17, p. 7796–7802, 2008.

METZ, J. **Interpretação de clusters gerados por algoritmos de clustering hierárquico**. [s.l.] Universidade de São Paulo, jun. 2006.

MICHALSKA, M. et al. The role of polyphenols in cardiovascular disease. **Medical Science Monitor**, v. 16, n. 5, p. RA110–A119, 2010.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial Estudos com Consumidores**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2013.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109–122, 2006.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, n. 1-2, p. 95–111, 2004.

NASCIMENTO, J. S. et al. Composicao em ácidos graxos do óleo da polpa de açai extraído com enzimas e com hexano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 498–502, 2008.

NATURSTOFFWIKI. **Anthocyanidine**. Disponível em: <<http://de.naturalproducts.wiki/flavonoide>>. Acesso em: 19 dez. 2015.

NEIDA, S.; ELBA, S. Caracterización del acai o manaca (*euterpe oleracea* mart.): un fruto del amazonas. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 57, n. 1, p. 94–98, 2007.

NÓBREGA, A. A. et al. Oral transmission of chagas disease by consumption of *A??a??* palm fruit, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 4, p. 653–655, 2009.

NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B. **Manual de Laboratórios: Solo, Água, Nutrição Vegetal, Nutrição Animal e Alimentos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005.

NOGUEIRA, O. L.; FIGUEIRÊDO, F. J. C.; MÜLLER, A. A. **Açaí**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005.

NORATTO, G. D. et al. Polyphenolics from Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) and red muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) protect human umbilical vascular endothelial cells (HUVEC) from glucose- and lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and target microRNA-126. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 14, p. 7999–8012, 2011.

O'DONNELL, C. et al. (EDS.). **Ozone in food processing**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2012.

OHTA, N.; ROBERTSON, A. R. **Colorimetry: Fundamentals and Applications**. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltda., 2005.

OLAIMAT, A. N.; HOLLEY, R. A. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: A review. **Food Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 1–19, 2012.

OLIVEIRA, A. R. M.; WOSCH, C. L. Ozonólise: a busca por um mecanismo. **Química Nova**, v. 35, n. 7, p. 1482–1485, 2012.

OLIVEIRA, M. S. P. et al. **Cultivo do açaizeiro para produção de frutos**: Circular Técnica. Belém: [s.n.]. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/18827/1/Circ.tec.26.pdf>>.

OLIVEIRA, M. S. P.; FARIAS NETO, J. T.; PENA, R. S. **Açaí: técnicas de cultivo e processamento**. Fortaleza: [s.n.].

OLIVEIRA, M. S. P.; MOCHIUTTI, S.; FARIAS NETO, J. T. Domesticação e melhoramento do açaizeiro. In: BOREM, A.; LOPES, M. T. G.; CLEMENT, C. R. (Eds.). **Domesticação e melhoramento: espécies amazônicas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2009. p. 207–235.

ÖLMEZ, H.; AKBAS, M. Y. Optimization of ozone treatment of fresh-cut green leaf lettuce. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 4, p. 487–494, 2009.

ORSI, R. H.; BAKKER, H. C. DEN; WIEDMANN, M. *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 301, n. 2, p. 79–96, 2011.

PACHECO-PALENCIA, L. A. **Phytochemical, antioxidant and color stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by processing and storage in juice and model systems**. [s.l.] University of Florida, 2006.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; DUNCAN, C. E.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. **Food Chemistry**, v. 115, n. 4, p. 1199–1205, 2009.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P.; TALCOTT, S. T. Juice matrix composition and ascorbic acid fortification effects on the phytochemical, antioxidant and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chemistry**, v. 105, n. 1, p. 28–35, 2007a.

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

PACHECO-PALENCIA, L. A.; TALCOTT, S. T. Chemical stability of açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) anthocyanins as influenced by naturally occurring and externally added polyphenolic cofactors in model systems. **Food Chemistry**, v. 118, n. 1, p. 17–25, 2010.

PALLOTTINO, F. et al. Image Analysis Techniques for Automated Hazelnut Peeling Determination. **Food and Bioprocess Technology**, v. 3, n. 1, p. 155–159, 2010.

PARÁ. **Termo de compromisso de ajustamento de conduta bateadeiras artesanais que produzem suco de açai**. Ministério Público, 2007a.

PARÁ. **Termo de compromisso de ajustamento de conduta agroindústrias que comercializam suco e polpa de açai**. Ministério Público, 2007b.

PARÁ. **Decreto nº 326, de 20 janeiro 2012 Regulamenta a produção artesanal de açai**, 2012a. Disponível em: <<http://www.sagri.pa.gov.br/files/pdfs/D E C R E T O N%C2%BA 326-2012.pdf>>

PARÁ. **Produção de açai**. Disponível em: <http://www.sagri.pa.gov.br/posts/subarea/lista_de_estabelecimentos_com_certificado_de_qualidade/producao_de_acai>. Acesso em: 18 out. 2015b.

PARISH, M. E. et al. Methods to Reduce/Eliminate Pathogens from Fresh and Fresh-Cut Produce. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 2, n. s1, p. 161–173, 2003.

PASCUAL-TERESA, S.; MORENO, D. A.; GARCÍA-VIGUERA, C. **Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: A review of current evidence** *International Journal of Molecular Sciences*, 2010.

PATIL, S. et al. Safety and quality assessment during the ozonation of cloudy apple juice. **Journal of Food Science**, v. 75, p. 1–8, 2010.

PATRAS, A.; TIWARI, B. K. K.; BRUNTON, N. P. P. Influence of blanching and low temperature preservation strategies on antioxidant activity and phytochemical content of carrots, green beans and broccoli. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 1, p. 299–306, 2011.

PATRAS, A. et al. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 1, p. 3–11, 2010.

PAULA, G. A. **Caracterização físico-química e estudo do escurecimento enzimático em produtos derivados de açai (*Euterpe oleracea* Mart.)**. [s.l.] Universidade Federal do Ceará, 2007.

PAVAN, M. A.; SCHMIDT, S. J.; FENG, H. Water sorption behavior and thermal analysis of freeze-dried, Refractance Window-dried and hot-air dried açai (*Euterpe oleracea* Martius) juice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 75–81, 2012.

PEREIRA, K. S. et al. Chagas' disease as a foodborne illness. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 2, p. 441–446, 2009.

PHUA, L. K. et al. Comparison of the efficacy of various sanitizers and hot water treatment in inactivating inoculated foodborne pathogens and natural microflora on mung bean sprouts. **Food Control**, v. 42, p. 270–276, 2014.

PINTO, A. S. O. et al. **Avaliação sensorial de açai branqueado, como estratégia na prevenção da doença de Chagas por transmissão oral**. Fórum de Vigilância Sanitária. **Anais...Brasília: Anvisa**, 2009.

POLL, H. et al. **Anuário brasileiro de fruticultura**. Santa Cruz do Sul: [s.n.].

POMPEU, D. R.; BARATA, V. C. P.; ROGEZ, H. Impacto da refrigeração sobre variáveis de qualidade dos frutos de açazeiro. **Alimenta**, v. 20, n. 1, p. 141–148, 2009.

POMPEU, D. R.; SILVA, E. M.; ROGEZ, H. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 6076–6082, dez. 2009.

PRODANOV, M. P. et al. Some aspects of the quantitative/qualitative assessment of commercial anthocyanin-rich extracts. **Food Chemistry**, v. 90, p. 585–596, 2005.

RABELO, A. **Árvores frutíferas da Amazônia: açai do Pará**. Disponível em: <http://arvores-frutiferas.blogspot.com.br/2013_07_01_archive.html>. Acesso em: 10 out. 2015.

RAMESH, M. N. et al. Microwave blanching of vegetables. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 1, p. 390–398, 2002.

RAMOS, B. et al. Fresh fruits and vegetables - An overview on applied methodologies to improve its quality and safety. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 20, p. 1–15, 2013.

RAWSON, A. et al. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1875–1887, 2011.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231–1237, 1999.

REIN, M. J. **Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins**. [s.l.] University of Helsinki, 2005.

REIS, C. M. F. DOS et al. Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* human strains isolated from 1970 to 2008 in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 173–176, 2011.

RESTAINO, L.; FRAMPTON, E. W.; HEMPHILL, J. B. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 9, p. 3471–3475, 1995.

RICO, D. et al. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, n. 7, p. 373–386, 2007.

ROBINSON, J. C.; BEREAU, D.; FAHRASMANE, L. Euterpe Oleracea Mart. Berries as Raw Material in Agro-Processes and Consumers Expectancies in French Guiana. **Journal of Food Processing & Technology**, v. 04, n. 04, p. 4–8, 2013.

ROGEZ, H. et al. Branqueamento dos frutos de açai (Euterpe oleracea Mart.) para a diminuição da carga microbiana do suco. **Anais Associação Brasileira de Química**, v. 45, n. 4, p. 177–184, 1996.

ROGEZ, H. **Açai: preparo, composição e melhoramento da conservação**. Belém: Edufpa, 2000.

ROGEZ, H. et al. Kinetic Modeling of Anthocyanin Degradation and Microorganism Growth during Postharvest Storage of Açai Fruits (Euterpe oleracea). **Journal of Food Science**, v. 77, n. 12, p. 1299–1305, 2012.

ROJANO, B. A. et al. Polifenoles y actividad antioxidante del fruto liofilizado de palma naidi (acai colombiano) (Euterpe oleracea Mart.). **Revista Facultad Nacional Agronomía - Medellín**, v. 64, n. 2, p. 6213–6220, 2011.

ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Evaluation of colour and stability of anthocyanins from tropical fruits in an isotonic soft drink system. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 8, n. 3, p. 347–352, 2007.

ROZADO, A. F. et al. Aplicação de ozônio contra Sitophilus zeamais e Tribolium castaneum em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, n. 3, p. 282–285, 2008.

RUBINSKIENE, M. et al. HPLC Determination of the Composition and Stability of Blackcurrant Anthocyanins. **Journal of Chromatographic Science**, v. 43, n. October, p. 478–482, 2005.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Açai (Euterpe oleraceae) “BRS Pará”: A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2100–2106, 2011.

RUFINO, M. S. M. et al. **Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS**: Comunicado Técnico. Fortaleza: [s.n.]. Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/download_publicacao.php?id=209>.

RUIZ-CRUZ, S. et al. Efficacy of sanitizers in reducing Escherichia coli O157:H7, Salmonella spp. and Listeria monocytogenes populations on fresh-cut carrots. **Food Control**, v. 18, n. 11, p. 1383–1390, 2007.

RUIZ-OJEDA, L. M.; PEÑAS, F. J. Comparison study of conventional hot-water and microwave blanching on quality of green beans. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 20, p. 191–197, 2013.

RUSSEL, A. D.; HUGO, W. B.; AVLIFFE, G. A. J. **Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization**. 3rd. ed. Oxford: Blackwell Science, 1999.

SABBE, S. et al. Effect of a health claim and personal characteristics on consumer acceptance of fruit juices with different concentrations of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Appetite**, v. 53, n. 1, p. 84–92, ago. 2009.

SABBE, S.; VERBEKE, W.; VAN DAMME, P. Perceived Motives, Barriers and Role of Labeling Information on Tropical Fruit Consumption: Exploratory Findings. **Journal of Food Products Marketing**, v. 15, n. 2, p. 119–138, 2009.

SADILOVA, E.; CARLE, R.; STINTZING, F. C. Thermal degradation of anthocyanins and its impact on color and in vitro antioxidant capacity. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 51, n. 12, p. 1461–1471, 2007.

SADILOVA, E.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 8, 2006.

SANT'ANA, A. S. et al. Prevalence, populations and pheno- and genotypic characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat vegetables marketed in São Paulo, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 155, n. 1-2, p. 1–9, 2012.

SANTANA, A. C. et al. Análise discriminante múltipla do mercado varejista de açai em Belém do Pará. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 3, p. 532–541, 2014.

SANTANA, A. C.; CARVALHO, D. F.; MENDES, F. A. T. **Organização e competitividade das empresas de polpa de frutas do estado do Pará: 1995 a 2004**. Belém: Unama, 2010.

SANTIAGO, M. C. P. A. et al. **Adaptação de um método pro cromatografia líquida de alta eficiência para análise de antocinainas em suco de açai (*Euterpe oleraceae* Mart.): Comunicado Técnico**. Rio de Janeiro: [s.n.].

SANTOS, C. A. D. A.; COELHO, A. F. S.; CARREIRO, S. C. Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 913–915, 2008.

SCALLAN, E. et al. Foodborne illness acquired in the United States-Major pathogens. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 7–15, 2011.

SCHAUSS, A. G. et al. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazonian palm berry, *Euterpe oleraceae* Mart. (Acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 22, p. 8598–8603, 2006a.

SCHAUSS, A. G. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.): A macro and nutrient rich palm fruit from the amazon rain forest with demonstrated bioactivities in vitro and in Vivo. In: **Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables**. [s.l.] Elsevier, 2010. p. 479–490.

SCHAUSS, A. L. G. et al. Antioxidant Capacity and Other Bioactivities of the Freeze-Dried Amazonian Palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 8604–8610, 2006b.

SENAI/SEBRAE/SESI/SESC/SENAC. **PAS AÇAÍ Manual de segurança e qualidade para a cadeia do açaí**. Brasília: SEBRAE, 2013.

ŠERUGA, M.; NOVAK, I.; JAKOBEK, L. Determination of polyphenols content and antioxidant activity of some red wines by differential pulse voltammetry, HPLC and spectrophotometric methods. **Food Chemistry**, v. 124, n. 3, p. 1208–1216, 2011.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects, applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, p. 331, 1996.

SHEPHERD, R. et al. Constraints on dietary choice: the role of income. **Nutrition & Food Science**, v. 96, n. 5, p. 19–21, 1996.

SHEPHERD, R.; TOWLER, G. Nutrition knowledge, attitudes and fat intake: application of the theory of reasoned action. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 20, n. 3, p. 159–169, 2007.

SILVA, J. J. M. DA; ROGEZ, H. Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo bruto de açaí (*Euterpe oleracea*) na presença de compostos fenólicos puros ou de extratos vegetais amazônicos. **Química Nova**, v. 36, n. 3, p. 400–406, 2013.

SILVA, L. B. DA et al. Chewy candy as a model system to study the influence of polyols and fruit pulp (açaí) on texture and sensorial properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 268–274, 2016.

SILVA, E. P.; MARTINIS, E. C. P. Current knowledge and perspectives on biofilm formation: The case of *Listeria monocytogenes*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 3, p. 957–968, 2013.

SILVA, K. M. C. et al. **Contagem de bactérias mesófilas aeróbicas em amostras de sucos de açaí comercializados na Universidade Federal Rural de Pernambuco - Campus Dois Irmãos**. Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão, 9. **Anais...**Recife: UFRPE, 2009. Disponível em: <<http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0273-3.pdf>>

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3a. ed. ed.São Paulo: Editora Varela, 2007.

SILVA, P. P. M. et al. Physical, chemical, and lipid composition of juçara (*Euterpe edulis* Mart.) pulp. **Brazilian Journal Food Nutrition**, v. 24, n. 1, p. 7–13, 2013.

SILVA, S. B. et al. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 659–682, 2011.

SILVA VALENTE, S. A.; COSTA VALENTE, V.; FRAIHA NETO, H. Considerations on the Epidemiology and Transmission of Chagas Disease in the Brazilian Amazon. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. SUPPL. 1, p. 395–398, 1999.

- SONDHEIMER, E.; KERTESZ, Z. I. Anthocyanin Pigments - Colorimetric Determination in Strawberries and Strawberry Products. **Analytical Chemistry**, v. 20, n. 3, p. 245–248, 1948.
- SOUSA, M. A. C. et al. Suco de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.): avaliação microbiológica, tratamento térmico e vida de prateleira. **Acta Amazonica**, v. 36, n. 4, p. 1–6, 2006.
- SOUZA, M. C. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity on fruits from different açaí (*Euterpe oleracea* Mart) progenies. **Acta Horticulturae**, v. 841, p. 455–458, 2009.
- STEVANATO, R.; FABRIS, S.; MOMO, F. New enzymatic method for the determination of total phenolic content in tea and wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 20, p. 6287–6293, 2004.
- STINTZING, F. C. et al. Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 6172–6181, 2002.
- STRAWN, L. K.; SCHNEIDER, K. R.; DANYLUK, M. D. Microbial safety of tropical fruits. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 2, p. 132–145, 2011.
- SUFRAMA. **Projeto potencialidades regionais: estudo de viabilidade econômica Açaí**. Manaus: Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior, 2003.
- SUNG, H.-J. et al. Combination effect of ozone and heat treatments for the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in apple juice. **International Journal of Food Microbiology**, v. 171, p. 147–53, 2014.
- TEIXEIRA, M. A. et al. Assaí - An energy view on an Amazon residue. **Biomass and Bioenergy**, v. 58, p. 76–86, 2013.
- TIJSKENS, L. M. .; SCHIJVENS, E. P. H. .; BIEKMAN, E. S. . Modelling the change in colour of broccoli and green beans during blanching. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 2, n. 4, p. 303–313, 2001.
- TIWARI, B. K. et al. Modelling colour degradation of orange juice by ozone treatment using response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 88, n. 4, p. 553–560, 2008.
- TIWARI, B. K. et al. Effect of ozone processing on anthocyanins and ascorbic acid degradation on strawberry juice. **Food Chemistry**, v. 113, p. 1119–1126, 2009a.
- TIWARI, B. K. et al. Anthocyanins and color degradation in ozonated grape juice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 11, p. 2824–2829, 2009b.
- TONON, R. V; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v. 43, n. 3, p. 907–914, 2010.
- TORLAK, E. Efficacy of ozone against *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in apple juice. **International journal of Food Microbiology**, v. 172, p. 1–4, 2014.

- TORLAK, E.; SERT, D.; ULCA, P. Efficacy of gaseous ozone against Salmonella and microbial population on dried oregano. **International Journal of Food Microbiology**, v. 165, n. 3, p. 276–280, 2013.
- TREVISAN, A. C. D. et al. Market for Amazonian Açaí (*Euterpe oleracea*) Stimulates Pulp Production from Atlantic Forest Juçara Berries (*Euterpe edulis*). **Agroecology and Sustainable Food Systems**, v. 39, n. 7, p. 762–781, 2015.
- TSAI, P. J.; HUANG, H. P. Effect of polymerization on the antioxidant capacity of anthocyanins in Roselle. **Food Research International**, v. 37, n. 4, p. 313–318, 2004.
- UDANI, J. K. et al. Effects of Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: A pilot study. **Nutrition Journal**, v. 10, n. 1, p. 45, 2011.
- VALENTE, S. A. DA S. et al. Analysis of an acute Chagas disease outbreak in the Brazilian Amazon: human cases, triatomines, reservoir mammals and parasites. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 3, p. 291–297, 2009.
- VAN HAUTE, S. et al. Wash water disinfection of a full-scale leafy vegetables washing process with hydrogen peroxide and the use of a commercial metal ion mixture to improve disinfection efficiency. **Food Control**, v. 50, p. 173–183, 2015.
- VAN TRIJP, H. C. M.; VAN DER LANS, I. A. Consumer perceptions of nutrition and health claims. **Appetite**, v. 48, n. 3, p. 305–324, 2007.
- VIDIGAL, M. C. T. R. et al. Effect of a health claim on consumer acceptance of exotic Brazilian fruit juices: Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Cajá (*Spondias lutea* L.) and Umbu (*Spondias tuberosa* Arruda). **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1988–1996, ago. 2011.
- VISCARRA ROSSEL, R. A. et al. Colour space models for soil science. **Geoderma**, v. 133, n. 3-4, p. 320–337, 2006.
- VODJANI, J. D.; BEUCHAT, L. R.; TAUXE, R. V. Juice-associated outbreaks of human illness in the United States, 1995 through 2005. **Journal of Food Protection**, v. 71, p. 356–364, 2008.
- VOETSCH, A. C. et al. FoodNet Estimate of the Burden of Illness Caused by Nontyphoidal Salmonella Infections in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. Suppl 3, p. 127–134, 2004.
- WADHERA, D.; CAPALDI-PHILLIPS, E. D. A review of visual cues associated with food on food acceptance and consumption. **Eating Behaviors**, v. 15, n. 1, p. 132–143, jan. 2014.
- WARRINER, K. et al. Recent Advances in the Microbial Safety of Fresh Fruits and Vegetables. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 57, n. 09, p. 155–208, 2009.
- WHIPPS, J. M. et al. Chapter 7 Human Pathogens and the Phyllosphere. **Advances in Applied Microbiology**, v. 64, n. 08, p. 183–221, 2008.

WILLIAMS, R. C.; SUMMER, S. S.; GOLDEN, D. A. Inactivation of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella in Apple Cider and Orange Juice Treated with Combinations of Ozone, Dimethyl Dicarbonate, and Hydrogen Peroxide. **Journal of Food Microbiology and Safety**, v. 70, n. 4, p. 197–201, 2005.

WU, D.; SUN, D. W. Colour measurements by computer vision for food quality control - A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 29, n. 1, p. 5–20, 2013.

XUE, J.; CHEN, L.; WANG, H. Degradation mechanism of Alizarin Red in hybrid gas–liquid phase dielectric barrier discharge plasmas: Experimental and theoretical examination. **Chemical Engineering Journal**, v. 138, n. 1-3, p. 120–127, 2008.

YAMAGUCHI, K. K. L. et al. Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. **Food Chemistry**, v. 179, p. 137–151, fev. 2015.

YUK, H. G. et al. Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes on enoki mushroom. **Food Control**, v. 18, p. 548–553, 2007.

ZULUETA, A.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 310–316, 2009.

Anexo 1: Artigo aceito pelo *Journal of Food Processing and Preservation*

em 17.02.16

Zimbra

valeria.bezerra@embrapa.br

Journal of Food Processing and Preservation - Decision on Manuscript ID JFPP-09-15-0958.R1

De : Charles brennan <Charles.brennan@lincoln.ac.nz>

Qua, 17 de Fev de 2016 18:48

Remetente : onbehalfof+Charles brennan+lincoln ac nz
<onbehalfof+Charles.brennan+lincoln.ac.nz@manuscriptcentral.com>**Assunto :** Journal of Food Processing and Preservation - Decision on Manuscript
ID JFPP-09-15-0958.R1**Para :** valeria bezerra <valeria.bezerra@embrapa.br>, otniel freitas
<otniel.freitas@embrapa.br>, leandro damasceno
<leandro.damasceno@embrapa.br>, alexandramaram@globo.com,
lourdes cabral <lourdes.cabral@embrapa.br>

17-Feb-2016

Dear Mrs. Bezerra:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Sensory analysis and consumers studies of açaí beverage after thermal, chlorine and ozone treatments of the fruits" in its current form for publication in the Journal of Food Processing and Preservation.

Your article cannot be published until the corresponding author has signed the appropriate license agreement. Within the next few days the corresponding author will receive an email from Wiley's Author Services system which will ask them to log in and will present them with the appropriate licence for completion.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Journal of Food Processing and Preservation, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Prof. Charles Brennan
Editor-in-Chief, Journal of Food Processing and Preservation
Charles.brennan@lincoln.ac.nz

Anexo 2: Artigo publicado na *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*

em 02.03.15



DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v19n4p369-375>

Ozonização como tecnologia pós-colheita na conservação de frutas e hortaliças: Uma revisão

Caroline C. de S. Coelho¹, Otaniel Freitas-Silva², Rodrigo da S. Campos³, Valeria S. Bezerra⁴ & Lourdes M. C. Cabral⁵

Palavras-chave:

ozônio
sanitização
inativação microbiana

RESUMO

As podridões em frutas e hortaliças, resultantes da atividade de agentes fitopatogênicos e da senescência natural, acarretam perdas qualitativas e quantitativas e, em consequência, perdas econômicas. Este artigo tem, como objetivo, discutir a eficácia, os benefícios e os limites do emprego do ozônio (O₃) enquanto agente sanitizante, na minimização da ocorrência de doenças fúngicas em produtos hortícolas. Neste contexto, a presente revisão bibliográfica realizada no banco de dados do SciELO e ScienceDirect, discute estudos encontrados sobre o emprego do ozônio e sua eficácia como agente sanitizante em alimentos. Desta forma, a revisão apresenta uma avaliação crítica das vantagens e desvantagens da ozonização, a contribuição e o impacto desta tecnologia para minimizar os danos e perdas pós-colheita, além do efeito desta tecnologia como uma alternativa ao uso do cloro, as formas de aplicação, o uso e segurança e a regulamentação do uso do ozônio na agroindústria.

Key words:

ozone
sanitization
microbial inactivation

Ozonation as post-harvest technology in conservation of fruits and vegetables: A review

ABSTRACT

Rotting of fruits and vegetables resulting from the activity of plant pathogens agents and natural senescence, lead to qualitative and quantitative losses, and consequently economic losses. This article aims to discuss the effectiveness, benefits, use and limits of ozone as a sanitizing agent to minimize the occurrence of fungal diseases on fruits and vegetables. In this context, the present review of literature through SciELO and ScienceDirect database studies and discusses about application of ozone and its effectiveness as a post harvest sanitizer of fruits and vegetables. Thus the review presents a critical assessment of the advantages and disadvantages of ozonation, the contribution and the impact of this technology to minimize post-harvest damage and losses; its use as an alternative to the chlorine, application forms and safety and the regulation of ozone use in agroindustry.

Protocolo 048-2014 – 13/02/2014 • Aprovado em 21/11/2014 • Publicado em 02/03/2015

¹ PPGCTA/TT/UFRRJ, Seropédica, RJ. E-mail: carolcsc@hotmail.com

² Embrapa Agroindústria de Alimentos. Rio de Janeiro, RJ. E-mail: otaniel.freitas@embrapa.br (Autor correspondente)

³ Embrapa Agroindústria de Alimentos. Rio de Janeiro, RJ. E-mail: rodrigo.silveira@embrapa.br

⁴ PPGCAL/IQ/UFRRJ, Rio de Janeiro, RJ/Embrapa Amapá, Macapá, AP. E-mail: valeria.bezerra@embrapa.br

⁵ Embrapa Agroindústria de Alimentos. Rio de Janeiro, RJ. E-mail: lourdes.cabral@embrapa.br

Anexo 3: Artigo publicado no periódico *Higiene Alimentar*

em março/abril 2015

TRABALHOS APRESENTADOS

ADESIVIDADE E SOBREVIVENCIA DE *Salmonella* spP. NA SUPERFÍCIE DE FRUTOS DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Mart.)¹

ADHESIVENESS AND SURVIVAL OF *SALMONELLA* SPP. ON THE SURFACE OF ASSAI (*Euterpe oleracea* Mart.) FRUITS

Valeria Saldanha Bezerra¹, Eduardo Henrique Miranda Walter², Otniel Freitas-Silva², Vanessa Fiuza de Mello², Lourdes Maria Correa Cabral²

¹ PPGCAL/Instituto de Química/Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil e Embrapa Amapá, Macapá, AP, Brasil.

² Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Resumo

O fruto de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) é largamente utilizado na elaboração de sucos, sorvetes e bebidas energéticas que são consumidos localmente e exportados para vários países. A alta perecibilidade do fruto é devida à elevada carga microbiana do fruto que juntamente com a ausência de práticas sanitárias adequadas podem comprometer a qualidade do produto final. Processos de descontaminação microbiana de frutos necessitam de procedimentos padrões específicos que devem considerar a grande variabilidade de fatores intrínsecos do fruto e dos microrganismos. Este trabalho teve por objetivo estudar a adesividade e sobrevivência de um inóculo composto de cinco cepas de *Salmonella* spp. ($1,8 \times 10^{10}$ UFC/mL XLD) em frutos íntegros de açaí. A maior adesividade e sobrevivência efetiva de *Salmonella* spp. ($1,7 \times 10^6$ UFC/mL XLD) em frutos de açaí foi alcançada ao aplicar o inóculo por gotejamento na superfície do fruto e posterior secagem em ambiente de fluxo laminar, com melhor recuperação da população em meio XLD ágar.

Palavras chave: açaí, inoculação, adesividade, *Salmonella* spp.

Introdução

O açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma das culturas socioeconômicas mais importantes da região Norte-Oriental do Brasil (YOKOMIZO et al., 2010). Em nível nacional, o açaí extraído e congelado é utilizado largamente como bebida energética, substituindo muitas vezes as principais refeições, assim como matéria prima na elaboração de sorvetes e picolés (OLIVEIRA et al., 2002). O mercado internacional também apresenta um consumo crescente (TEIXEIRA et al., 2013), observado pela exportação de açaí congelado na forma de mistura de açaí com guaraná (ROGEZ, 2000).

O fruto do açaí é considerado altamente perecível, devido à sua elevada carga microbiana (OLIVEIRA et al., 1988), podendo apresentar uma população de 10^5 – 10^8 bactérias, bolores e leveduras por grama de matéria seca logo após a colheita (ROGEZ et al. 1996). Essa contaminação natural aliada à degradação enzimática podem ser responsáveis pelas alterações qualitativas de cor e sabor (QUEIROZ et al., 1998), que levam à inviabilização da comercialização do fruto e da própria polpa produzida. Outros fatores também interagem para explicar esta perecibilidade, como a composição nutricional da polpa, a elevada relação superfície do fruto/espessura da polpa, a elevada umidade relativa dos locais de crescimento da palmeira, propícia ao crescimento de microrganismos e insetos, além de deficiências nas práticas higiênicas desde a colheita até o processamento do fruto (ROGEZ et al., 1997). Conseqüentemente, as polpas oriundas de frutos que não são submetidas à pasteurização, também apresentam elevada contaminação de bactérias, bolores e leveduras (SANTOS et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2011).

¹ Apoio prestado pela Fundação Tumucumaque, SETEC/AP e Governo do Estado do Amapá.

Anexo 4: Aprovação do projeto de avaliação sensorial na Plataforma Brasil

Saúde



Valeria Saldanha Bezerra - Pesquisador | V3.0

Cadastros

suaSessao@expira@:m:35min 37

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação dos processos de sanitização de frutos de açaí (Euterpe oleracea Mart.) em relação aos impactos nas características sensoriais da bebida
Pesquisador Responsável: Valeria Saldanha Bezerra
Área Temática:
Versão: 1
CAAE: 45107115.8.0000.0001
Submetido em: 24/04/2015
Instituição Proponente: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA



Comprovante de Recepção: PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_485295

DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

- Versão Atual Aprovada (PO) - Versão 1
 - Projeto Original (PO) - Versão 1
 - Documentos do Projeto
 - Folha de Rosto - Submissão 1
 - Informações Básicas do Projeto - Subm
 - Projeto Detalhado / Brochura Investigad
 - TCLE / Termos de Assentimento / Justif
 - Apreciação 1 - Instituto de Pesquisas Cient
 - Projeto Completo

| Tipo de Documento | Situação | Arquivo | Postagem | Ações |
|-------------------|----------|---------|----------|-------|
|-------------------|----------|---------|----------|-------|

LISTA DE APRECIÇÕES DO PROJETO

| Apreciação | Pesquisador Responsável | Versão | Submissão | Modificação | Situação | Exclusiva do Centro Coord. | Ações |
|------------|--------------------------|--------|------------|-------------|----------|----------------------------|-------|
| PO | Valeria Saldanha Bezerra | 1 | 24/04/2015 | 28/05/2015 | Aprovado | Não | |

HISTÓRICO DE TRÂMITES

| Apreciação | Data/Hora | Tipo Trâmite | Versão | Perfil | Origem | Destino | Informações |
|------------|---------------------|---------------------------------------|--------|-----------------------|--|--|-------------|
| PO | 28/05/2015 15:11:14 | Parecer liberado | | | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | | |
| PO | 27/05/2015 19:42:41 | Parecer do colegiado emitido | | | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | |
| PO | 27/05/2015 10:55:29 | Parecer do relator emitido | | | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | |
| PO | 26/05/2015 19:45:04 | Aceitação de Elaboração de Relatoria | | | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | |
| PO | 15/05/2015 14:09:20 | Confirmação de Indicação de Relatoria | | | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | |
| PO | 15/05/2015 13:36:30 | Indicação de Relatoria | | | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | |
| PO | 15/05/2015 13:35:14 | Aceitação do PP | | | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | |
| PO | 24/04/2015 22:21:48 | Submetido para avaliação do CEP | | Pesquisador Principal | PESQUISADOR RESPONSÁVEL | Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado Amapá - IEPA | |

Anexo 5: Termo de Consentimento Livre Esclarecido TCLE**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)**

Você está sendo convidado a participar da análise sensorial de açaí dentro do projeto de pesquisa "Avaliação dos processos de sanitização de frutos de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) em relação aos impactos nas características sensoriais da bebida" da Embrapa Amapá.

O objetivo deste trabalho é avaliar o impacto nas características sensoriais da bebida açaí, artesanalmente processada nas bateadeiras de Macapá, após aplicação dos diversos processos de sanitização do fruto, visando a eliminação de insetos e microrganismos transmissores de doenças.

Os frutos de açaí foram sanitizados de diversas maneiras, para eliminar todas as impurezas, possíveis insetos e microrganismos transmissores de doenças. Foram utilizadas todas as técnicas de Boas Práticas de Fabricação dentro de uma amassadeira selecionada em Macapá, para que esta bebida a ser servida, seja segura e não transmita nenhuma doença para você, que irá prová-la e analisá-la.

Sua participação é voluntária. Mas só deve participar desta pesquisa se você é consumidor de açaí de forma rotineira, pois como açaí é reconhecidamente um alimento forte, uma pessoa não conhecedora da bebida pode sentir algum desconforto.

Os riscos da sua participação nesta pesquisa são mínimos, pois os frutos foram sanitizados, e processados em amassadeira idônea. Os benefícios desta pesquisa são representados por novas técnicas a serem disponibilizadas para a sociedade.

Em virtude das informações coletadas serem utilizadas unicamente com fins científicos, serão garantidos o total sigilo e confidencialidade, através da assinatura deste termo, o qual você receberá uma cópia.

Você pode desistir de continuar a análise e se retirar da pesquisa a qualquer momento e sem qualquer tipo de prejuízo à sua pessoa.

Para qualquer esclarecimento no decorrer da sua participação, estarei disponível através do telefone (096) 40099501, pelo celular (021) 967223457 e pelo email valeria.bezerra@embrapa.br. Você também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Amapá Rodovia JK, s/n – Bairro Marco Zero do

Equador - Macapá/AP, para obter informações sobre esta pesquisa e/ou sobre a sua participação, através dos telefones (96) 4009-2804 e 4009- 2805. Desde já agradecemos!



Macapá, _____ de _____ de 2015.

Valeria Saldanha Bezerra
Pesquisadora Embrapa Amapá
Cel: (21) 967223457

Identificação do pesquisador:

Valeria Saldanha Bezerra

valeria.bezerra@embrapa.br

Embrapa Amapá

Rodovia Juscelino Kubitscheck, 2.600 Bairro Universidade Macapá AP CEP 68903-419

Fone: (96) 40099501 Cel.: (21) 967223457

Eu _____ (nome por extenso) declaro que após ter sido esclarecido (a) pela pesquisadora, lido o presente termo, e entendido tudo o que me foi explicado, concordo em participar da Pesquisa intitulada "Avaliação dos processos de sanitização de frutos de açai (*Euterpe oleracea* Mart.) em relação aos impactos nas características sensoriais da bebida".

Macapá, _____ de _____ de 2015.

Assinatura do provador ou sujeito de pesquisa

Anexo 6: Ficha de informações pessoais

A Embrapa Amapá e a Universidade Federal do Rio de Janeiro estão realizando uma pesquisa com consumidores de açaí.

Sua participação é de extrema importância para a efetivação de nosso trabalho, por isso gostaríamos que respondesse a algumas perguntas.

Ressaltamos que a sua identidade será preservada e que as informações coletadas neste estudo serão utilizadas estritamente para esta pesquisa.

1. Sexo: [] Masculino [] Feminino

2. Nascimento (mês e ano): _____/_____

3. Grau de instrução:

[1] 1º grau incompleto

[2] 1º grau completo

[3] 2º grau incompleto

[4] 2º grau completo

[5] Superior incompleto

[6] Superior completo

[7] Outro: _____

Anexo 7: Ficha de avaliação do teste de comparação múltipla

Nome: _____ Data: ____/____/____

Você está recebendo uma amostra Padrão (P) de açaí batido e mais 4 amostras codificadas também de açaí batido. Prove a amostra Padrão (P) e em seguida, prove cada uma das amostras codificadas e avalie, na escala abaixo, o quanto cada amostra codificada difere, em termos globais, da amostra Padrão (P):

- 1 extremamente melhor que o padrão (P)
- 2 muito melhor que o padrão (P)
- 3 regularmente melhor que o padrão (P)
- 4 ligeiramente melhor que o padrão (P)
- 5 nenhuma diferença do padrão (P)
- 6 ligeiramente pior que o padrão (P)
- 7 regularmente pior que o padrão (P)
- 8 muito pior que o padrão (P)
- 9 extremamente pior que o padrão (P)

| Número da Amostra Codificada | Nota |
|------------------------------|-------|
| _____ | _____ |
| _____ | _____ |
| _____ | _____ |
| _____ | _____ |

Comentário:
